

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

**Associação de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)
e *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) no
controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera:
Crambidae)**

Juliana Santos de Oliveira

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

**Piracicaba
2022**

Juliana Santos de Oliveira
Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas

**Associação de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) e
Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) no controle de *Diatraea
saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)**
versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Profa. Dra. **CAROLINA REIGADA MONTOYA**

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

Piracicaba
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Oliveira, Juliana Santos de

Associação de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) / Juliana Santos de Oliveira. - -versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.

85 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Broca da cana-de-açúcar 2. Controle biológico 3. Interação interespecífica 4. Parasitoides I. Título

Dedico

À toda minha família, em especial meus pais, Valdirene e Ronaldo, e meu irmão Lucas, por sempre respeitarem e incentivarem minhas escolhas, ainda que não as compreendessem.

Ofereço

À minha avó Valdemira, por espelhar coragem, força e cuidado.

AGRADECIMENTOS

Á minha orientadora **Professora Carolina Reigada Montoya**, pela dedicação, amizade, confiança e conhecimentos compartilhados ao longo desses anos de parceria.

Ao **Professor Alexandre José Ferreira Diniz**, pela disponibilidade e incentivo em todos momentos da minha trajetória acadêmica e profissional.

Ao **Professor José Roberto Postali Parra**, pela disponibilidade para conversas a respeito dos resultados encontrados e por disponibilizar toda a estrutura física e equipamentos necessários para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos os companheiros do **Laboratório de Biologia de Insetos**, em especial a técnica de laboratório **Neide Graciano Zério**, por compartilhar tantos ensinamos sobre as criações de insetos.

Ao meu companheiro **Lucas Fonseca de Lacerda**, por toda paciência, incentivo e cuidado que compartilhamos nesse momento tão comum entre nós dois.

A minha família **O Beko**, um exemplo de amizade e amor, compartilhados entre mulheres fortes e determinadas que alegram os meus dias, sem vocês meninas, essa caminhada teria sido mais difícil.

Ao **Allan Mello de Macedo**, por toda ajuda para o desenvolvimento do modelo matemático aqui apresentado.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão de bolsa de estudo.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Acarologia da Universidade de São Paulo (ESALQ-ISP)** pela oportunidade de realização do curso e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica.

A **JB Biotecnologia** – Agentes Biológicos pela doação de insetos (*Tetrastichus howardi*), em especial a **Doutora Bianca Vique Fernandes**, por todo apoio e disponibilidade para os desafios que apareceram ao longo do desenvolvimento desse trabalho.

Ao **Centro de Tecnologia Canavieira (CTC)** pelo envio das plantas utilizadas nesse trabalho.

Aos demais que não foram citados, mas contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, por estarem presentes de alguma forma na minha vida,

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
Referências	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Biologia de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar	15
2.2 Danos causados por <i>Diatraea saccharalis</i> em cana-de-açúcar	16
2.3 Monitoramento e dinâmica populacional de <i>Diatraea saccharalis</i>	17
2.4 Controle biológico de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i>	17
2.5 Biologia e aplicação de <i>Cotesia flavipes</i> (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) como agente de controle biológico	18
2.6 Biologia e aplicação de <i>Tetrastichus howardi</i> (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) como agente de controle biológico	19
2.7 Associação de parasitoides em controle biológico.....	21
2.8 Uso de modelos matemáticos e suas aplicações no controle biológico.....	22
Referências	23
3. ASSOCIAÇÃO DOS PARASITOIDES, <i>Cotesia flavipes</i> (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) E <i>Tetrastichus howardi</i> (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), NO MANEJO DE <i>Diatraea saccharalis</i> (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).....	31
Resumo	31
Abstract.....	31
3.1 Introdução.....	32
3.2 Materiais e Métodos	33
3.2.1 Colônia de insetos.....	33
3.2.2 Avaliação das taxas de parasitismo em diferentes cenários experimentais de liberação de parasitoides.....	35
3.3 Resultados.....	38
3.4 Discussão.....	42
3.5 Conclusão	45

Referências.....	46
4. COMPORTAMENTO DE PARASITOIDES, ESPECIALISTA E GENERALISTA, E SUAS APLICAÇÕES COMO AGENTES DE CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE SIMULAÇÕES EM MODELAGEM MATEMÁTICA.....	53
Resumo.....	53
Abstract.....	53
4.1 Introdução.....	54
4.2 Materiais e Métodos.....	57
4.2.1 Colônia de insetos.....	57
4.2.2 Resposta funcional.....	58
4.2.3 Parasitismo de <i>Tetrastichus howardi</i> sobre lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i>	59
4.2.4 Modelo matemático populacional.....	60
4.3 Resultados.....	66
4.3.1 Resposta funcional.....	66
4.3.2 Parasitismo de <i>Tetrastichus howardi</i> sobre lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i>	67
4.3.3 Modelo matemático populacional.....	68
4.4 Discussão.....	71
4.5 Conclusão.....	76
Referências.....	77
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	85

RESUMO

Associação de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)

Diatraea saccharalis é a principal praga da cultura de cana-de-açúcar no Brasil. Atualmente, o controle biológico, parte do programa de manejo da praga, é feito através da liberação do endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* de forma isolada ou em associação com o parasitoide de ovos, *Trichogramma galloi*. A liberação associada de agentes de controle biológico vem sendo utilizada em diferentes cultivos agrícolas em diferentes regiões do mundo e tem mostrado que, quando aplicada de forma adequada, pode resultar em aumento da eficiência de controle de insetos-praga. Neste contexto, o uso do endoparasitoide *Tetrastichus howardi*, que ataca *D. saccharalis* nas fases finais de larva, pré-pupa e pupa, tem sido avaliado em condições de laboratório com o objetivo de aumentar as taxas de parasitismo sobre o inseto-praga, que pode estar presente na área de cultura por até 5 gerações, promovendo a redução populacional da praga durante os estágios de vida não susceptíveis ao ataque de *C. flavipes*. Para testar a efetividade desta associação de espécies parasitoides no controle da praga, foram avaliadas as taxas de parasitismo em quatro cenários experimentais: (i) liberação de *C. flavipes* no estágio larval de *D. saccharalis*, (ii) liberação de *T. howardi* no estágio de pupa de *D. saccharalis*, (iii) liberações de *C. flavipes* e *T. howardi* no estágio larval de *D. saccharalis* e (iv) *C. flavipes* no estágio larval e *T. howardi* no estágio de pupa de *D. saccharalis*. O potencial de controle das espécies parasitoides também foi avaliado através do estudo da resposta funcional das espécies sobre lagartas e pupas de *D. saccharalis* e os dados obtidos foram utilizados na parametrização de um modelo matemático que avaliou a efetividade, a curto e longo prazo, dos cenários experimentais estudados. Os resultados dos testes de parasitismo obtidos indicam que a liberação apenas de *C. flavipes* garante alta mortalidade de *D. saccharalis*, no entanto, este resultado não apresentou diferença significativa dos cenários em que houve a liberação a associação de ambas as espécies parasitoides. Estes resultados vão de encontro aos observados nas simulações computacionais, onde a população de *D. saccharalis* apresentou menor taxa de ocupação e menor densidade populacional na área de plantio nos cenários em que a *T. howardi* foi associado a liberação de *C. flavipes*.

Palavras-chave: Broca da cana-de-açúcar, Controle biológico, Interação interespecífica, Parasitoides

ABSTRACT

Association of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) and *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) in the control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)

Diatraea saccharalis is the main pest of sugarcane in Brazil. Currently, biological control, part of the Pest Management Program, is done through the releases of the larval endoparasitoid *Cotesia flavipes* alone or in association with the egg parasitoid, *Trichogramma galloi*. The associated releases of biological control agents have been used in different crops in different regions of the world and have shown that, when properly applied, they can increase in pest control efficiency. In this context, the use of the endoparasitoid *Tetrastichus howardi*, which attacks *D. saccharalis* in the final stages of larva, pre-pupa, and pupa, has been evaluated under laboratory conditions to increase the parasitism rates on the insect pest, which can be present in the field for up to 5 generations, promoting the pest population reduction during the life stages not susceptible to the *C. flavipes* attack. To test the effectiveness of this parasitoid species association in controlling the pest, parasitism rates were evaluated over four experimental scenarios: (i) *C. flavipes* release in the larval stage of *D. saccharalis*, (ii) *T. howardi* release in the pupal stage of *D. saccharalis*, (iii) releases of *C. flavipes* and *T. howardi* in the larval stage of *D. saccharalis* and (iv) release of *C. flavipes* in the larval stage and *T. howardi* in the pupa stage of *D. saccharalis*. The control potential of the parasitoid species was also evaluated by studying the species' functional response on larvae and pupae of *D. saccharalis* and the data obtained were used in the parameterization of a mathematical model that evaluated the effectiveness, in the short and long-term, of the experimental management scenarios. The results of the parasitism tests obtained indicate that the release of only *C. flavipes* guarantees high mortality of *D. saccharalis*, however, this result did not present a significant difference from the scenarios in which the association of both parasitoid species was released. These results agree with those observed in the computational simulations, where the population of *D. saccharalis* showed lower occupation rates and low population density in the crop area in studied scenarios in which *T. howardi* was associated with the release of *C. flavipes*.

Keywords: Sugarcane borer, Biological control, Interspecific interaction, Parasitoids

1. INTRODUÇÃO

Parasitoides são agentes biológicos que podem atuar na regulação de populações de insetos considerados pragas, ao causar a morte dos mesmos, mantendo sua população em níveis aceitáveis, abaixo do nível de controle (Panizzi e Parra 2009). Geralmente, parasitoides têm nichos estreitos de recursos por possuírem hospedeiros específicos na maioria dos casos, o que pode ocasionar competição interespecífica entre eles (Hawkins e Mills 1996; Bogran et al. 2002; Harvey et al. 2013). No cenário de sobreposição de nichos, um ou mais parasitoides competem pelo hospedeiro em uma única fase de desenvolvimento do mesmo, enquanto em cenários de não sobreposição de nichos, parasitoides exploram o mesmo hospedeiro porém em diferentes estágios de desenvolvimento. Entretanto, em ambos os cenários, em condições adequadas é possível a coexistência entre os parasitoides (Borer et al. 2004), quando estes possuem diferentes estratégias de forrageamento e reprodução (Pedersen e Mills 2004; Harvey et al. 2013; Miranda et al. 2015; Wang et al. 2015), que pode resultar em supressão mais eficiente de uma população de insetos considerada praga (Knipling 1992; Cancino et al. 2014).

O uso combinado de diferentes espécies de parasitoides visando aumentar a eficácia das ações dos inimigos naturais vem sendo estudado e adotado no controle de algumas espécies de insetos, como no controle de *Anastrepha* spp. (Wiedemann, 1830) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) pela liberação dos parasitoides *Fopius (Biosteres) arisanus* (Sonan, 1932) e *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) (Purcell 1998); no controle de *A. fraterculus* (Wiedemann, 1830) por *D. longicaudata* e *Coptera haywardi* (Ogloblin) (Hymenoptera: Diapriidae) (Van Nieuwenhove et al. 2016); no controle de *C. capitata* e *Bactrocera latifrons* (Hendel) por *Dirhinus giffardii* Silvestri, 1913 (Hymenoptera: Chalcididae), *F. arisanus*, *D. longicaudata*, *D. kraussii* (Fullaway, 1951) e *Psytalia concolor* (Szépligeti, 1910) (Hymenoptera: Braconidae) (Wang e Messing 2004; Rendon et al. 2006); e no controle da broca *Agrilus planipennis* Fairmaire, 1888 (Coleoptera: Buprestidae) por *Tetrastichus planipennisi* Yang (Hymenoptera: Eulophidae) e *Spathius galinae* Belokobylskij & Strazenac (Hymenoptera: Braconidae) (Wang et al. 2015).

A associação de inimigos naturais também foi estudada para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), a principal praga da cana-de-açúcar, pela combinação de liberações do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e o parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891)

(Hymenoptera: Braconidae) e os resultados observados indicam menor infestação de entrenós brocados pela praga após a liberação das espécies parasitoides em momentos adequados (Botelho et al. 1999).

Cotesia flavipes é um endoparasitoide larval de brocas que foi introduzido no Brasil na década de 70 para o controle de *D. saccharalis* (Mendonça Filho et al. 1977). Desde sua introdução em Alagoas, as liberações desse agente de controle se expandiram por todo o Brasil, consagrando-se como o maior programa de controle biológico do mundo (Parra et al. 2010), chegando a ser liberado em mais de 3,5 milhões de hectares em 2018 (Cherubin 2018; Pinto e Trujillo 2019). Ainda assim, o escape de lagartas ao ataque desse parasitoide permite a perpetuação da população da praga nas áreas de plantio (Botelho e Macedo 2002).

Tetrastichus howardi é um endoparasitoide com potencial para ser utilizado como alternativa de controle de lepidópteros-praga (Barbosa et al. 2015; Lucchetta 2016; Oliveira et al. 2016; Piñeyro et al. 2016; Fernandes 2018; Rodrigues et al. 2021). Em condições de laboratório foi observada sua capacidade de parasitar e se desenvolver em lagartas e pupas de *D. saccharalis*, tendo sido constatada a preferência pela fase de pupa (Vargas et al. 2011; Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021). Em condições naturais, *T. howardi* foi encontrado em pupas parasitadas de *D. saccharalis* em milho (Cruz et al. 2011) e cana-de-açúcar (Vargas et al. 2011).

Os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* possuem hábito gregário e o desenvolvimento de sua fase imatura depende dos recursos nutricionais encontrados no hospedeiro. Durante a fase larval de *D. saccharalis*, a presença de ambas as espécies parasitoides na área pode levar a competição por hospedeiro, prejudicando o controle da praga (Harvey et al. 2013). Por outro lado, a possibilidade de ataque a pupas por *T. howardi* pode levar a maiores taxas de mortalidade da praga, uma vez que larvas que conseguem se tornar pupas podem ainda ser atacadas, reduzindo a quantidade de adultos que irão produzir ovos no próximo ciclo de infestação ao longo do desenvolvimento da cana-de-açúcar. Atualmente, pouco se sabe sobre o efeito de liberações simultâneas destas espécies de parasitoides sobre *D. saccharalis* (Costa 2013), uma vez que faltam informações a respeito do parasitismo de *T. howardi* em brocas inoculadas em cana-de-açúcar na fase de pupa.

Dessa forma, o presente estudo visa avaliar a possibilidade de associação dessas espécies de parasitoides no controle de *D. saccharalis* através do conhecimento do potencial de parasitismo das espécies parasitoides envolvidas em associação, obtido por testes de parasitismo de brocas inoculadas em cana-de-açúcar, bem como entender o despenho individual de cada agente de controle, através da resposta funcional exercida por cada

parasitoide, e qual seria a melhor estratégia de uso conjunto das espécies em programas de controle biológico de *D. saccharalis* através de modelagem matemática e simulações computacionais.

Referências

- Barbosa RH, Kassab SO, Pereira FF, Rossoni C, Costa DP, Berndt MA (2015) Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. *Ciência Rural* 45, 2 (2015), 185-188. doi <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130896>
- Bogran CE, Heinz KM, Ciomperlik MA (2002) Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. *Ecology* 83, 3 (2002), 653-668. doi [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083%5b0653:ICAIPF%5d2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083%5b0653:ICAIPF%5d2.0.CO;2)
- Borer ET, Murdoch WW, Swarbrick SL (2004) Parasitoid coexistence: linking spatial field patterns with mechanism. *Ecology* 85, 3 (2004), 667-678. doi <https://doi.org/10.1890/02-0566>
- Botelho PSM, Parra JRP, Chagas Neto JF, Oliveira CPB (1999) Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira* 28, 3 (1999), 491-496. doi <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300015>
- Botelho PSM, Macedo N. (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. Manolecap, São Paulo. (2002), 409-421.
- Cancino J, Montoya P, Barrera JF, Aluja M, Liedo P (2014) Parasitism by *Coptera haywardi* and *Diachasmimorpha longicaudata* on *Anastrepha* flies with different fruits under laboratory and field cage conditions. *Biocontrol* 59 (2014), 287–295.
- Cherubin N (2018) Cana-de-açúcar: referência quando o assunto é controle biológico. *RPA News* 202 (2018), 311-313.
- Costa DP (2013) Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Cruz I, Redoan AC, Silva RB, Figueiredo MLC, Pentead-Dias AM (2011) New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Scientia Agricola* 68, 2 (2011), 252-254. doi <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000200017>
- Fernandes WC (2018). Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebididae) em condições de laboratório e semi-campo. 2018, 143p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013) Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology* 58 (2013), 333-351.
- Hawkins BA, Mills NJ (1996) Variability in parasitoid community structure. *Journal of Animal Ecology* 65, 4 (1996), 501-516. doi <https://doi.org/10.2307/5785>
- Knipling EF (1992) Principles of Insect Parasitism Analyzed from New Perspectives. *Department of Agriculture Agricultural Research Service*, 693 (1992).

- Lucchetta JT (2016) Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2016. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Mendonça Filho AF, Risco SHB, Costa JMB (1977) Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists, São Paulo, Brazil. pp. (1977) 703-710.
- Miranda M, Sivinski J, Rull J, Cicero L, Aluja M (2015) Niche breadth and interspecific competition between *Doryctobracon crawfordi* and *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), native and introduced parasitoids of *Anastrepha spp.* fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 82 (2015), 86–95.
- Oliveira HN, Simonato J, Glaeser DF, Pereira FF (2016) Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Ciências Agrárias* 37, 1 (2016), 111-115. doi <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111>
- Panizzi AR, Parra JRP (2009) Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Soja-Capítulo, Brasília. (2009), 1164.
- Parra JRP, Botelho PSM, Pinto ADS (2010) Controle biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade, pp. (2010) 441-450.
- Pedersen BS, Mills NJ (2004) Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. *Journal of Applied Ecology* 41, 5 (2004), 973-984. doi <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00953>
- Pereira FF, Kassab SO, Calado VRF, Vargas EL, Oliveira HN, Zanuncio JC (2015) Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* 98, 1 (2015), 377-380. doi <https://doi.org/10.1653/024.098.0164>
- Piñeyro NG, Pereira FF, Borges FLG, Rossoni C, Silva AS, Kassab SO (2016) Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología? *Acta Biológica Colombiana* 21, 1 (2016), 189-193. doi <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>
- Pinto As, Trujillo SEL (2019) Sugarcane. Natural enemies of insect pest in neotropical agroecosystems: biological control and functional biodiversity. Springer, Switzerland. pp. (2019), 413-425.
- Purcell MF (1998) Contribution of biological control to integrated pest management of *Tephritid* fruit flies in the tropics and subtropics. *Integrated Pest Management Reviews* 3, 2 (1998), 63–83.
- Rendon P, Sivinski J, Holler T, Bloem K, López M, Martinez A, Aluja M (2006) The effects of sterile males and two braconid parasitoids, *Fopius arisanus* (Sonan) and *Diachasmimorpha kraussii* (Fullaway) (Hymenoptera), on caged populations of Mediterranean fruit flies, *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) at various sites in Guatemala. *Biological Control* 36, 2 (2006), 224–231. doi <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.10.006>
- Rodrigues A, Pereira FF, Barbosa PR et al. (2021) Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. *Journal of Insect Behavior* 34 (2021), 71–81. doi <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>
- Van Nieuwenhove G, Bezdjian LP, Schliserman P, Aluja M, Ovruski SM (2016) Combined effect of larval and pupal parasitoid use for *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) control. *Biological Control* 95, 94 (2016), 94-102. doi <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.004>

- Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL (2011) Record o *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26, 3 (2011), 143-146.
- Wang XY, Messing RH (2004) Potential interactions between pupal and egg- or larval-pupal parasitoids of tephritid fruit flies. *Environmental Entomology* 33, 5 (2004), 1313–1320. doi <https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.5.1313>
- Wang XY, Jennings DE, Jian J, Duan JJ (2015) Trade-offs in parasitism efficiency and brood size mediate parasitoid coexistence, with implications for biological control of the invasive emerald ash borer. *Journal of Applied Ecology* 52, 5 (2015), 1255–1263. doi <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12487>

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar

No continente americano, em cana-de-açúcar, já foram descritas cerca de 21 espécies do gênero *Diatraea*, sendo duas espécies destacadas pelos danos causados a cultura: *Diatraea flavipennella* Box e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (Dyar e Heinrich 1927). Enquanto *D. impersonatella* (Walker, 1863) (= *D. flavipennella*) possui ocorrência no Rio de Janeiro, Minas Gerais e nos estados do Nordeste (Mendonça et al. 1996), *D. saccharalis* encontra-se distribuída por todo território brasileiro, sendo encontrada no restante da América do Sul, América Central, Caribe, chegando ao sul dos Estados Unidos (Cortés et al. 2010).

Conhecida como broca da cana-de-açúcar, *D. saccharalis* foi descrita em 1794 por Fabricius e seus danos são registrados em outras culturas além da cana-de-açúcar, especialmente as gramíneas, como sorgo, milho, arroz e algumas ciperáceas (Mendonça et al. 1996). Adultos de *D. saccharalis* são mariposas com coloração amarelo-palha, suas asas anteriores apresentam manchas escuras que formam uma linha diagonal em forma de “V”, medem cerca de 25 mm de envergadura, possuem comportamento fototrópico positivo, longevidade de oito a 17 dias (Mello et al. 1988) e capacidade de dispersão na média de 225 metros (Caixeta 2010). A fêmea é, geralmente, maior que o macho e apresenta abdome volumoso e asas de coloração menos pigmentada. Estas iniciam liberação de feromônio sexual - substâncias químicas voláteis liberadas por glândulas exócrinas presentes no abdome - logo após a emergência, apresentando maior atração dos machos durante os três primeiros dias da fase adulta, devido à diminuição da emissão desse feromônio ao longo de sua longevidade. Após a cópula, as fêmeas deixam de atrair os machos (Perez e Long 1964). Os adultos possuem hábitos noturnos, sendo o horário de maior atividade de cópula após o pôr-do-sol, ocorrendo a oviposição de cerca de 300 a 780 ovos por fêmea pela manhã (Walker 1965).

Fêmeas de *D. saccharalis* realizam posturas tanto na face abaxial quanto na face adaxial das folhas, podendo ocorrer também nas bainhas das folhas, sendo encontradas em maior quantidade nas plantas da bordadura da plantação. A massa de ovos depositada varia em quantidade de 2 a 40 ovos e possui distribuição imbricada, com ovos de formato oval, aspecto liso achatado e coloração amarelo-pálida, passando de rósea a marrom-escuro, durante a eclosão das lagartas (Lima Filho e Lima 2001). A fase embrionária varia de acordo

com a temperatura, com média de 9 dias nas condições climáticas do Brasil (Botelho e Macedo 2002).

Lagartas recém-eclodidas migram em direção ao colmo da cana e, durante o trajeto se alimentam do parênquima foliar, pela raspagem das folhas, onde passam por uma ou duas ecdises. Ao chegarem na base do entrenó, região mais mole da planta, aproximadamente apenas 20% conseguem perfurar o colmo com sucesso (Conti 2012) e ali permanecem durante o restante da fase larval, passando por mais quatro ecdises, finalizando seu desenvolvimento com um total de cinco a seis instares, de acordo com temperatura e umidade, completando o ciclo de vida em média, em 40 dias (Botelho e Macedo 2002). Estas apresentam forma eruciforme, com coloração branco-leitosa, com pontuações pelo dorso e cápsula cefálica marrom-escura (Gallo et al. 2002).

Próximo ao estágio pupal, a lagarta medindo cerca de 25 mm, abre um orifício para o exterior do colmo e fecha-o parcialmente com fios de seda para sua proteção. A pupa, com cerca de 17 mm, apresenta forma livre, alongada e fina, possui coloração marrom-claro passando a marrom-escuro próximo à emergência do adulto, período que tem em média de 9 a 14 dias (Gallo et al. 2002).

2.2 Danos causados por *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar

Os danos causados à cana-de-açúcar por *D. saccharalis* ocorrem diretamente pela alimentação da lagarta no interior do colmo, no qual abre galerias transversais que enfraquecem a planta e podem levar ao seu caimento. Entretanto seu maior dano ocorre de forma indireta, pois devido ao orifício no colmo, a planta fica suscetível à entrada de microrganismos que causam doenças, invertem a sacarose presente nos colmos e contaminam o caldo no processo de fermentação alcoólica, o que ocasiona maiores perdas na produção de álcool e açúcar (Macedo Botelho 1988; Ogunwolu et al. 1991; Dinardo-Miranda et al. 2013).

A cultura da cana-de-açúcar é semi-perene, ou seja, possui um ciclo longo, com colheitas que ocorrem apenas um ano ou um ano e meio após o plantio, não sendo replantada em média durante 5 a 6 ciclos (EMBRAPA 2015). A disponibilidade de alimento devido a permanência dessa cultura no campo permite que ocorram ataques pelo inseto-praga durante todo o desenvolvimento da cultura (Guagliumi 1972; Aguiar-Menezes 2004). No geral, para cada 1% de índice de infestação causado por *D. saccharalis*, são perdidos 1,14% na produção de cana-de-açúcar, 0,42% em açúcar e 0,21% em álcool (CTC 2007 a,b; Dinardo-Miranda 2008).

2.3 Monitoramento e dinâmica populacional de *Diatraea saccharalis*

O monitoramento da broca-da-cana em campo pode ser feito por meio de diferentes métodos, entre eles os métodos “broca-fora” e o “broca-dentro”, onde o primeiro consiste na procura por lagartas recém-eclodidas em folhas e bainhas da parte superior da planta em pontos determinados ao acaso e o segundo, na busca por orifícios ou lagartas no interior do colmo de cana-de-açúcar, sendo recomendável a análise de 2 a 6 colmos, em 1 a 2 metros lineares, em duas linhas paralelas por hectare, ou ainda pela análise de pontos ao caso pelo sistema “hora-homem” (Macedo e Botelho 1988; Dinardo-Miranda et al. 2011). Entretanto, devido aos custos envolvidos nesses métodos, atualmente recomenda-se o monitoramento da broca com uso de armadilhas com fêmeas virgens. Neste sistema, 3-4 pupas de fêmeas, de idades diferentes, são colocadas no interior de uma gaiola a cada 50 hectares, recomenda-se que priorize o local dessas armadilhas nas áreas mais externas da plantação. Neste método, quando 30% das armadilhas conterem no mínimo seis machos de *D. saccharalis* por três dias, em períodos muito quentes e ou secos, ou dez machos em uma semana cada, é estabelecido que a praga atingiu o nível de controle (Pinto et al. 2019). As fêmeas confinadas nas armadilhas devem ser substituídas periodicamente, pois após cinco de emergência apresentam diminuição de atração dos machos (Rossini 2019; Sanhueza 2019).

Pelo monitoramento de adultos, observou-se que cerca de 21 a 30 dias após a captura do maior número de machos nas armadilhas, ocorrem os picos populacionais de lagartas e pupas (Conti 2012). De modo geral, ocorrem de quatro a cinco picos populacionais de *D. saccharalis* no Brasil, sendo os maiores no final da primavera e no verão (Silveira Neto et al. 1968; Carbognin 2016). Entre os estágios da broca, a ocorrência de ovos em cana-de-açúcar, ocorre entre 38 a 42 dias após o aparecimento das primeiras folhas no campo (Lopes 1988), a alta infestação de lagartas ocorre de janeiro a julho (Long 1976) e de maio a agosto no sul do país (Borges Filho et al. 2019) e a de adultos entre janeiro a abril (Carbognin 2016).

2.4 Controle biológico de lagartas de *Diatraea saccharalis*

O controle das lagartas recém eclodidas, ou seja, que ainda não se encontram no interior dos colmos, pode ser feito com o uso de plantas *BT* (*Bacillus thuringiensis*), tecnologia utilizada em 5% dos plantios de cana na safra 2021/22 nas regiões centro-sul com estimativa para 10% na safra 2022/23 (Forbes Agro 2022), ou aplicação de *Beauveria bassiana* (Bals.) (Lecuona e Alves 1988) quando estas atingem de 3-5% de infestação (Macedo e Botelho 2004). Já o controle das brocas que estão no interior do colmo, é feito pela

liberação do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), quando estas atingem o nível de controle - 800 a 1000 lagartas maiores que 1,5cm por hectare (Pinto et al. 2006; Pinto et al. 2015), dez lagartas por hora-homem (Botelho e Macedo 2002) ou 30% de armadilhas contendo 10 machos por semana em 50 hectares (Pinto et al. 2019).

Estudos de controle de *D. saccharalis* de Gallo et al. (2002) e Pinto et al. (2006), consideram altamente vantajoso iniciar o controle da broca quando esta apresenta infestação de 1% na área, pois quando atinge entre 2 e 4% já atingiu o nível de dano econômico.

2.5 Biologia e aplicação de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) como agente de controle biológico

Cotesia flavipes é um endoparasitoide gregário larval de brocas, originário da região Indo-Australiana (Overholt et al. 1997). As fêmeas são pró-ovigênica e possuem cerca de 150 ovos disponíveis para oviposição, desse modo, localizam seus hospedeiros por meio da percepção de uma substância hidrossolúvel presente nas excreções das lagartas que é captada pelas antenas do parasitoide (Potting et al. 1997; Silva et al. 2012) e, em seguida, realizam a postura de aproximadamente 40 ovos na hemocele da lagarta, ou seja, 20-25% de sua carga de ovos, sendo assim, uma fêmea é capaz de parasitar 3-4 lagartas (Potting et al. 1997). Seus ovos possuem formato arredondado e cerca de 0,09 mm de comprimento (Botelho e Macedo 2002). Após o período embrionário, em média de quatro dias, as larvas de *C. flavipes*, de coloração branco-leitosa, eclodem e permanecem no interior da lagarta, se alimentando de sua hemocele por aproximadamente 12 dias (Pinheiro et al. 2010). Durante este período a larva do parasitoide realiza três ecdises, reduz o consumo de alimento pela broca, o que consequentemente afeta as taxas metabólicas, as taxas de crescimento e o conteúdo intestinal e proteico no intestino médio do hospedeiro (Rossi et al. 2014), além de afetar o sistema imune da lagarta, com diminuição dos hemócitos e da atividade da fenoloxidase, responsável pela imunidade humoral dos insetos (Wiedenmann et al. 1992; Mahmoud et al. 2012). Após este período, as lagartas perfuram o corpo do hospedeiro para se transformarem em pupas no exterior.

As pupas são protegidas por fios de seda, formando uma massa branca que as mantém agrupada por um período em média de cinco dias, resultando na emergência dos adultos (Pinto et al. 2006). Adultos de *C. flavipes* possuem coloração preta, asas hialinas, medem em média 4 mm e se reproduzem de forma sexuada ou por partenogênese. Dessa forma, as fêmeas são oriundas de ovos fertilizados e os machos haploides são produzidos por partenogênese arrenótoca (Cook 1993; Van Wilgenburg et al. 2006). É possível observar o

dimorfismo sexual pela análise das antenas, que são menores nas fêmeas (Wiedenmann et al. 1992) e a razão sexual na espécie que varia de 0,6 a 0,8 fêmeas/ machos (Pádua 1986; Lima 2011). No geral, o ciclo de vida da espécie tem aproximadamente 20 dias, variando de acordo com as condições climáticas (Emana 2007), consideradas favoráveis entre 20 e 30 °C e umidade relativa de 40 a 90% (Pádua et al. 1994).

Cotesia flavipes foi introduzida no Brasil pela primeira vez no estado de Alagoas, proveniente de Trinidad, em 1974, dando início ao Programa Nacional de Controle Biológico de *Diatraea* spp., pelo Instituto do Açúcar e do Alcool IAA/Planalsucar (Mendonça et al. 1977). Em 1975 foi introduzida no estado de São Paulo, dando início a sua produção em laboratórios e introdução de linhagens provenientes da Índia e Paquistão (Macedo 1978). A utilização de novas linhagem em liberações inundativas em campo resultaram na diminuição da infestação de *D. saccharalis*. No Brasil, de 1975 a 1990, houve aumento de áreas tratadas com inimigos naturais de 800.000 ha para mais de 2.000.000 ha (Macedo et al. 1993; Parra et al. 2010), consagrando-se o maior programa de controle biológico do mundo, rendendo uma economia de cerca de 80 milhões de dólares no setor (Vilela et al. 1998) e atingindo 3,5 milhões de hectares em 2018 (Cherubin 2018; Pinto e Trujillo 2019).

A liberação de *C. flavipes* em campo é estimada de acordo com nível de infestação de broca-da-cana no canavial, verificada por meio de amostragens. Devido à sua limitada capacidade de dispersão, em um raio de até 15 metros do ponto de liberação, sugere-se a liberação de aproximadamente 6.000 insetos, com até 12 horas do início da emergência por hectare, quando a porcentagem da praga é superior à 3% do hectare (Dinardo-Miranda et al. 2011; Dinardo-Miranda et al. 2014). Sua taxa de parasitismo médio em campo é de aproximadamente 30% (Botelho e Macedo 2002).

2.6 Biologia e aplicação de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) como agente de controle biológico

A família Eulophidae é constituída por 443 gêneros e mais de 5000 espécies que apresentam diversos hábitos vida, sendo a maioria agentes de controle biológico de aranha e insetos (Noyes 2015). Uma espécie amplamente conhecida é *Tamarixia radiata* (Waterston, 1908), parasitoide de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), vetor do “greening” ou “huanglongbing” (Garcia et al. 2019). Outro representante da família Eulophidae é o parasitoide *Tetrastichus howardi*, que possui capacidade de parasitar principalmente insetos da ordem Lepidoptera e Coleoptera e que está sendo utilizado como

ferramenta de controle biológico em diferentes países, como na África, no controle de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae) nas culturas de milho e sorgo (Moore e Kfir 1995; Kfir 1997; Kfir 2011); na Índia no controle de *Chilo sacchariphagus indicus* (Kapus, 1950) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (Srikanth et al. 2016) e em conjunto com *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) no controle de *Chilo infuscatellus* Snellen, 1890 (Lepidoptera: Crambidae) e *Sesamina inferens* (Walker, 1986) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz (Sankar et al. 2014); no Vietnã, no controle de brocas de cana-de-açúcar em associação com *Euborellia annulipes* (Lucas, 1847) (Dermaptera: Anisolabididae), *Trichogramma chilonis* Ishii, 1941 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *C. flavipes* (Duong et al. 2011); e em Cuba em diferentes culturas, em associação com *Trichogramma pintoï* Voegelé (Hymenoptera: Trichogrammatidae) no controle de pragas da ordem Lepidoptera de grãos armazenados (González et al. 2008), em cana-de-açúcar com o parasitoide larval *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) no controle de *D. saccharalis* (Felix et al. 2005) e em repolho, com o nematoide de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de *Plutella xylostella* Lin. (Lepidoptera: Plutellidae) (Casanova-Garcia et al. 2010).

Em condições de laboratório, seu potencial já foi avaliado e apresentou resultados positivos em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) e *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) (Lucheta 2016; Fernandes 2018; Thiago et al. 2019; Alvarenga, 2020), *Erinnyis ello* (Sphingidae) (Barbosa et al. 2015), *Bombyx mori* (Bombycidae) (Piñeyro et al. 2016), *Helicoverpa armigera* (Noctuidae) (Oliveira et al. 2016), *Diatraea flavipennella* (Pyralidae) (Rodrigues et al. 2021), *D. saccharalis* (Costa et al. 2013).

Este endoparasitoide tem origem na região Indo-Asiática (La Salle et al. 2007) e foi descrito em 1893 como *Euplectus howardi*, após sua emergência em indivíduos de *Bathytricha truncata* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) (Boucek 1988). No Brasil foi identificado em pupas de *D. saccharalis* em milho e cana-de-açúcar, em Dourados, Mato Grosso do Sul (Vargas et al. 2011). Em condições de laboratório verificou-se sua capacidade de parasitar a fase larval (2º, 3º, 4º, 5º e 6º instar), pré-pupa, pupa em testes feitos sem chance de escolha. Os adultos de *T. howardi* (Pereira et al. 2015) mostraram preferência pelas fases de pré-pupa e pupa quando houve chance de escolha (Rodrigues et al. 2021).

Adultos de *T. howardi* possuem coloração escura e brilho metálico, suas fêmeas são sinovigênicas, apresentam início da maturação dos ovos após 24h de emergência (Zhong et al.

2016) e possuem a capacidade de depositar 30 ovos em média no interior do hospedeiro, onde permanecem em média por dois dias até a eclosão das larvas. Seus ovos possuem coloração branco-leitosa e medem cerca de 0,30 mm. A fase larval de coloração esbranquiçada dura em média seis dias, passando por três instares que se diferenciam pelo tamanho da larva, no primeiro instar de 0,80 mm, no segundo instar de 1,2 a 2 mm, alcançando o terceiro instar com 2,5 a 2,9 mm. Durante a fase de pupa, ocorre mudanças na coloração dos olhos compostos e ocelos, que variam de amarelo-claro ao laranja, até tornarem-se vermelhos e irem escurecendo até a emergência do adulto. Essa fase tem duração média de 8 dias (Gonzáles et al. 2003).

O dimorfismo sexual em adultos de *T. howardi* se manifesta nas mudanças morfológicas das antenas entre fêmeas e machos, as fêmeas apresentam antenas com escapo e pedicelo castanho-amarelado-claro e flagelo escuro com três segmentos cilíndricos funiculares, enquanto machos apresentam antenas com coloração clara em todo comprimento e pedicelo mais largo com a lateral arredondada (La Salle et al. 2007; Zheng et al. 2016); o fêmur das pernas anteriores é marrom avermelhado em fêmeas e amarelo-claro em machos (Gonzáles 2003). No geral, fêmeas apresentam comprimento de 1,6 mm a 2,2 mm e machos de 1,3 mm a 1,8 mm e seu período de desenvolvimento ovo-adulto varia entre 16 e 18 dias à 25°C (Gonzáles 2003), podendo parasitar e se desenvolver em variações térmicas de 16 a 31°C (Favero 2013).

2.7 Associação de parasitoides em controle biológico

Geralmente, parasitoides possuem nichos estreitos de recursos por possuem hospedeiros específicos na maioria dos casos, o que pode ocasionar competição interespecífica entre eles. Nesse sentido, um ou mais parasitoides podem interagir competindo de forma extrínseca – entre adultos durante a procura por recursos – e intrínseca – entre estágios imaturos em desenvolvimento nos hospedeiros (Hawkins e Mills 1996; Bogran et al. 2002; Harvey et al. 2013).

No cenário de sobreposição de nichos, um ou mais parasitoides competem pelo hospedeiro em uma única fase de desenvolvimento, enquanto em cenários de não sobreposição de nichos, parasitoides exploram o mesmo hospedeiro porem em diferentes estágios de desenvolvimento. Em ambos os cenários, em condições adequadas é possível a coexistência entre os parasitoides (Borer et al. 2004), uma vez que estes possuem diferentes

estratégias de forrageamento e reprodução (Pedersen e Mills 2004; Harvey et al. 2013; Miranda et al. 2015; Wang et al. 2015).

2.8 Uso de modelos matemáticos e suas aplicações no controle biológico

Modelos matemáticos são definidos como abstrações da realidade que permitem a comparação e extrapolação de sistemas biológicos a novas situações (Hannon e Ruth 2001). Estes modelos começaram a ser utilizados por ecólogos, matemáticos e físicos em estudos de ecologia nas décadas de 1950 e 1960, com o objetivo de unir aspectos matemáticos, considerados lógicos, e aspectos biológicos, considerados observacionais, para formular e testar hipóteses mais objetivas sobre problemas ambientais por meio de previsões quantitativas e, assim discutir medidas a serem adotadas para diferentes situações (Almeida e Vieira 2012).

No contexto agrícola, o uso de modelos matemáticos pode auxiliar na compreensão da dinâmica populacional de insetos praga e inimigos naturais (Smerage 1992; Gutierrez 1996; Schowalter 2006). Por meio de abstrações sobre interações pragas-inimigos naturais, pode-se gerar informações importantes quanto a escolha da espécie de agente biológico a ser utilizada, bem o período e condições de liberação (McEvov 2018). Dessa forma, modelos matemáticos podem ser usados como importantes ferramentas na tomada de decisões no manejo integrado de pragas (Jones 1989, Brigges et al. 1993; Rochat e Gutierrez 2001; Godoy 2012; Molnár et al. 2016; Garcia et al. 2017; Giraldo-Jaramilho et al. 2018; Garcia et al. 2019; Fonseca Lacerda et al 2019).

Um dos primeiros modelos teóricos propostos para o estudo de interações hospedeiro-parasitoide foi sugerido por Nicholson & Bailey, em 1935. Com base no modelo de Nicholson & Bailey (1935), outros modelos foram desenvolvidos, levando em consideração a interações entre parasitoides-hospedeiro em tempo contínuo, interações multiespécies, diferentes comportamentos de forrageio, estratégias reprodutivas dadas em escala local ou estruturadas espacialmente (Murdoch et al. 1987; Godfray e Hassel 1989; Gordon et al. 1991; Reeve et al. 1994a, b; Murdoch et al. 1992, 1996; Hassel 2000). De forma geral, seu desenvolvimento é dado pela análise dos parâmetros biológicos de insetos que influenciam no comportamento de sua população ou de outra espécie de inseto.

Dessa forma, o uso dessa ferramenta, como forma de compreender possíveis cenários no manejo da broca da cana por meio de liberações de inimigos naturais, por exemplo, contribui para a tomada de decisões em relação as medidas que controle que serão executadas em condições naturais.

Referências

- Aguiar-Menezes EL (2004) Diversidade vegetal: uma estratégia para o manejo de pragas em sistemas sustentáveis de produção agrícola. Embrapa Agrobiologia – Documentos (INFOTECA-E). Acessado 10-fev.-2022. Recuperado 10-fev.-2022 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/627833/1/doc177.pdf>.
- Almeida PJAL, Vieira MV (2012) Mathematical models in ecological theory: a review by brazilian researchers on its current status and perspectives. *Oecologia Australis* 16, 1 (2012), 9-12. doi <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1601.01>
- Alvarenga, TM (2020) Hospedeiros alternativos para a criação em massa do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) 2020. 25p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Barbosa RH, Kassab SO, Pereira FF, Rossoni C, Costa DP, Berndt MA (2015) Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. *Ciência Rural* 45 (2015), 185-188. doi <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130896>
- Bogran CE, Heinz KM, Ciomperlik MA (2002) Interspecific competition among insect parasitoids: field experiments with whiteflies as hosts in cotton. *Ecology* 83, 3 (2002), 653-668. Doi [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083%5b0653:ICAIPF%5d2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083%5b0653:ICAIPF%5d2.0.CO;2)
- Borer ET, Murdoch WW, Swarbrick SL (2004) Parasitoid coexistence: linking spatial field patterns with mechanism. *Ecology* 85, 3 (2004), 667-678. doi <https://doi.org/10.1890/02-0566>
- Borges Filho RC, Sturza VS, Bernardi D, Cunha US, Pinto AS, Silva SD, Nava DE (2019) Population dynamics of pest and natural enemies on sugar cane grown in a subtropical region of Brazil. *Florida Entomologist* 102, 3 (2019), 526-530. doi <https://doi.org/10.1653/024.102.0313>
- Botelho PSM, Macedo N. (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. Manolecap, São Paulo. (2002), 409-421.
- Boucek Z (1976) The African and Asiatic species of *Trichospilus* and *Cotterellia* (Hymenoptera: Eulophidae). *Bulletin Entomological Research* 65, 4 (1976), 669-681.
- Briggs CJ, Nisbet RM, Murdoch WW (1993) Coexistence of competing parasitoid species on a host with a variable life cycle. *Theoretical Population Biology* 44, 3 (1993), 341-373.
- Caixeta DF (2010) Dispersão de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2010. 48p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Carbognin ER (2016) Modelos de previsão de ocorrência de adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). 2016. 53p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Casanova-Garcia Y, Diaz-Guerra M, Naranjo F, Alvares-Gonzales JF (2010) Evolución de las potencialidades parasíticas de *Tetrastichus howardi* (Olliff.) y efectividad combinada con *Heterhorabditis bacteriophora* contra *Plutella xylostella* Lin. en col. Congreso Científico del INCA, XVII, San José de las Lajas, Cuba, pp. (2010), 22-26.
- Cherubin N (2018) Cana-de-açúcar: referência quando o assunto é controle biológico. *RPA News* 202, 6-14.
- Cortés AMP, Zarbin PH, Takiya DM, Bento JMS, Guidolin AS, Consoli FL (2010) Geographic variation of sex pheromone and mitochondrial DNA in *Diatraea saccharalis* (Fab., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of insect physiology* 56, 11 (2010), 1624-1630. doi <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.06.005>

- Cook JM (1993) Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. *Heredity* 71, 4 (1993), 421-421.
- Costa DP (2013) Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Conti BF (2012) Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico. 2012. 120p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- CTC – Centro de Tecnologia Canavieira (2007 a) Controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. *Boletim do Fornecedor* (2007).
- CTC – Centro de Tecnologia Canavieira (2007 b) CTC traz especialista para falar sobre a broca. *Assocana*, 4 (2007), 5.
- Dinardo-Miranda LL (2008) Pragas. Cana-de-açúcar. IAC, Campinas, Brasil. (2008), 349-422.
- Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Perecin D (2011) Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. *Bragantia* 70, 3 (2011), 577-585.
- Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Costa VP, Anjos Ia, Lopes DOP (2013) Reação de cultivares de cana-de-açúcar à broca do colmo. *Bragantia* 72, 1 (2013), 29-34.
- Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Da Costa VP, Lopes DOT (2014) Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. *Bragantia* 73, 2 (2014), 163-170.
- Duong CA, Diep DN, Hung HQ (2011). Survey of sugarcane moth borers in southeast Vietnam. *International Sugar Journal* 113, 1354 (2011), 732-737.
- Dyar HG, Heinrich C (1927) The American moths of the genus *Diatraea* and allies. Proceedings United States National Museum. pp. (1927) 1–48.
- Emana GD (2007) Comparative studies of the influence of relative humidity and temperature on the longevity and fecundity of the parasitoid, *Cotesia flavipes*. *Journal of Insect Science* 7, 1 (2007), 7-19. doi <https://doi.org/10.1673/031.007.1901>
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2015) Plantio da cana-de-açúcar. Acessado: 10-fev.-2022. Recuperado 10-fev.-2022: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_33_711200516717.html.
- Favero K (2013) Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) multiplicado em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) sob diferentes temperaturas. 2013. 143p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Felix J, Gonzáles A, Oca FNM, Ravelo HG, Baitha A (2005) Interaction of *Lixophaga diatraeae* (towns.) and *Tetrastichus howardi* (Olliff.) for management of *Diatraea saccharalis* (Fab.) in Cuba. *Sugar Tech* 7, 2 (2005) 5–8.
- Fernandes WC (2018) Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebididae) em condições de laboratório e semi-campo. 2018, 143p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Fonseca Lacerda L, Coelho Jr A, Gomes Garcia A, Sentelhas PC, Postali Parra JR (2019). Biology at different temperatures, thermal requirements, and ecological zoning of *Opogona sacchari* (Lepidoptera: Tineidae). *Journal of Economic Entomology* 112, 4 (2019) 1676-1682.

- Forbes Agro (2022) Plantio de cana transgênica quase dobra na nova safra do Brasil, diz CTC. Acessado: 04-out.-2022. Recuperado 04-out.-2022: <https://forbes.com.br/forbesagro/2022/04/plantio-de-cana-transgenica-quase-dobra-na-nova-safra-do-brasil-diz-ctc/>
- Gallo D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Baptista GCDE, Berti Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C (2002) Manual de entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba, Brasil. (2002), 920.
- Garcia AG, Godoy WAC, Thomas JMG, Nagoshi RN, Meagher RL (2017) Delimiting strategic zones for the development of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn in the state of Florida. *Journal of Economic Entomology* 111, 2 (2019) 120-126. doi <https://doi.org/10.1093/jee/tox329>
- Garcia AG, Diniz AJF, Parra JRP (2019) A fuzzy-based index to identify suitable areas for host-parasitoid interactions: Case study of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* and its natural enemy *Tamarixia radiata*. *Biological Control* 135, (2019) 135-140. doi <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.001>
- Giraldo-Jaramillo M, Garcia AG, Parra JRP (2018) Biology, thermal requirements, and estimation of the number of generations of *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Economic Entomology* 111, 5 (2018) 2192-2200. doi <https://doi.org/10.1093/jee/toy162>
- Godfray HCJ, Hassell MP (1989) Discrete and continuous insect populations in tropical environments. *Journal of Animal Ecology* 58, 1 (1989), 153-74.
- Godoy WAC (2012) Padrões ecológicos e tamanhos populacionais críticos: sensores importantes em modelagem e controle. *Oecologia Australis* 16, 1 (2012), 32-42. doi <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1601.04>
- González JFA, Oca FNM, Ravelo HG (2003) Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). *Centro Agrícola* 30, 2 (2003), 37-41.
- González LC, Porres RD, Lamid DS, Cuellar DG, Carbonell RJ (2008) Empleo de *Trichogramma pintoi* Voegelé y *Tetrastichus howardi* (Olliff.) para el control de plagas de lepidópteros en maíz almacenado. *Centro Agrícola* 35, 2 (2008), 85-87.
- Gordon DM, Nisbet RM, De Roos A, Gurney WSC, Stewart RK (1991) Discrete generations ins host-parasitoid models with contrasting life cycles. *Journal of Animal Ecology* 60, 1 (1991), 295 – 308.
- Guagliumi P (1972) Pragas da cana-de-açúcar: Nordeste do Brasil. Instituto de Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro.
- Gutierrez AP (1996) Applied population ecology: a supply-demand approach. John Wiley & Sons, New York, USA. (1996), 320.
- Hannon B, Ruth M (2001) Dynamic modeling. Springer, New York, USA. (2001), 409.
- Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013) Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology* 58 (2013), 333-351.
- Hassel MP (2000) Host-parasitoid population dynamics. *Journal of Animal Ecology* 69, 4 (2000), 543-566. doi <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00445.x>
- Hawkins BA, Mills NJ (1996) Variability in parasitoid community structure. *Journal of Animal Ecology* 65, 4 (1996), 501-516. doi <https://doi.org/10.2307/5785>
- Jones JW (1989) Integrating models with expert systems and data bases for decision making. *Bulletin American Meteorological Society* 71, (1989) 194-211.

- Kfir R (1997) Natural control of the cereal stemborers *Busseola Fusca* and *Chilo Partellus* in South Africa. *International Journal of Tropical Insect Science*, 17, 1 (1997), 61-67.
- Kfir R (2011) Prospects for biological control of *Chilo partellus* in grain crops in South Africa. *International Journal of Tropical Insect Science* 21, 4 (2011), 275-280.
- La Salle J, Polaszek A (2007) Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *African Entomology* 15, 1 (2007), 45-56.
- Lecuona RE, Alves SB (1988) Efficiency of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Beuveria brongniartii* (Sacc.) Petch, and granulosis virus on *Diatraea saccharalis* (F., 1974) at different temperatures. *Journal of Applied Entomology* 105, 1 (1988) 223-228. doi <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1988.tb00181.x>
- Lima LBA (2011) Comparação de dietas artificiais para criação de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) e avaliação da qualidade de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em criações massais. 2011. 39p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Biológico.
- Lima Filho M, Lima JOG (2001) Massa de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar: número de ovos e porcentagem de parasitismo por *Trichogramma spp.* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de campo. *Neotropical Entomology* 30: 483-487. doi <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000300026>
- Long WH (1976) Studies of the Ecology and control of *Diatraea saccharalis* on sugarcane in São Paulo State, Brazil. Congresso Brasileiro de Entomologia. Maceió, Brasil.
- Lopes JRS (1988) Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lep., Pyralidae). 1988. 141 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Lucchetta JT (2016) Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2016. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Macedo N (1978) New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptative potential in the Southern Brazil. *Entomology Newsletter* 4, (1978), 11-12.
- Macedo N, Araujo JR, Botelho PSM (1993) Sixteen years of biological control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22, 3 (1993), 441-448.
- Macedo N, Botelho PSM (1988) Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794) (Lepidoptera: Pyralidae). *Brasil Açucareiro* 160, 1 (1988), 2-14.
- Macedo N, Botelho PSM (2004) As pragas de maior incidência nos canaviais e seus controles. *Visão Agrícola*, 1, 1 (2004), 38-46.
- Mahmoud AMA, De Luna-Santillana EJ, Guo X, Rodrigues-Perez MA (2012) Parasitism by *Cotesia flavipes* alters the haemocyte population and phenoloxidase activity of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. *The Canadian Entomologist* 144, 4 (2012), 599-608. doi <https://doi.org/10.4039/tce.2012.41>
- Melo ABP, Parra JRP, Brito P, Melo A (1988) Biologia de *Diatraea saccharalis* em diferentes temperaturas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 23, 7 (1988), 663-680.
- Mendonça AF, Barbosa GVS, Marques EJ (1996) As cigarrinhas da cana-de-açúcar no Brasil. Pragas da cana-de-açúcar. Ed.do autor, Maceió, Brasil. (1996), 171-192.
- Mendonça Filho AF, Risco SHB, Costa JMB (1977) Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists, São Paulo, Brazil. pp. (1977) 703-710.

- Miranda M, Sivinski J, Rull J, Cicero L, Aluja M (2015) Niche breadth and interspecific competition between *Doryctobracon crawfordi* and *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), native and introduced parasitoids of *Anastrepha spp.* fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 82 (2015), 86–95.
- Molnár S, López I, Gámez M, Garay J (2016) A two-agent model applied to the biological control of the sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) by the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the larvae parasitoid *Cotesia flavipes*, *Biosystems* 141, (2016) 45-54. doi <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2016.02.002>
- Moore SD, Kfir R (1995) Aspects of the biology of the parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of African Zoology* 109, 5 (1995), 455-466.
- Murdoch WW, Briggs CJ, Nisbet RM (1996) Competitive displacement and biological control in parasitoids: a model. *American Naturalist* 148, 5 (1996), 807–826.
- Murdoch WW, Nisbet RM, Blythe SP, Gurney WSC (1987) An invulnerable age class and stability in delay-differential parasitoid–host models. *American Naturalist* 129, 2 (1987), 263–282.
- Murdoch WW, Nisbet RM, Luck RF, Godfray HCJ, Gurney WSC (1992) Size-selective sex-allocation and host feeding in a parasitoid–host model. *Journal of Animal Ecology* 61, 3 (1992), 533–41.
- Nicholson AJ, Bailey VA (1935) The balance of animal populations. Part 1. Proceedings of the Zoological Society of London. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, England. pp. (1935), 551–98.
- Noyes JS (2019) Universal Chalcidoidea Database. Wide Web electronic publication. Accessed: 10-fev.-2022. Recovered 10-fev.-2022: <https://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/eulophidae1.html>
- Ogunwolu EO, Reagan TE, Flynn JL, Hensley SD (1991) Effects of *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) damage and stalk rot fungi on sugarcane yield in Louisiana. *Crop Protection*, 10, 1 (1991), 57-61. doi [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(91\)90027-O](https://doi.org/10.1016/0261-2194(91)90027-O)
- Oliveira HN, Simonato J, Glaeser DF, Pereira FF (2016) Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Ciências Agrárias* 37, 1 (2016), 111-115. doi <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111>
- Overholt WA, Ngi-Song AJ, Omwega CO, Kimani SW, Mbapila J, Sallam MN, Ofomata V (1997) A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for biological control of cereal stemborers. *Insect Science and its Application* 17, 1 (1997), 79-88. doi <https://doi.org/10.1017/S1742758400022190>
- Pádua LEM (1986) Influência da nutrição, temperatura e umidade relativa do ar na relação *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) – *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). 1986. 85p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo/ Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- Pádua LEM, Parra JRP, Haddad ML (1994) Efeito da temperatura e umidade relativa do ar na biologia de *Cotesia flavipes* (Cameron). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 23, 1 (1994), 105-114.
- Parra JRP, Botelho PSM, Pinto ADS (2010) Controle biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade, pp (2010) 441-450.
- Pedersen BS, Mills NJ (2004) Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. *Journal of Applied Ecology* 41, 5 (2004), 973-984. doi <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00953.x>

- Pereira FF, Kassab SO, Calado VRF, Vargas EL, Oliveira HN, Zanuncio JC (2015) Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* 98, 1 (2015), 377-380. <https://doi.org/10.1653/024.098.0164>
- Perez R, Long HW (1964) Sex attractant and mating behaviour of the sugarcane borer. *Journal of Economic Entomology* 57, 5 (1964), 688-690. doi <https://doi.org/10.1093/jee/57.5.688>
- Piñeyro NG, Pereira FF, Borges FLG, Rossoni C, Silva AS, Kassab SO (2016) Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología? *Acta Biológica Colombiana* 21, 1 (2016), 189-193. doi <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>
- Pinheiro DO, Rossi GD, Cônsoli FL (2010) External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. *Zoologia* 27, 6 (2010), 986-992. doi <https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000600022>
- Pinto AS, Cano MAV, Santos EM (2006) A broca-da-cana. *Diatraea saccharalis*. Controle de pragas da cana-de-açúcar. Biocontrol, Sertãozinho, Brasil. (2006), 125-20.
- Pinto AS, Cantori LV, Ivan EAF (2015) Inovações tecnológicas no Controle Biológico de pragas da cana-de-açúcar. Tópicos em Entomologia Agrícola VIII. Maria de Lourdes Brandel-ME, Jaboticabal, Brasil. (2015), 125-135.
- Pinto AS, Araújo TGV, Bonatti RP (2019) Manejo biológico de *Diatraea saccharalis* comparando *Trichogramma galloi* com *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar. Simpósio de Controle Biológico. Embrapa Soja, Londrina.
- Pinto AS, Trujillo SEL (2019) Sugarcane. Natural enemies of insects pest in neotropical agroecosystems biological control and functional biodiversity. Springer, Switzerland. (2019), 413-425.
- Potting RPI, Overholt WA, Danso FO, Tasaku K (1997) Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 10, 1 (1997), 13. <https://doi.org/10.1007/BF02765472>
- Reeve JD, Cronin JT, Strong DR (1994a) Parasitism and generation cycles in a salt-marsh planthopper. *Journal of Animal Ecology* 63, 4 (1994), 912-20.
- Reeve JD, Cronin JT, Strong DR (1994b) Parasitoid aggregation and the stabilization of a salt marsh host-parasitoid system. *Ecology* 75, 2 (1994), 288-95. doi <https://doi.org/10.2307/1939534>
- Rochat J, Gutierrez AP (2001) Weather-mediated regulation of Olive scale by two parasitoids. *Journal of Animal Ecology* 70, 3 (2001) 476-490.
- Rodrigues A, Pereira FF, Barbosa PR et al. (2021) Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. *Journal of Insect Behavior* 34 (2021), 71-81. doi <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>
- Rossi GD, Salvador G, Cônsoli FL (2014) The parasitoid, *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), influences food consumption and utilization by *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 87, 2 (2014), 85-94. doi <https://doi.org/10.1002/arch.21182>
- Rossini BZ (2019) Comparação entre armadilhas de feromônio de *Diatraea saccharalis* no monitoramento de adultos em cana-de-açúcar. 2019. 31p. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- Sankar M, Jaigeetha S, Rao MS (2014) Exploitation of Biocontrol Agents, *Trichogramma chilonis* and *Tetrastichus howardi* on Yield Improvement in Sugarcane at EID Parry (India) Ltd., Sugar Mill Command Areas. *International Journal of Innovative Research & Development* 3, 8 (2014), 314-318.

- Schowalter TD (2006) Insect ecology: an ecosystem approach. Elsevier, San Diego. (2006), 572.
- Sanhueza FM (2019) Comparação entre armadilhas de feromônio de *Diatraea saccharalis* e períodos de monitoramento de adultos em cana-de-açúcar. 2019; 35p. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- Silva CCM, Marques EJ, Oliveira JV, Valente ECN (2012) Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Scientiarum Agronomy Maringá* 34, (2012) 23-27.
- Silveira Neto S, Carvalho RPL, Paranhos SB (1968) Flutuação populacional de pragas de cana-de-açúcar em Piracicaba. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Entomologia, SEB, Piracicaba.
- Smerage GH (1992) Representation of development in insect population models. Basics of Insect Modeling. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers. (1992), 107-134.
- Srikanth JA (2016) A 100 years of biological control of sugarcane pests in India: review and perspective. *CAB Reviews* 11, 13 (2016), 1-32. doi <https://doi.org/10.1079/PAVSNR201611013>
- Tiago EF, Pereira FF, Kassab SO, Barbosa RH, Cardoso CRG, Sanomia WY, Pereira HC, Silva RMMF, Zanuncio JC (2019) Biological Quality of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae after cold storage. *Florida Entomologist* 102, 3 (2019), 571-576. <http://dx.doi.org/10.1653/024.102.0345>
- Van Wilgenburg E, Driessen G, Beukeboom LW (2006) Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? *Frontiers in Zoology* 3, 1 (2006), 1-15.
- Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL (2011) Record o *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26, 3 (2011), 135-138.
- Vilela EF, Fernandes JB, Parra JRP, Moscardi F, Rabinovitch L. (1998) Controle biológico e feromônios de insetos no âmbito do agronegócio. Workshop sobre Controle Biológico e Feromônios de Insetos, São Pedro, Brasil. pp. (1998) 74.
- Walker DW (1965) Bionomics of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fab.). I. A description of the mating behavior. Proceedings of the Entomological Society of Washington, Washington, USA. pp. (1965) 80-83.
- Wang XY, Jennings DE, Jian J, Duan JJ (2015) Trade-offs in parasitism efficiency and brood size mediate parasitoid coexistence, with implications for biological control of the invasive emerald ash borer. *Journal of Applied Ecology* 52, 5 (2015), 1255–1263. doi <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12487>
- Wiedenmann RN, Smith JW, Darnell PO (1992) Laboratory rearing and Biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology* 21, 5 (1992), 1160-1167. doi <https://doi.org/10.1093/ee/21.5.1160>
- Zheng YH, Zheng LX, Liao YL, Wu WJ (2016) Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). *Microscopy Research and Technique* 76, 1 (2016), 374-384. doi <https://doi.org/10.1002/jemt.22134>
- Zhong L, Liao Y, Zhang Y, Wu W (2016) Ovarion development and oogenesis in *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Environmental Entomology* 38, 1 (2016), 154-158.

3. ASSOCIAÇÃO DOS PARASITOIDES, *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) E *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), NO MANEJO DE *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Resumo

Diatraea saccharalis, comumente conhecida como broca da cana-de-açúcar, é a principal praga da cultura canavieira, responsável por causar danos diretos e indiretos que afetam a produção de açúcar e álcool. Seu manejo, atualmente, é realizado por meio de liberações do parasitoide larval *Cotesia flavipes*, entretanto, quando se considera a sobreposição de gerações do inseto praga no campo, o uso de mais uma ferramenta de controle deve ser avaliada. *Tetrastichus howardi*, um parasitoide generalista, têm mostrado a capacidade de atacar *D. saccharalis* com preferência ao estágio de pupa, o que pode possibilitar sua liberação em associação com *C. flavipes*, aumentando a efetividade do controle da broca. Para testar a efetividade desta associação de espécies parasitoides no controle da praga, foram avaliadas as taxas de parasitismo em quatro diferentes cenários experimentais: (i) liberação de *C. flavipes* no estágio larval de *D. saccharalis*, (ii) liberação de *T. howardi* no estágio de pupa de *D. saccharalis*, (iii) liberações de *C. flavipes* e *T. howardi* no estágio larval de *D. saccharalis* e (iv) *C. flavipes* no estágio larval e *T. howardi* no estágio de pupa de *D. saccharalis*. Os resultados encontrados indicam que adição de *T. howardi* às liberações de *C. flavipes* não interfere na performance no parasitoide larval, bem como contribuem para supressão da população do inseto praga quando há sobreposição de gerações no ambiente, ou seja, entre os cenários avaliados, os cenários (iii) e (iv) foram os que apresentam maior controle da broca nos estágios de lagartas e pupas.

Palavras-chave: Broca da cana-de-açúcar, controle biológico, interação, sobreposição de gerações.

Abstract

Diatraea saccharalis, commonly known as sugar cane borer, is the main pest of the sugar cane field, responsible for causing direct and indirect damages that affect sugar and alcohol production. Its management is currently carried out through releases of the larval parasitoid *Cotesia flavipes*, however, when insect pest generations overlap in the field is considered, other control tactics should be evaluated. *Tetrastichus howardi*, a generalist parasitoid, has shown the ability to attack *D. saccharalis* with a preference for the pupal stage, which may allow its release in association with *C. flavipes*, increasing the effectiveness of the borer control. To test the effectiveness of this parasitoid species association in controlling the pest, parasitism rates were evaluated in four different experimental scenarios: (i) release of *C. flavipes* in the larval stage of *D. saccharalis*, (ii) release of *T. howardi* in the pupal stage of *D. saccharalis*, (iii) releases of *C. flavipes* and *T. howardi* in the larval stage of *D. saccharalis* and (iv) *C. flavipes* in the larval stage and *T. howardi* in the pupa stage of *D. saccharalis*. The finding results indicated that the addition of *T. howardi* to *C. flavipes* releases does not interfere with the performance of parasitoid larval, as well as contribute to the suppression of the insect pest population when there is generation overlap at the field, that's mean, between the evaluated scenarios, scenarios (iii) and (iv) were the ones that presented greater control of the borer in the caterpillar and pupae stages.

Keywords: Sugarcane borer, biological control, interaction, overlap of generations.

3.1 Introdução

O Brasil lidera o ranking mundial de produção de cana-de-açúcar (CONAB 2020), fazendo uso de extensas áreas (8.2 milhões de hectares na safra de 2021/22) para manter sua produção, a qual estima-se que para a safra de 2022/23 terá 10% oriunda de plantas transgênicas (*Bt*) (Forbes Agro 2022). Por se tratar de uma cultura semi-perene, ou seja, que possui um ciclo longo, sua colheita ocorre anualmente ou a cada um ano e meio, não sendo necessário o replantio durante, em média, 5-6 ciclos (EMBRAPA 2015). A soma desses dois fatores, áreas extensas de monocultivo e permanência da cultura no campo por períodos longos, favorece o ataque de insetos-pragas (Guagliumi 1972; Aguiar-Menezes 2004), dentre eles, destaca-se *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), comumente conhecida como broca da cana-de-açúcar ou broca da cana (Dinardo-Miranda 2008).

Os danos causados por este inseto ocorrem de forma direta e indireta, sendo o primeiro pela alimentação do interior do colmo durante a fase de lagarta, que leva ao enfraquecimento da planta podendo levar ao seu cairamento, sintoma conhecido como coração morto; e o segundo pela suscetibilidade a microrganismos, que infestam a planta pelo orifício no colmo feito pelas lagartas, que acarreta em perdas na produção de álcool e açúcar (Macedo e Botelho 1988). Os ataques de *D. saccharalis* ocorrem durante todo o desenvolvimento da cultura, uma vez que há disponibilidade de alimento, podendo ocorrer de quatro a cinco gerações do inseto por ano (Botelho 1985; Gallo et al. 2002), com picos populacionais entre os meses da primavera e verão (Botelho et al. 1993; Carbognin 2016).

O controle das lagartas de *D. saccharalis* pode ocorrer em dois momentos, o primeiro quando broca ainda não penetrou no colmo, por meio da aplicação de produtos químicos. No segundo momento, por meio do controle biológico quando a broca já se encontra dentro do colmo, pela liberação de inimigos naturais (Carbognin 2016; Matioli et al. 2019). O principal inimigo natural liberado nos canaviais é a vespa *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), que ataca as lagartas de 3^o a 5^o ínstar (Botelho e Macedo 2002) e que se destaca como agente de controle no maior programa de controle biológico do mundo desde sua introdução na década de 70, sendo liberado 3,5 milhões de hectares no ano de 2018 (Macedo 1978; Parra et al. 2010; Cherubin 2018)

Embora o uso de *C. flavipes* tenha importante impacto na redução das lagartas, a fração da população da praga que não é atacada pelo parasitoide acaba por garantir a

persistência da praga no cultivo. Quando se considera a ocorrência da sobreposição de gerações da broca no campo, além de lagartas, também são encontradas pupas do inseto dentro dos colmos de cana (Walter 1976; Botelho 1985; Costa 2009; Carbognin 2016). Esse fato, traz a necessidade de um inimigo natural que atue sobre esse estágio de vida do inseto-praga. Neste contexto, programas de controle biológico têm considerado a liberação de diferentes espécies parasitoides em associação ou sucessão com objetivo de aumentar a efetividade do controle populacional da praga (Botelho et al. 1999; Duong et al. 2011; van Nieuwenhove et al. 2016).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1983) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide generalista capaz de atacar diferentes espécies de lepidópteros (Barbosa et al. 2015; Lucchetta 2016; Oliveira et al. 2016; Piñeyro et al. 2016; Fernandes 2018; Rodrigues et al. 2021), inclusive *D. saccharalis*, nas suas fases de lagarta, pupa e adulto da broca, com preferência para a fase de pupa (Cruz et al. 2011; Vargas et al. 2011; Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021). O uso associado desses dois parasitoides no controle de lagartas de *D. saccharalis*, ou seja, quando ambos têm o mesmo nicho de interesse, já foi estudado e observou-se que não houve interferência negativa da presença de *T. howardi* sobre *C. flavipes* (Costa 2013). Entretanto, o uso associado desses parasitoides sem a sobreposição de nichos, uma vez que *T. howardi* tem preferência pela fase de pupa, até o momento da escrita desse trabalho não havia sido avaliada. Sob a hipótese de que quando há duas fases, lagartas e pupas, de *D. saccharalis* no ambiente, a associação destas espécies de parasitoides contribui para supressão do inseto-praga, é de se esperar que esta associação não acarrete em efeitos negativos sobre as performances individuais de cada parasitoide. Dessa forma, neste estudo foram investigados o uso isolado ou em associação de *C. flavipes* e *T. howardi* em lagartas e pupas de *D. saccharalis* inoculadas em cana-de-açúcar, por meio da avaliação do potencial de parasitismo de ambas as espécies parasitoides, visando entender qual seria a melhor estratégia de uso conjunto das espécies em programas de controle biológico de broca da cana.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Colônia de insetos

***Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)**

Pupas de *D. saccharalis* foram obtidas da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, na cidade de Piracicaba, em dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada. Com o auxílio de uma pinça esterilizada,

as pupas foram retiradas da dieta, lavadas em água corrente, separadas por sexo (Butt e Cantu 1962) e colocadas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada. As pupas foram colocadas em gaiolas de tubo PVC (10 × 20 cm) revestidas internamente com papel sulfite, com sua superfície coberta por outra placa de Petri e um rolo dental (algodão) em seu interior. Dessa forma, após emergência e acasalamento, as fêmeas puderam realizar posturas no papel sulfite que reveste a gaiola e os adultos puderam se alimentar de água destilada, oferecida por capilaridade pelo rolo dental. Este rolo dental foi trocado a cada dois dias e o papel sulfite foi trocado diariamente.

Folhas sulfites contendo posturas foram tratadas com sulfato de cobre (1%) durante 2 minutos para evitar o desenvolvimento de microrganismos contaminantes. Após essa sequência de processos, as posturas foram colocadas em placas de Petri (10 × 1,5 cm) revestidas em seu interior com papel filtro umedecido com água destilada, fechadas com plástico filme e mantidas em câmaras climatizadas (25±1 °C, UR de 70±10% e fotofase de 14h) até a eclosão das lagartas. As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato esterilizados (8,5 × 2,5 cm), contendo dieta artificial (10 ml) tampados com algodão hidrófugo esterilizado e mantidos na sala de desenvolvimento de lagartas (25±2 °C, UR de 60±20% e fotofase de 14h) até a fase de pupação.

***Cotesia flavipes* (Cameron, 1891)**

Adultos de *C. flavipes* foram obtidos da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, na cidade de Piracicaba. Estes foram mantidos em recipientes plásticos com tampa (6 cm de diâmetro × 6 cm de altura) contendo gotículas de mel como alimento por 24 h após a emergência para acasalamento.

Em seguida, lagartas de *D. saccharalis* de 14 a 15 dias de idade foram oferecidas às fêmeas de *C. flavipes* para parasitismo, através de um orifício na tampa do recipiente. Após parasitismo, essas lagartas foram transferidas para placas de Petri (10 cm de diâmetro × 2 cm de altura) contendo dieta por aproximadamente 15 dias, quando as larvas dos parasitoides perfuram o tegumento da lagarta para formarem casulos e posteriormente emergirem adultos.

***Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893)**

Pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas por *T. howardi* foram obtidas da criação mantida pela empresa JB Biotecnologia, individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,5 × 2,5 cm) vedados com algodão, contendo gotículas de mel como

alimento e mantidas em sala climatizada (25 ± 1 °C, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14h) até emergência dos parasitoides. Após 24h do início da emergência, os parasitoides adultos foram sexados (Zheng et al. 2016).

Fêmeas de *T. howardi* com idade entre 24 e 48h foram transferidas para tubos de vidros ($8,5 \times 2,5$ cm) contendo uma pupa de *D. saccharalis* com idade entre 24 e 48h (Zhong et al. 2016) e gotículas de mel puro. Os parasitoides permaneceram em contato com as pupas por 72h para que ocorresse o parasitismo, obedecendo a relação de 7:1 (parasitoide: pupa) (Oliveira 2013).

3.2.2 Avaliação das taxas de parasitismo em diferentes cenários experimentais de liberação de parasitoides

Para a avaliação de eficiência da liberação de uma e ou duas espécies de parasitoide no controle de *D. saccharalis* (teste de parasitismo), em dois estágios de vida do inseto-praga, foram utilizados colmos de cana-de-açúcar variedade SP89-1115, obtidos do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), Piracicaba, São Paulo. Esses foram cortados com auxílio de um serrote, de modo que cada colmo continha de dois a três entrenós, somando-se em média 35cm de altura. Cada colmo foi perfurado uma vez, 2 cm acima de um entrenó, com furadeira elétrica, utilizando-se broca (5/32 mm), com angulação de 45° graus e profundidade de 4 cm para posterior inoculação das brocas (lagarta ou pupa) conforme os tratamentos avaliados.

Após inoculação das brocas, os colmos foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas de acrílico ($70 \times 50 \times 50$ cm), sendo distribuídos 10 colmos/ gaiola – unidade experimental, e sustentados por uma armação plástica para tubetes, de forma que estavam equidistantes (10 cm) e mantidos em salas climatizadas (25 ± 2 °C, UR de $60\pm 20\%$ e fotofase de 14h). Foram feitas 10 réplicas por tratamento, ou seja, 10 gaiolas (com 10 colmos cada) por tratamento (cenários experimentais).

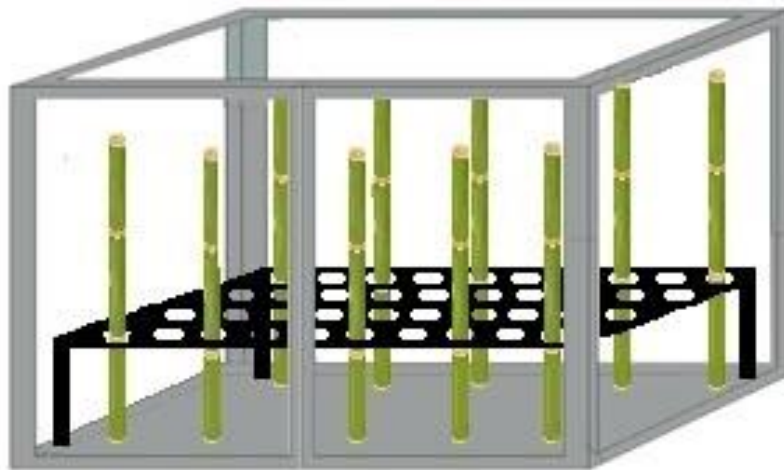


Fig. 1 Gaiola experimental para a avaliação das taxas de parasitismo de dois inimigos naturais, *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi*, em lagartas e pupas de *Diatraea saccharalis*, respectivamente.

As taxas de mortalidade de lagartas e/ou pupas de *D. saccharalis* pelas espécies parasitoides isoladas ou em associação foram quantificadas para quatro cenários experimentais (*i.e.*, tratamentos):

Cenário C₁: *D. saccharalis* (lagartas) × *C. flavipes*

Na entrada dos orifícios feitos nos colmos foram colocadas lagartas de *D. saccharalis* de 3^o instar, uma lagarta por colmo, obtidas aleatoriamente da criação, com a cabeça voltada para a entrada do orifício. Os colmos (10 unidades) foram dispostos na vertical (lagartas com a cabeça direcionada para cima) e acondicionados nas gaiolas de vidro (70 × 50 × 50 cm). Duas horas após finalizar a inoculação das lagartas, foi feita a liberação do parasitoide larval *C. flavipes* com idade de até 12 horas de emergência na proporção de 6:1 (parasitoide/lagarta) (Pinto 2021) no centro da gaiola.

Cenário C₂: *Diatraea saccharalis* (pupas) × *Tetrastichus howardi*

Na entrada dos orifícios feitos nos colmos foram colocadas lagartas de *D. saccharalis* de 3^o instar, uma lagarta por colmo, obtidas aleatoriamente da criação, com a cabeça voltada para a entrada do orifício. Os colmos (10 unidades) foram dispostos como descrito anteriormente. Após 12 dias, tempo necessário para que as lagartas inoculadas atingissem a fase de pupa a 27°C (Roe et al. 1982), foi realizada a liberação do parasitoide *T. howardi* com idade de 24 a 48 horas de emergência na proporção de 7:1 (parasitoide/pupa) (Tiago et al. 2019).

Cenário C3: Diatraea saccharalis (lagartas) × Cotesia flavipes + Tetrastichus howardi

Na entrada dos orifícios feitos nos colmos foram colocadas lagartas de *D. saccharalis* de 3º instar, uma lagarta por colmo, obtidas aleatoriamente da criação, com a cabeça voltada para a entrada do orifício. Os colmos (10 unidades) foram dispostos como descrito anteriormente. Duas horas após finalizar a inoculação das lagartas, foi feita a liberação do parasitoide larval *C. flavipes* com idade de até 12 horas de emergência nas gaiolas e *T. howardi* com idade de 24 a 48 horas de emergência, nas proporções 6:1 e 7:1 (parasitoide/lagarta), respectivamente.

Cenário C4: Diatraea saccharalis (lagartas e pupas) × Cotesia flavipes + Tetrastichus howardi

Em 5 colmos, na entrada dos orifícios feitos artificialmente, foram colocadas lagartas de *D. saccharalis* de 3º instar, uma lagarta por colmo e, em outros 5 colmos, foram colocadas pupas de *D. saccharalis*, com idade entre 24 e 48h, uma pupa por colmo, todas com a cabeça voltada para a entrada do orifício. Os colmos (10 unidades) foram dispostos como descrito anteriormente. Em seguida, foram feitas as liberações dos parasitoides *C. flavipes*, com idade de até 12 horas de emergência nas gaiolas, *T. howardi* com idade de 24 a 48 horas de emergência, nas proporções 6:1 e 7:1 (parasitoide/inseto praga), respectivamente.

Também foi realizado dois grupos controles, nos quais foram feitas a infestação artificial de lagartas (*C_L*) e pupas (*C_P*) de *D. saccharalis* nos colmos, entretanto sem a liberação de parasitoides.

Após a liberação dos parasitoides nas gaiolas experimentais, durante todo o período de experimentação, foi disponibilizado aos parasitoides, solução de água e mel na proporção de 10:1 como alimento. Após um período de 20 dias, período necessário para avaliação do desempenho dos parasitoides (González et al. 2003; Emaná 2007; Pinto 2021), os colmos foram retirados das gaiolas, individualizados em estrutura feita com copos plásticos de 700 ml (Figura 2) e mantidos nas mesmas condições térmicas, para emergência de parasitoides e/ou *D. saccharalis*. Dez dias após este período, os insetos emergidos foram contabilizados e todos os colmos foram abertos para verificar a presença e o estado dos insetos dentro do colmo.



Fig. 2 Estrutura para isolamento dos colmos de cana-de-açúcar.

Análise estatística

Os efeitos dos tratamentos (*i.e.*, liberações de *C. flavipes* e *T. howardi* de forma isolada ou em conjunto) sobre as taxas de mortalidade de *D. saccharalis* e sobre as taxas de emergência da prole das espécies parasitoides foram analisados através de ajuste de modelos lineares generalizados, assumindo distribuição de erros Binomial. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 3.6.1 (R Core Team 2019) e a avaliação da qualidade dos ajustes obtidos foi feita através de gráficos “half-normal-plot” com envelopes simulados ao nível de 95% (Moral et al. 2016).

3.3 Resultados

As liberações dos parasitoides de maneira isolada ou em associação influenciaram as taxas de mortalidade do inseto-praga ($F_{5,54}=49,27$; $p<0,001$). De maneira geral, na ausência das espécies parasitoides, as taxas de mortalidade de lagartas (C_L) e pupas (C_P) de *D. saccharalis* foram baixas, 11% e 1%, respectivamente (Figura 3). As maiores taxas de mortalidade se deram no estágio larval de *D. saccharalis*, não sendo observada diferença estatística entre a liberação de *C. flavipes* isolada (C_I) ou em associação com *T. howardi* (C_3), que corresponderam a 96% e 93%, respectivamente (Figura 3).

Quando presentes lagartas e pupas de *D. saccharalis* (C_4), a presença de ambas as espécies parasitoides mantiveram alta a taxa de mortalidade do inseto-praga, 81%, considerando que neste cenário haviam disponíveis lagartas e pupas (50% cada), a mortalidade de cada fase foi de 84% e 78%, respectivamente. A taxa de mortalidade da praga

não diferiu entre os cenários onde ambas as espécies parasitoides foram liberadas em gaiolas experimentais nas quais *D. saccharalis* estava presente somente no estágio de lagartas (C_3) ou presente nos estágios de lagartas e pupas simultaneamente (C_4) (Figura 3).

A mortalidade de pupas de *D. saccharalis* na presença isolada de *T. howardi* (C_2) apresentou média de 45,78%. Embora tenha sido o menor valor de mortalidade observado dentre os cenários de liberação de parasitoides avaliados, a presença da espécie parasitoide na fase pupal da praga se apresentou como fator determinante na redução das pupas de *D. saccharalis*, uma vez que nesta fase, na ausência de parasitoides (C_P), foram observadas as menores taxas de mortalidade (Figura 3).

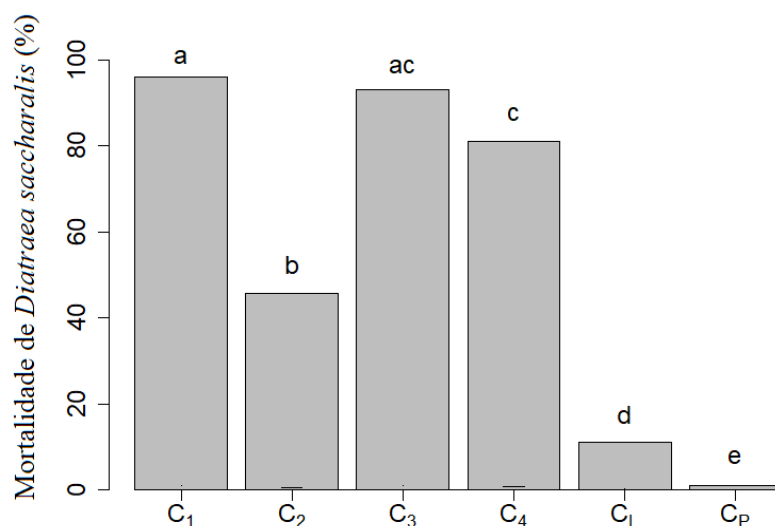


Fig. 3. Mortalidade de lagartas e/ou pupas de *Diatraea saccharalis* em cenários experimentais na presença dos inimigos naturais *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* isolados ou em associação. C_1 : lagartas de *D. saccharalis* \times *C. flavipes*; C_2 : pupas de *D. saccharalis* \times *T. howardi*; C_3 : lagartas de *D. saccharalis* \times *C. flavipes* + *T. howardi*; C_4 : lagartas e pupas de *D. saccharalis* \times *C. flavipes* + *T. howardi*. Os cenários C_L e C_P representam grupos controles nos quais lagartas e pupas de *D. saccharalis* estavam presentes na ausência das espécies parasitoides.

Após os 30 dias do início das interações das espécies parasitoides, além da quantificação dos insetos emergentes (praga e parasitoides), os colmos da cana foram abertos para a quantificação dos imaturos, da praga e parasitoides, presentes no interior do colmo. Para todos os cenários analisados, a mortalidade de *D. saccharalis* foi verificada pela evidência do parasitismo das lagartas e pupas por seus respectivos inimigos naturais, *C. flavipes* e *T. howardi*, com a presença de pupas dos mesmos (Figura 4).

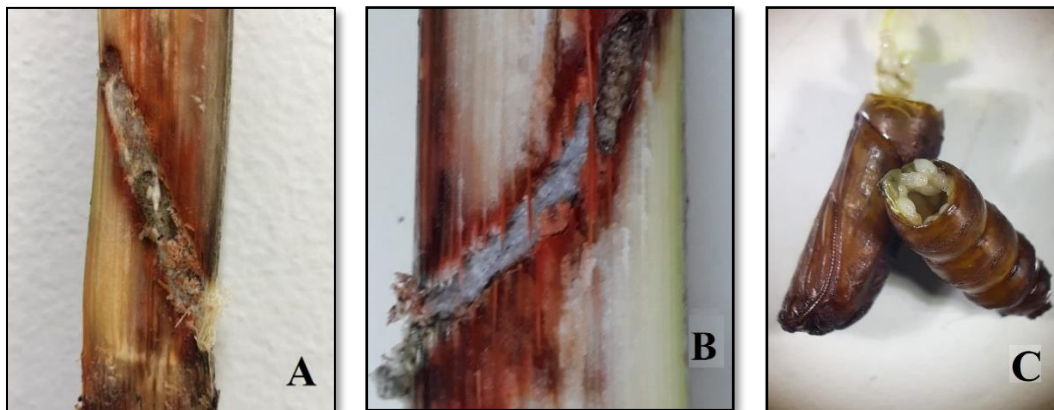


Fig.4 Pupas de *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi*, após parasitismo da lagarta (A e B) e pupas (C) de *Diatraea saccharalis*, respectivamente.

As espécies parasitoides foram capazes de reduzir a população de praga nas gaiolas experimentais ao final do período de observação, entretanto, as taxas de mortalidade da praga observadas nem sempre resultaram em sucesso na emergência da prole das espécies parasitoides. Os diferentes cenários experimentais influenciaram o processo de desenvolvimento da prole dos parasitoides ($F_{3,36}=19,02$; $p<0,001$). De maneira geral, a maior quantidade de formas imaturas dos parasitoides foram observadas quando ambas as espécies foram liberadas em conjunto, quando havia a presença de lagartas e pupas de *D. saccharalis* (C_4), seguida do cenário em que havia somente lagartas da praga no momento da liberação (C_3). A menor quantidade de imaturos na prole de parasitoides ao final dos 30 dias de observação se deu no cenário onde foi liberada somente *C. flavipes* nas gaiolas experimentais (C_1) (Figura 5).

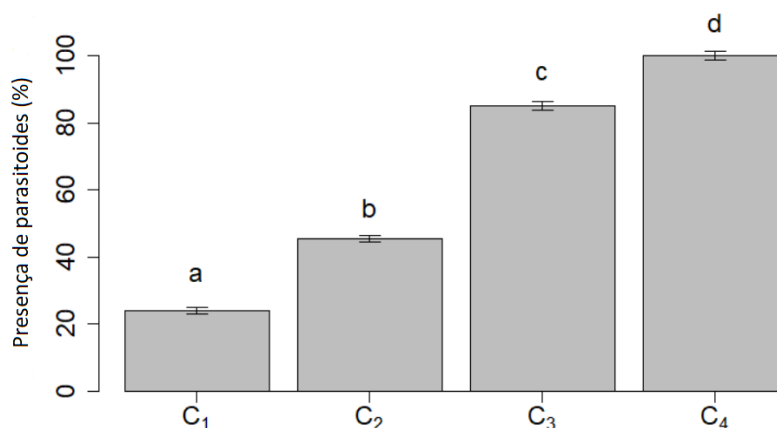


Fig.5. Presença de prole de parasitoides (fase imatura) resultante do parasitismo de lagartas/pupas de *Diatraea saccharalis* mortas após 30 dias de interação com as espécies parasitoides *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* em quatro diferentes cenários experimentais: C₁: lagartas de *D. saccharalis* × *C. flavipes*; C₂: pupas de *D. saccharalis* × *T. howardi*; C₃: lagartas de *D. saccharalis* × *C. flavipes* + *T. howardi*; C₄: lagartas e pupas de *D. saccharalis* × *C. flavipes* + *T. howardi*.

A figura 6 é possível observar a estrutura etária da população de *D. saccharalis* sobrevivente ao ataque dos parasitoides. Em todos os cenários nos quais os parasitoides estavam presentes, uma fração de indivíduos da população de praga conseguiu “escapar” do ataque dos parasitoides. O cenário em que ambas as espécies parasitoides foram liberadas na presença inicial exclusivamente de lagartas da praga (C₃) foi o cenário no qual a emergência de adultos de *D. saccharalis* não ocorreu dentro dos 30 dias. Quando somente *T. howardi* foi liberado (C₂), ao final da experimentação havia lagartas, pupas e adultos da praga. A presença isolada de *C. flavipes* (C₁) reduziu a população de lagartas, mas por não atacar a praga no estágio de pupa, lagartas que escaparam do parasitismo passaram pelo estágio de pupa, resultando na emergência, ainda que pequena, da praga. No cenário no qual inicialmente havia igual proporção de lagartas e pupas da praga e liberação de ambos parasitoides em associação (C₄), houve a presença de lagartas, pupas e adultos ao final do período de observação.

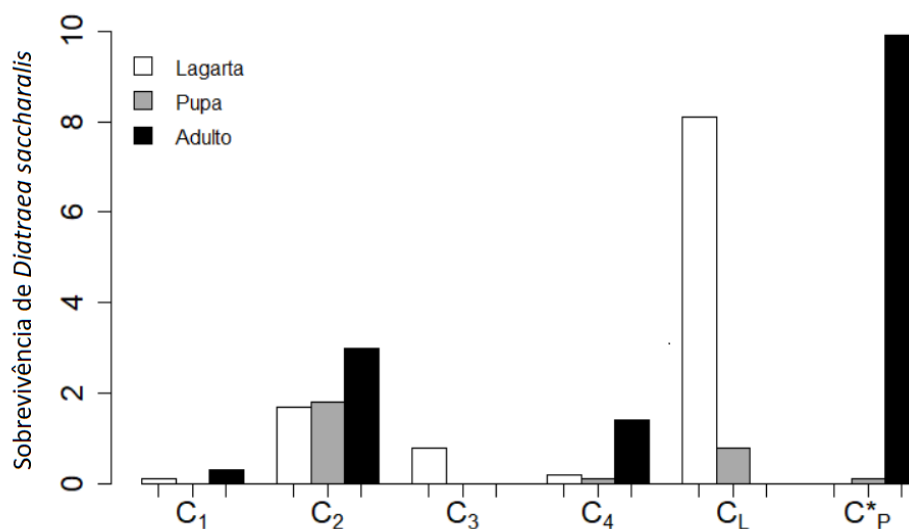


Fig.6. Sobrevivência (Média) e estrutura etária de *D. saccharalis* após 30 dias de exposição ao parasitismo pelas espécies de parasitoides *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* em quatro diferentes cenários experimentais: C₁: lagartas de *D. saccharalis* × *C. flavipes*; C₂: pupas de *D. saccharalis* × *T. howardi*; C₃: lagartas de *D. saccharalis* × *C. flavipes* + *T. howardi*; C₄: lagartas e pupas de *D. saccharalis* × *C. flavipes* + *T. howardi*. Os cenários C_L e C_P representam grupos controles nos quais lagartas e pupas de *D. saccharalis* estavam presentes na ausência das espécies parasitoides. *No cenário C_P somente pupas de *D. saccharalis* estavam presentes no início da experimentação

3.4 Discussão

Neste estudo foi observado que a presença de ambos os parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi*, sejam liberados de forma isolada ou associados, afetam a mortalidade de *D. saccharalis*, a principal praga da cana-de-açúcar. Entretanto os melhores resultados foram observados nas liberações isoladas de *C. flavipes* quando a praga se encontrava apenas na fase de lagarta ou em associação com *T. howardi*, quando a praga se encontrava na fase de lagarta e/ou pupa.

A mortalidade de lagartas de *D. saccharalis* pelo parasitoide larval *C. flavipes* já foi observada em diferentes estudos (Macedo e Botelho 1988; Wiedenmann et al. 1992; Macedo et al. 1993; Botelho e Macedo 2002; Pinto et al. 2006; Pinheiro et al. 2010; Silva et al. 2012), sendo esta influenciada pela proporção parasitoide: lagarta (Candeloro 2012). Utilizando a metodologia de broca inoculada e em condições laboratoriais, quando liberada como única forma de controle da broca, neste estudo *C. flavipes* foi responsável pela mortalidade média de 96% das lagartas presentes nas gaiolas, valor inferior ao encontrado por Costa (2013), de 100%, mas superior ao resultado encontrado por Barbosa et al. (2020) de 90%, sendo então, a

proporção parasitoide: lagarta responsável pelas as variabilidades encontradas, sendo de 6:1 (Pinto et al. 2006), 14:1 e 1:1, respectivamente.

Isso ocorre, pois, o número baixo de hospedeiros no ambiente pode resultar em uma quantidade baixa de pistas para a percepção do hospedeiro pelo inimigo natural, o que dificulta seu encontro (Silva et al. 2012); enquanto o número excessivo de inimigos naturais no ambiente pode levar ao aumento da competição intraespecífica (Knipling 1977; Hassel e Waage 1984) e conseqüentemente à diminuição da taxa de parasitismo (Beddington 1975). Um exemplo é o estudo de Santos e Mihsfeldt (2014), onde em metodologia semelhante a apresentada neste estudo, porém na proporção parasitoide: lagarta de 25:1, observou-se apenas 12,5% de parasitismo por *C. flavipes*. Atualmente, são recomendadas proporções que variam de 1:1 a 7:1 vespas por lagarta, dependendo do índice de infestação (Ivan et al. 2011; Masson et al. 2012; Cantori et al. 2013), porém, na prática, para baixas infestações, 1.500 e 5.000 brocas grandes/ha, é comum a liberação de 6000 vespas divididas entre oito pontos de liberação (Pinto et al. 2006).

Ainda no cenário de manejo da broca da cana-de-açúcar por apenas um agente de controle, *T. howardi* foi responsável por 45,78% da mortalidade das pupas da praga, entretanto, ao final do período experimental esperava-se que todas as lagartas inoculadas tivessem atingido o estágio de pupa, o que não ocorreu, permanecendo alguns, ainda no estágio de lagarta, que pode ter ocorrido devido mudança de dieta dos hospedeiros durante a inoculação (Boiça Jr 1997; Parra e Mihsfeldt 2021; Pinto 2016). A capacidade de parasitismo desse inimigo natural em pupas de *D. saccharalis* tem sido explorada em condições de laboratório (Costa 2013; Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021) e há relatos de ocorrências em condições naturais, em amostragem realizadas em campo (Cruz et al. 2011; Vargas et al. 2011) entretanto, poucos são os trabalhos que observaram essa habilidade em brocas/ pupas inoculadas em colmos da cana de açúcar. Em seu estudo com metodologia semelhante, Costa (2013) observou taxas de parasitismo de 67% por *T. howardi* em lagartas de *D. saccharalis*. Neste mesmo estudo, quando liberados os dois inimigos naturais, *C. flavipes* e *T. howardi*, associados para o controle de lagartas da broca, Costa (2013) observou 99% de parasitismo, valor superior ao encontrado neste trabalho, de 93%, o que indica que não há prejuízos nas taxas individuais de parasitismo dos inimigos naturais quando liberados em associação.

Levando em consideração a ocorrência de sobreposição de gerações do inseto-praga no campo (Walter 1976; Botelho 1985; Costa 2009; Carbognin 2016;), o uso associado dos inimigos naturais no cenário C₄, sendo um, parasitoide de lagartas e o outro, parasitoide

preferencialmente de pupas (Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021) resultou em 81% de mortalidade do inseto praga. Neste caso, as formas biológicas de *D. saccharalis* disponíveis aos parasitoides foram de 50% de lagartas e 50% de pupas, onde 84% das lagartas e 78% das pupas disponíveis foram parasitadas, as primeiras por *C. flavipes* e as segundas por *T. howardi*. O valor de parasitismo por *C. flavipes* encontra-se próximo aos informados nessa discussão, porém, *T. howardi* apresentou maior taxa de parasitismo em relação ao cenário em que foi liberado de forma isolada, isso pode estar relacionado a pela presença das lagartas no mesmo ambiente, que ao se alimentarem das plantas liberam substâncias em seu frass que são captadas pelos parasitoides (Godfray 1994; Ngi-Song et al. 2000; Rostás e Wölfling 2009) e pelos voláteis emitidos pelas plantas quando estas são atacadas por herbívoros (Loughrin et al. 1994; McCall et al. 1994; Potting et al. 1996).

Ao final dos experimentos, entre os cenários houve diferença nas taxas de desenvolvimento da prole das espécies parasitoides, ainda que houvesse a morte do hospedeiro. Isso ocorre, pois, o desenvolvimento de inimigos naturais é influenciado tanto pelas condições qualitativas do hospedeiro quanto por suas estratégias de forrageamento e reprodução (Benson 1973; Pratisoli e Parra 2000; Pinto 2016). Em C_1 a alta mortalidade de *D. saccharalis* não foi acompanhada pelo completo desenvolvimento da prole de *C. flavipes*. O mesmo foi observado por Lima (2014), que observou que o desenvolvimento do imaturo do parasitoides é retardado ou impossibilitado pelo sistema imune do hospedeiro, em resposta ao ataque do parasitoide (Carton et al. 2008). O aumento da presença de imaturos de *C. flavipes* em C_3 e C_4 pode estar relacionado a presença de *T. howardi* no ambiente, ou seja, ao maior ataque ao sistema imune do hospedeiro, agora causado pela ação de duas espécies de parasitoides, e a competição interespecífica. A maior depressão do sistema imune de um hospedeiro causada pelo estress da presença de mais de um agente de controle já foi observada (Garvey et al. 2022), assim como o aumento do auto-superparasitismo por uma espécie de agente de controle dominante, em um sistema hospedeiro: multiparasitoides (Mohamad et al. 2015), ações que resultam em maior desenvolvimento da prole dos agentes de controle.

O uso associado de diferentes táticas para o manejo de diferentes estágios de *D. saccharalis* já é uma realidade. Liberações de *C. flavipes* são realizadas em plantas transgênicas *Bt*, principalmente Dipel® (Sumitomo Chemical do Brasil, São Paulo-SP) e Thuricide® (Mitsui & CO. Brasil, São Paulo-SP), que não interferem no desenvolvimento do parasitoide e aumentam a suscetibilidade das lagartas ao parasitismo (Pinto et al. 2019;

Mahmoud et al. 2012); e após aplicações de produtos químicos seletivos que atacam as lagartas antes de entrarem no colmo, como os do grupo das Diamidas (Nalható 2021).

Fazendo uso apenas de produtos biológicos, liberações de *C. flavipes* também são realizadas em conjunto com outros produtos biológicos, após aplicações dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinhas *Mahanarva spp* (Stal.) (Hemiptera: Cercopidae) (Marques et al. 2008), que aumentam a suscetibilidade das lagartas ao parasitismo, embora *M. anisopliae* afete a emergência do parasitoide (Silva et al. 2014); e em conjunto com inimigos naturais, como o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) (Botelho et al. 1999) e predador *Euborellia annulipes* (Lucas, 1897) (Dermaptera: Anisolabididae) (Duong et al. 2011).

Assim como *C. flavipes*, *T. howardi* tem sido utilizado, sem prejuízos biológicos, com outros agentes de controle, como em associação com *Trichogramma pintoi* Voegelé (Hymenoptera: Trichogrammatidae) no controle de pragas da ordem Lepidoptera de grãos armazenados em (González et al. 2008) e em cana-de-açúcar, no controle de *D. saccharalis* com o parasitoide larval *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) (Felix et al. 2005) e de *Plutella xylostella* Lin. (Lepidoptera: Plutellidae) com o nematoide *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) em cultivo de repolho (Casanova-Garcia et al. 2010) em Cuba. Porém também se tem sido estudada sua associação a *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de duas espécies de *Chilo spp.* (Lepidoptera: Crambidae) e *Scirpophaga extractalis* (Lepidoptera: Crambidae) (Sankar et al. 2014) na Índia.

O uso associado das espécies de parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi*, além não acarretar prejuízos a performance de *C. flavipes*, agente de controle consolidado dentro do Manejo Integrado de Pragas, contribui de forma eficiente para a supressão de *D. saccharalis*, uma vez que o controle da broca-da-cana dentro do colmo só é possível por meio do uso de agentes biológicos, já que produtos químicos só atingem as partes externas da planta atingindo lagartas muito jovens antes de entrarem no mesófilo foliar ou os adultos, e dentro dos colmos, podem ser encontradas lagartas e pupas do hospedeiro.

3.5 Conclusões

- A mortalidade de lagartas de *D. saccharalis* por *C. flavipes* foi de 96%;
- A mortalidade de *D. saccharalis* quando houve a associação das espécies parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* nos cenários em que havia apenas lagartas ou lagartas e pupas

se manteve alta (de 93% e 81%, respectivamente), não sendo constatada interferência significativa no parasitismo de uma espécie sobre a outra;

- Nos cenários nos quais houve liberação de ambas as espécies de parasitoides, o tamanho da prole foi maior. Entretanto, o tempo para o desenvolvimento dos imaturos também foi maior nestes cenários, uma vez que, ao final de 30 dias ainda havia uma parcela da prole no estágio de larva no interior dos colmos.

Com base nos resultados observados, considerando a não sobreposição de nichos entre os parasitoides e que há sobreposição de gerações do inseto-praga na paisagem, a associação de *T. howardi* às liberações tradicionais de *C. flavipes* se mostrou mais eficiente no controle de *D. saccharalis*, além de apresentar maior viabilidade da prole dos agentes de controle, que podem se manter por mais tempo na paisagem e efetuar o parasitismo de outros hospedeiros após emergência.

Referências

- Aguiar-Menezes EL (2004) Diversidade vegetal: uma estratégia para o manejo de pragas em sistemas sustentáveis de produção agrícola. Embrapa Agrobiologia – Documentos (INFOTECA-E). Acessado 10-fev.-2022. Recuperado Acessado 10-fev.-2022, de <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/627833/1/doc177.pdf>.
- Barbosa RH, Kassab SO, Pereira FF, Rossoni C, Costa DP, Berndt MA (2015) Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. *Ciência Rural* 45 (2015), 185-188. doi <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130896>
- Barbosa VO, Brito CH, Oliveira R, Lima RM, Silva JF, Alves JCG, Oliveira LVQ, Batista JL (2020) Biological aspects and Population preference of *Cotesia flavipes* between *Diatraea saccharalis* and *Diatraea flavipennella*. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 15, 4 (2020), 1-8. doi <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i4a7689>
- Beddington JR (1975) Mutual interference between parasites or predators and its effect on searching efficiency. *Journal of Animal Ecology* 44, (1975), 331-340.
- Benson JF (1973) Intraspecific competition in the population dynamics of *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Animal Ecology* 42, 1 (1973), 105-124. doi <https://doi.org/10.2307/3407>
- Boiça Jr AL, Lara FM, and Bellodi MP (1997) Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.)." *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 26, 3 (1997), 537-542. doi <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000300017>
- Botelho PSM (1985) Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae). 110p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo.
- Botelho PSM, Magrini EA, Silveira Neto S, Macedo N (1993) Flutuação de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) através de armadilha de feromônio. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22, 2 (1993), 293-297.

- Botelho PSM, Parra JRP, Chagas Neto JF, Oliveira CPB (1999) Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira* 28, 3 (1999), 491-496. doi <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300015>
- Botelho PSM, Macedo N. (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. Manolecap, São Paulo. (2002), 409-421.
- Butt BA, Cantu E (1962) Sex determination of lepidopterous pupae. *USDA, Agric. Res. Serv. Rep.*, Washington. 33,75 (1962), 1-7.
- Candeloro DC (2012) Eficiência da liberação de *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* pela técnica de espalhamento de casulos em canavial. 2012. 34p. Trabalho de conclusão de curso - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- Cantori LV, Masson MB, Pinto AS, Coelho WV, Assunção DR, Vasconcelos GR (2013) Quantidade liberada de *Cotesia flavipes* contra populações de *Diatraea saccharalis* abaixo e no nível de controle em cana-de-açúcar. Simpósio de Controle Biológico. Embrapa Agropecuária Oeste/ UFMS, Dourados.
- Carbognin ER (2016) Modelos de previsão de ocorrência de adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). 2016. 53p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Carton Y, Poirié M, Nappi AJ (2008) Insect immune resistance to parasitoids. *Insect science* 15, 1 (2008), 67-87. doi <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00188.x>
- Casanova-Garcia Y, Diaz-Guerra M, Naranjo F, Alvares-Gonzales JF (2010) Evolución de las potencialidades parasíticas de *Tetrastichus howardi* (Ollif.) y efectividad combinada con *Heterhorabditis bacteriophora* contra *Plutella xylostella* Lin. en col. Congreso Científico del INCA, XVII, San José de las Lajas, Cuba, pp. (2010), 22-26.
- Cherubin N (2018) Cana-de-açúcar: referência quando o assunto é controle biológico. *RPA News* 202: 311-313.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento (2019) Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar 7: 53.
- Costa DP (2009) Distribuição espacial de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2009. 32p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Costa DP (2013) Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Cruz I, Redoan AC, Silva RB, Figueiredo MLC, Pentead-Dias AM (2011) New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Scientia Agricola* 68, 2 (2011), 252-254. doi <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000200017>
- Dinardo-Miranda LL (2008) Pragas. Cana-de-açúcar. IAC, Campinas, Brasil. (2008), 349-422.
- Duong CA, Diep DN, Hung HQ (2011). Survey of sugarcane moth borers in southeast Vietnam. *International Sugar Journal* 113, 1354 (2011), 732-737.
- Emana GD (2007) Comparative studies of the influence of relative humidity and temperature on the longevity and fecundity of the parasitoid, *Cotesia flavipes*. *Journal of Insect Science* 7, 1 (2007), 7-19. doi <https://doi.org/10.1673/031.007.1901>

- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2015) Plantio da cana-de-açúcar. Acessado: 10-fev.-2022. Recuperado 10-fev.-2022: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_33_711200516717.html.
- Felix J, Gonzáles A, Oca FNM, Ravelo HG, Baitha A (2005) Interaction of *Lixophaga diatraeae* (towns.) and *Tetrastichus howardi* (Ollif.) for management of *Diatraea saccharalis* (Fab.) in Cuba. *Sugar Tech* 7, 2 (2005) 5–8.
- Fernandes WC (2018) Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) em condições de laboratório e semi-campo. 2018, 143p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Forbes Agro (2022) Plantio de cana transgênica quase dobra na nova safra do Brasil, diz CTC. Acessado: 04-out.-2022. Recuperado 04-out.-2022: <https://forbes.com.br/forbesagro/2022/04/plantio-de-cana-transgenica-quase-dobra-na-nova-safra-do-brasil-diz-ctc/>
- Gallo D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Baptista GCDE, Berti Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C (2002). Manual de entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba, Brasil. (2002), 920.
- Garvey M, Creighton C, Kaplan I (2022) The threat of parasitism impairs immune function in host caterpillars. *Ecological Research*. doi <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12344>
- Godfray HCJ, Hassell MP (1989) Discrete and continuous insect populations in tropical environments. *Journal of Animal Ecology* 58, 1 (1989), 153–74
- González JFA, Oca FNM, Ravelo HG (2003) Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Ollif. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). *Centro Agrícola* 30, 2 (2003), 37-41.
- González LC, Porres RD, Lamid DS, Cuellar DG, Carbonell RJ (2008) Empleo de *Trichogramma pintoi* Voegelé y *Tetrastichus howardi* (Ollif.) para el control de plagas de lepidópteros en maíz almacenado. *Centro Agrícola* 35, 2 (2008), 85-87.
- Guagliumi P (1972) Pragas da cana-de-açúcar: Nordeste do Brasil. Instituto de Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro.
- Hassel MP, Waage JK (1984) Host-parasitoid population interactions. *Annual review of entomology*, 29 (1984): 89-114
- Hensley SD, Hammond AM (1968) Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology* 61, 6 (1968), 1742-1743.
- Ivan EA, Silva TL, Pinto AS, Silva BFB, Pedrão V, Silva MGF, Costa VA (2011) Número de pontos de liberação de *Cotesia flavipes* influenciando o parasitismo de lagartas e *Diatraea saccharalis* em canavial. Simpósio de Controle Biológico, São Paulo, Brasil.
- Knipling EF (1992) Principles of Insect Parasitism Analyzed from New Perspectives. Department of Agriculture Agricultural Research Service, 693 (1992).
- Lima LBA (2014) Parasitismo de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes idades larvais de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). 2014. 38p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- Lopes JRS (1988) Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lep., Pyralidae). 1988. 141 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- Louqhrin JH, Manukian A, Heath RR, Turlings TCJ, Tumlinson JH (1994) Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A.* 91:11836-11840.
- Lucchetta JT (2016) Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2016. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Macedo N (1978) New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptative potential in the Southern Brazil. *Entomology Newsletter* 4, (1978), 11-12.
- Macedo N, Araújo JR, Botelho PSM (1993) Sixteen years of biological control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22, 3 (1993), 441-448.
- Macedo N, Botelho PSM (1988) Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794) (Lepidoptera: Pyralidae). *Brasil Açucareiro* 160, 1 (1988), 2-14.
- Mahmoud AMA, De Luna-Santillana EJ, Guo X, Rodrigues-Perez MA (2012) Parasitism by *Cotesia flavipes* alters the haemocyte population and phenoloxidase activity of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. *The Canadian Entomologist* 144, 4 (2012), 599-608. doi <https://doi.org/10.4039/tce.2012.41>
- Matioli TF, Zanardi OZ, Yamamoto PT (2019) Impacts of seven insecticides on *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). *Ecotoxicology* 28, 10 (2019), 1210–1219. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02129-8>
- Mohamad R, Wajnberg E, Monge JP (2015) The effect of direct interspecific competition on patch exploitation strategies in parasitoid wasps. *Oecologia* 177, 1 (2015), 305-315.
- Marques EJ, Lima ROR, Andrade RM, Araújo Jr JM (2008) Controle biológico das brocas *Diatraea spp*, *Telchin licus licus* e cigarrinhas *Mahanarva spp* em cana-de-açúcar. Avanços no controle alternativo de pragas e doenças. EPAMIG, Viçosa, Brasil. (2008), 95-111.
- Masson MB, Pinto AS, Canini FLS, Junqueira VRP, Lima JA, Cano MAV (2012) Liberação de diferentes quantidades de *Cotesia flavipes* no controle de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. Workshop Agroenergia, Ribeirão Preto: IAC
- McCall PJ, Turlings TCJ, Louqhrin JH, Proveaux AT, Tumlinson JH (1994) Herbivore-induced volatile emission from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 20, 12 (1994), 3039-3050.
- Melo ABP (1984) Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera – Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas. 1984. 118p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Moral RA, Hinde J, Demétrio CGB (2016) hnp: Half-normal plots with simulation envelopes. R package version 1.2-2. Acessado 10-fev.-2022. Recuperado 10-fev.-2022 <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>.
- Nalhato PH (2021) Revisão bibliográfica da seletividade de Diamidas utilizados em cana-de-açúcar sobre *Cotesia flavipes* e *Trichogramma galloi*. 2021. 30p. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal de São Carlos, Araras.
- Ngi-Song A, Njagi PGN, Torto B, Overholt WA (2000) Identification of behaviorally active components from maize volatiles for the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *International Journal of Tropical Insect Science* 20, 3 (2000), 181-189. doi <https://doi.org/10.5039/agraria.v15i4a7689>

- Oliveira FG (2013) Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). 2013. 54p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Oliveira HN, Simonato J, Glaeser DF, Pereira FF (2016) Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Ciências Agrárias* 37, 1 (2016), 111-115. doi <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111>
- Parra JRP, Botelho PSM, Pinto ADS (2010) Controle biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade, pp (2010) 441-450.
- Parra JRP, Mihsfeldt LH (2021) Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. *Advances in insect rearing for research and pest management*. CRC Press (2021), 195-209.
- Pereira FF, Kassab SO, Calado VRF, Vargas EL, Oliveira HN, Zanuncio JC (2015) Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* 98, 1 (2015), 377-380. <https://doi.org/10.1653/024.098.0164>
- Piñeyro NG, Pereira FF, Borges FLG, Rossoni C, Silva AS, Kassab SO (2016) Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología? *Acta Biológica Colombiana* 21, 1 (2016), 189-193. doi <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>
- Pinheiro DO, Rossi GD, Cônsoli FL (2010) External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. *Zoologia* 27, 6 (2010), 986-992. doi <https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000600022>
- Pinto AS, Cano MAV, Santos EM (2006) A broca-da-cana. *Diatraea saccharalis*. Controle de pragas da cana-de-açúcar. Biocontrol, Sertãozinho, Brasil. (2006), 125-20.
- Pinto JRL (2016) Preferência de *Diatraea saccharalis* e *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) em variedades de cana-de-açúcar e parasitismo por *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). 2016. 45p. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- Pinto AS, Azevedo EB, Santos AZL, Cardoso CP, Fernandes FO, Rossi GD, Polanczyk RA (2019) Immune response and susceptibility to *Cotesia flavipes* parasitising *Diatraea saccharalis* larvae exposed to and surviving and LC25 dosage of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 166:107209. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107209>
- Pinto AS (2021) O caso de *Cotesia flavipes* na cana-de-açúcar no Brasil. Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. FEALQ, Piracicaba. (2021), 157-202.
- Potting RPJ (1996) Hunting for hiding hosts: the behavioral ecology of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. 2016. 120p. These (phD). Wageningen University & Research.
- Pratissoli D, Parra JRP (2000) Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley criado em duas traças do tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35, 7 (2000), 1281-1288. doi <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000700001>
- R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>
- Rodrigues A, Pereira FF, Barbosa PR et al. (2021) Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. *Journal of Insect Behavior* 34 (2021), 71-81. doi <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>

- Rostás M, Wölfling M (2009) Caterpillar footprints as host location kairomones for *Cotesia marginiventris*: Persistence and chemical nature. *Journal of Chemical Ecology* 35, 1 (2009), 20-27.
- Sankar M, Jaigeetha S, Rao MS (2014) Exploitation of Biocontrol Agents, *Trichogramma chilonis* and *Tetrastichus howardi* on Yield Improvement in Sugarcane at EID Parry (India) Ltd., Sugar Mill Command Areas. *International Journal of Innovative Research & Development* 3, 8 (2014), 314-318.
- Santos LAO, Mihsfeldt LH (2014) Capacidade de busca e de parasitismo de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). *EntomoBrasilis* 7, 2 (2014), 106-109. doi <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v7i2.333>
- Silva CCM, Marques EJ, Oliveira JV, Valente ECN (2012) Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Scientiarum Agronomy Maringá* 34, (2012) 23-27.
- Silva CCM, Marques EJ, Oliveira JV, Albuquerque AC, Valente ECN (2014) Interação de fungos entomopatogênicos com parasitoide para manejo de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 9, 4 (2014), 389-393. doi <https://doi.org/10.5039/agraria.v9i3a3959>
- Tiago EF, Pereira FF, Kassab SO, Barbosa RH, Cardoso CRG, Sanomia WY, Pereira HC, Silva RMMF, Zanuncio JC (2019) Biological Quality of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) Reared with *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) Pupae after Cold Storage. *Florida Entomologist* 102, 3 (2019), 571-576.
- Van Nieuwenhove G, Bezdjian LP, Schliserman P, Aluja M, Ovruski SM (2016) Combined effect of larval and pupal parasitoid use for *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) control. *Biological Control* 95, 94 (2016), 94-102. doi <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.004>
- Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL (2011) Record o *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26, 3 (2011), 143-146.
- Walter JMM (1976) Estudo da população da *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) em quatro regiões canavieiras do estado de São Paulo. 1976. 124 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Wiedenmann RN, Smith JW, Darnell PO (1992) Laboratory rearing and Biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology* 21, 5 (1992), 1160-1167. doi <https://doi.org/10.1093/ee/21.5.1160>
- Zheng YH, Zheng LX, Liao YL, Wu WJ (2016) Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). *Microscopy Research and Technique* 76, 1 (2016), 374-384. doi <https://doi.org/10.1002/jemt.22134>
- Zhong L, Liao Y, Zhang Y, Wu W (2016) Ovarion development and oogenesis in *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Environmental Entomology* 38, 1 (2016), 154-158.

4. COMPORTAMENTO DE PARASITOIDES, ESPECIALISTA E GENERALISTA, E SUAS APLICAÇÕES COMO AGENTES DE CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE SIMULAÇÕES EM MODELAGEM MATEMÁTICA

Resumo

Parasitoides são agentes de controle biológico que podem ser classificados quanto ao seu grau de especialização em relação ao hospedeiro, variando de especialistas à generalistas. *Cotesia flavipes* é considerado um parasitoide especialista em broca da ordem Lepidoptera, incluindo *D. saccharalis*, a broca da cana-de-açúcar, principal praga da cultura canavieira. Sua utilização como agente de controle biológico é considerada um caso sucesso no manejo de *D. saccharalis*. Entretanto, a fração de lagartas da broca que escapam do ataque desse parasitoide podem contribuir para a perpetuação da população do inseto-praga na paisagem. Uma alternativa para otimizar a supressão da população de *D. saccharalis* em campo é o uso de mais de um agente de controle, capaz de parasitar os indivíduos que escapam do ataque de *C. flavipes*. Assim, o parasitoide generalista *Tetrastichus howardi*, capaz de atacar pupas de *D. saccharalis*, tem sido visto como uma alternativa adicional para o aumento das taxas de mortalidade da praga em campo. Neste estudo, a performance individual das duas espécies parasitoides sobre lagartas e pupas de *D. saccharalis* foi avaliada por meio da resposta funcional, que posteriormente foi usada para parametrização de um modelo matemático, o qual contribuiu para simular o efeito da associação desses inimigos naturais sobre a população da broca cana-de-açúcar à curto e a longo prazo em uma área de canavial. Os resultados indicam que ambas as espécies de parasitoides apresentam resposta funcional do tipo II, sendo *C. flavipes* a espécie parasitoide mais eficiente por apresentar maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio sobre a praga. Porém, as simulações geradas pelo modelo, indicam que a associação de *T. howardi* às liberações de *C. flavipes* são mais eficazes em diminuir a ocupação de *D. saccharalis* no ambiente, bem como em manter a população da praga abaixo do nível de controle por períodos mais longos, quando comparada a liberação isolada de *C. flavipes*.

Palavras-chave: Controle biológico, *Diatraea saccharalis*, dinâmica populacional, resposta funcional.

Abstract

Parasitoids are biological control agents that can be classified according to the specialization degree related to their host, ranging from specialists to generalists. *Cotesia flavipes* is considered a specialist borer parasitoid of the order Lepidoptera, *D. saccharalis*, the sugarcane borer, the main pest of sugarcane, can be included as a host. Its use as a biological control agent is considered a success in the management of *D. saccharalis*. However, despite its effectiveness, the fraction of borer caterpillars that escape from the *C. flavipes* attacks can contribute to the perpetuation of the insect pest population at the landscape. An alternative to optimize the suppression of *D. saccharalis* population at the field is using more than one control agent, capable of parasitizing individuals that escape from the *C. flavipes* attack. Thus, the generalist parasitoid *Tetrastichus howardi*, capable of attacking *D. saccharalis* pupae, has been considered an additional alternative to increase the pest mortality rates at the field. In this study, the individual performance of the two parasitoid species on caterpillars and pupae of *D. saccharalis* was evaluated through the functional response, which was later used to parameterize a mathematical model used to simulate the effect of these natural enemy's association on the borer population in a sugarcane field, at

short and long-term dynamic. The results indicate that both parasitoid species exhibited type II functional response, with *C. flavipes* being the most efficient parasitoid species because it has higher attack rate and shorter handling time on the pest. However, the model simulations indicated that the addition of *T. howardi* to the *C. flavipes* releases were more effective in reducing *D. saccharalis* occupation at the field, as well as keeping the pest population below of the control level for longer periods, when compared to the isolated release of *C. flavipes*.

Keywords: Biological control, *Diatraea saccharalis*, population dynamics, functional response.

4.1 Introdução

O Controle Biológico de Pragas é definido como o uso de inimigos naturais, parasitoides e predadores, para o controle de insetos, ervas daninhas e doenças (Van Lenteren et al. 2018). Sua demanda tem sido intensificada devido ao aparecimento de diversas pragas resistentes a inseticidas químicos e plantas transgênicas (Yu et al. 2003; Storer et al. 2010) e a crescente pressão da sociedade pela redução do uso de produtos químicos (Bader et al. 2005).

Entre os parasitoides, os himenópteros são agentes de controle largamente utilizados em diferentes sistemas agrícolas (Godfray 1994) e estes se diferenciam em grau de especialização, que varia de especialistas à generalistas. Os especialistas atacam apenas uma ou poucas espécies de hospedeiros e por isso são considerados mais eficientes, enquanto os generalistas atacam uma gama de diferentes hospedeiros em diferentes habitats, o que lhes garante a vantagem de explorar diferentes recursos (Strickler 1979). Independente do grau de especialização do agente de controle, seu nível de sucesso está diretamente associado à sua capacidade de localizar o hospedeiro com precisão no ambiente, reconhecê-lo e lidar com suas defesas externas e fisiológicas (Dethier 1954; Iwantsch 1980; De Moraes et al. 1998; Althoff e Thompson 2001).

Cotesia flavipes (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide gregário larval especialista em brocas da ordem Lepidoptera, entre elas *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), a broca da cana-de-açúcar (Botelho e Macedo 2002; Pinto 2021). Desde sua introdução no Brasil na década de 70, tem sido considerado um caso de sucesso como agente de controle (Macedo 1978; Parra et al. 2010; Cherubin 2018), contribuindo com a redução da infestação da broca nos canaviais de 8 a 10% na década de 80 para 2,4% em 1999 no estado de São Paulo. Em condições naturais, a contribuição de *C. flavipes* gira em torno de 30 a 40% de parasitismo em *D. saccharalis* (Botelho e Macedo 2002). Isso ocorre devido a sua capacidade de localizar as brocas no interior dos colmos de cana-de-açúcar uma vez que são atraídas por substâncias voláteis induzidas pela herbivoria (Potting et al. 1996), além de uma substância hidrossolúvel presente nos excrementos da

lagarta (Potting et al. 1997), associada à sua capacidade de suprimir o sistema imune do hospedeiro (Wiedenmann et al. 1992; Mahmoud et al. 2012). Entretanto, *C. flavipes* não é capaz de atacar todas as lagartas no campo e tão pouco é capaz de atacar o inseto-praga quanto este já se encontra na fase de pupa dentro do colmo (Botelho e Macedo 2002). Assim alguns indivíduos escapam de seu ataque e completam seu desenvolvimento até a fase de pupa e/ou adulto, contribuindo para a permanência da praga no campo. Dessa forma, o uso de outro agente de controle, que ataque pupas de *D. saccharalis*, pode contribuir para a diminuição da emergência de adultos na próxima geração desse inseto, que se encontra presente no campo durante todo o ciclo da cultura (Botelho 1985; Botelho et al. 1993; Gallo et al. 2002; Carbognin 2016).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide generalista de lepidópteros (Barbosa et al. 2015; Lucchetta 2016; Oliveira et al. 2016; Piñeyro et al. 2016; Fernandes 2018; Rodrigues et al. 2021), capaz de atacar lagartas e pupas de *D. saccharalis* (Cruz et al. 2011; Vargas et al. 2011; Pereira et al. 2015), mas com preferência pela fase de pupa (Rodrigues et al. 2021). Assim, considerando que os parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi* possuem pouca ou nenhuma sobreposição de nichos em condições adequadas e, considerando que ambos possuem diferentes estratégias de forrageamento e reprodução, é possível a coexistência dos mesmos nas áreas de plantio de cana de açúcar (Borer et al. 2004; Pedersen e Mills 2004; Harvey et al. 2013; Miranda et al. 2015; Wang et al. 2015). Entretanto, para que a ação associada das espécies resulte em maior efetividade no controle da praga, é necessário estimar a curto e a longo prazo, os efeitos da interação das espécies parasitoides com a praga e entre si, avaliando a performance de cada espécie parasitoide para encontrar e atacar a praga e, conseqüentemente, quantificar o potencial competitivo das espécies e os efeitos desta interação sobre a efetividade do controle biológico.

A avaliação da performance individual das espécies parasitoides pode ser feita por meio de estudos da resposta funcional, definida como número médio de hospedeiros parasitados por um único parasitoide como função da abundância de hospedeiros, ao longo do tempo (Solomon 1949; Holling 1959). Através da resposta funcional pode-se avaliar e quantificar o tempo que de busca, manuseio e ataque do inseto-alvo, de cada parasitoide (Huffaker et al. 1971; Beddington et al. 1978; Berryman 1999). Após a liberação em campo, entretanto, o potencial de encontrar e atacar a praga também dependerá de como as espécies se movem na área de cultivo na busca pelos hospedeiros. Assim, a capacidade de dispersão

pode afetar diretamente as taxas de encontro das espécies parasitoides com a praga e a ocorrência da competição interespecífica.

No capítulo 3 deste trabalho, corroboramos com os resultados encontrado em por outros autores (Cruz et al. 2011; Vargas et al. 2011; Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021; Pinto 2021) sobre a eficiência dos parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* sobre a mortalidade de *D. saccharalis*. Os resultados também mostraram que a interação entre os mesmos não resulta em malefícios ao controle do inseto-praga. Assim, considerando o sucesso do programa de liberações de *C. flavipes* (Cherubin 2018) e os resultados encontrados no capítulo 3, diferentes estratégias de liberação complementar de *T. howardi* podem ser adotadas em programas de controle biológico com *C. flavipes*, a fim de torná-lo mais eficiente. Visando reduzir o tempo de testes em campo para a escolha da melhor dentre as possíveis estratégias adotadas, as avaliações prévias das mesmas podem ser investigadas por meio de simulações computacionais. Assim, as melhores estratégias encontradas nas simulações podem vir a ser testadas em campo, como complemento as liberações do parasitoide larval.

Modelos matemáticos têm sido utilizados no contexto agrícola para auxiliar na compreensão da dinâmica populacional de insetos praga e inimigos naturais (Smerage 1992; Gutierrez 1996; Schowalter 2006), uma vez que produzem abstrações da realidade que permitem a comparação e extrapolação de sistemas biológicos a novas situações (Hannon e Ruth 2001). Assim, um modelo matemático pode ser parametrizado por dados biológicos dos insetos, tais como a taxa de ataque e o tempo de manuseio, obtidos com a resposta funcional, bem como parâmetros que definem o comportamento de movimentação e dispersão das espécies em uma área, tornando-os importantes ferramentas de análise, predições e tomada de decisões no manejo integrado de pragas (Brigges et al. 1993; Rochat e Gutierrez 2001; Garcia et al. 2017; Giraldo-Jaramilho et al. 2018; Garcia et al. 2019; Fonseca Lacerda et al 2019), incluindo o manejo de *D. saccharalis* (Molnár et al. 2016).

Este estudo teve como objetivo quantificar a resposta funcional de *C. flavipes* e *T. howardi* na interação com *D. saccharalis*. Os valores encontrados para as taxas de ataque e tempo de manuseio foram usados como parâmetros de um modelo matemático, que permitiu analisar o potencial das espécies e os efeitos da competição interespecífica em um sistema onde as espécies estão presentes em uma área de plantio de cana e podem interagir e se dispersar ao longo dos vários ciclos da cana. Para isto, um modelo matemático com estrutura espacial foi desenvolvido para simular diferentes cenários estratégicos de liberação de uso das espécies de parasitoides como agentes de controle da broca, a fim de avaliar o impacto destas

espécies liberadas de forma isolada ou em conjunto sobre a dinâmica, distribuição e a interação entre as duas espécies parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi* na regulação populacional do inseto praga.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Colônia de insetos

***Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891)**

Pupas de *D. saccharalis* e adultos de *C. flavipes* foram obtidas da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade de São Paulo – ESALQ/USP, na cidade de Piracicaba. As lagartas de *D. saccharalis* foram criadas em dieta artificial de Hensley & Hammond (1968) modificada, seguindo a metodologia de Pinto (2021).

Adultos de *C. flavipes* foram mantidos em recipientes plásticos com tampa (6 cm de diâmetro × 6 cm de altura) contendo mel como alimento por 24 h após a emergência para acasalamento. Em seguida, lagartas de *D. saccharalis* de 14 a 15 dias de idade foram oferecidas às fêmeas de *C. flavipes* para parasitismo, através de um orifício na tampa do recipiente. Após parasitismo, essas lagartas foram transferidas a placas de Petri (10 cm de diâmetro × 2 cm de altura) contendo dieta por aproximadamente 15 dias, quando as larvas dos parasitoides perfuram o tegumento da lagarta para formarem casulos e posteriormente emergirem adultos.

***Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893)**

Pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas por *T. howardi* foram obtidas da criação mantida pela empresa JB Biotecnologia, individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,5 × 2,5 cm) vedados com algodão e mantidas em sala climatizada (25±1 °C, UR de 70±10% e fotofase de 14h) até emergência dos parasitoides. Após emergências, os parasitoides adultos foram alimentados com gotículas de mel puro e foi feita sua sexagem (Zheng et al. 2016).

Fêmeas de *T. howardi* com idade entre 24 e 48h foram transferidas para tubos de vidros (8,5 × 2,5 cm) contendo uma pupa de *D. saccharalis* com idade entre 24 e 48h (Zhong et al. 2016). Os parasitoides permaneceram em contato com as pupas por 72h para que ocorresse o parasitismo, obedecendo a relação de 7:1 (parasitoide: pupa) (Oliveira 2013).

4.2.2 Resposta funcional

A resposta funcional de *C. flavipes* e *T. howardi* foram avaliadas em placas de Petri (15 cm de diâmetro × 2,5 cm de altura), sendo os seguintes tratamentos: (i) 1 fêmeas de *C. flavipes* × lagartas de *D. saccharalis*, (ii) 1 fêmea de *T. howardi* × lagartas de *D. saccharalis* e (iii) 1 fêmea de *T. howardi* × pupas de *D. saccharalis*. Para todos os tratamentos foram disponibilizadas aos parasitoides, seis densidades da broca: 1, 2, 5, 10, 20 e 25; onde cada broca foi individualizada em um canudo plástico transparente (7cm) contendo dieta artificial (1 cm) e uma fita adesiva cobrindo uma extremidade do canudo (Fig. 1). Foram feitas 10 réplicas por tratamento. O parasitismo foi permitido por 96 h para os tratamentos (Costa et al., 2014; Pereira et al., 2015) e, após este período os parasitoides foram removidos e as lagartas e pupas individualizadas em tudo de vidro (8,5 × 2,5 cm) vedados com algodão e mantidas em sala climatizada (25±1 °C, UR de 70±10% e fotofase de 14h) até emergência dos parasitoides ou da broca. Os tubos contendo lagartas continham dieta para sua alimentação.



Fig. 1 Placa de Petri com pupas de *Diatraea saccharalis* inoculadas para teste de resposta funcional de fêmeas de *Tetrastichus howardi*.

A resposta funcional pode assumir três formas básicas. O primeiro tipo (Tipo I) é provavelmente incomum na natureza, pois o número de hospedeiros parasitados pelo parasitoide em função da densidade do hospedeiro segue uma trajetória linear. O segundo tipo de resposta (Tipo II) é provavelmente o mais comum, pois o parasitoide atinge o ponto de saturação em termos de parasitismo após uma certa densidade do hospedeiro. A resposta Tipo III é caracterizada por um período inicial com baixa taxa de parasitismo, seguido por uma

curva exponencial que termina com saturação, como na resposta Tipo II, o que sugere um padrão sigmóide de parasitismo do hospedeiro (Holling, 1959; Hassell, 1978). Como os hospedeiros parasitados não foram substituídos ao longo do tempo de experimentação, para os ajustes dos modelos de resposta funcional, foram usadas o conjunto de equações propostas por Rogers (1972), que leva em conta a depleção do hospedeiro e sua não reposição ao longo do tempo. Assim, para a resposta funcional o Tipo II foi ajustado aos dados com a seguinte equação:

$$(1) N_e = N_0 \left(1 - \exp(a(N_e T_h - T)) \right)$$

onde N_e é o número de hospedeiros parasitados, N_0 é a densidade inicial de hospedeiros, T é o tempo total disponível (24h), a e T_h são os coeficientes para taxa de ataque e tempo de manipulação, respectivamente. Para a resposta funcional do tipo III, a redução do número de hospedeiros depende da taxa constante de ataque, b , que é função da densidade inicial (N_0) ou da densidade atual do hospedeiro (N_e) (Hassell, 1978). O tratamento matemático mais simples para a equação surge quando b é uma função da densidade inicial do hospedeiro:

$$(2) N_e = N_0 \left(1 - \exp \left(- \frac{bN_0}{1+cN_0} (T_h N_e - T) \right) \right)$$

4.2.3 Parasitismo de *Tetrastichus howardi* sobre lagartas de *Diatraea saccharalis*

O parasitismo de *T. howardi* sobre lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* foi avaliado após não serem encontradas lagartas parasitadas por este parasitoide no teste de resposta funcional. Para tal, lagartas de *D. saccharalis* foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato esterilizados (8,5 × 2,5 cm), contendo um quadrado (1 × 1 cm) de dieta artificial, onde foi liberado 1 parasitoide por tubo. No interior de cada tubo havia gotículas de mel como alimento para os parasitoides. Os tubos foram tampados com plástico filme após liberação dos parasitoides, sendo realizadas 10 réplicas.

Os tubos foram mantidos em sala climatizada (25±1 °C, UR de 70±10% e fotofase de 14h) e após um período de 72h de exposição ao parasitismo (Oliveira 2013) os parasitoides foram removidos. Os tubos com as lagartas permaneceram na sala climatizada por 20 dias até serem avaliados com base na emergência dos parasitoides ou do hospedeiro.

Análise estatística

Resposta Funcional

Para uma escolha efetiva entre a resposta funcional tipo II ou III, foi realizada uma regressão logística da proporção de hospedeiros parasitados em relação à densidade de hospedeiros. As respostas funcionais do tipo II foram indicadas por um termo de primeira ordem negativo significativo, enquanto um termo de primeira ordem positivo significativo seguido por um termo de segunda ordem negativo significativo indicou uma resposta funcional do tipo III (Trexler et al. 1988, Juliano 2001; Pritchard 2014). Como as larvas ou pupas do hospedeiro não foram substituídas, pois foram parasitadas durante o período de observação, a equação do predador aleatório foi ajustada (Rogers 1972), que leva em conta a depleção do hospedeiro e sua não reposição ao longo do tempo. O tipo de resposta funcional (II ou III) foi comparado com uma resposta funcional linear (Tipo I) (Holling 1966) usando o Critério de Informação de Akaike (AIC). A análise e a resposta funcional ajustada foram feitas usando um pacote para análise de resposta funcional em R (Frair, Pritchard 2014).

Parasitismo de *Tetrastichus howardi* sobre lagartas de *Diatraea saccharalis*

O cálculo de porcentagem de parasitismo das lagartas de *D. saccharalis* por *T. howardi* foi feito pela razão entre adultos de *D. saccharalis* emergidos e lagartas inoculadas, multiplicado por 100.

4.2.4 Modelo matemático populacional

A dinâmica populacional das espécies foi descrita com base no modelo proposto por May & Hassel (1981), que descreve a dinâmica populacional de uma espécie hospedeira que pode ser parasitada por duas espécies parasitoides. No modelo não há sobreposição de gerações do inseto-praga no campo e os parasitoides não possuem sobreposição de nichos, ou seja, *C. flavipes* ataca a fase larval de *D. saccharalis* e a espécie *T. howardi*, o estágio de pupa. A competição entre as espécies parasitoides se dá de maneira indireta, ou seja, *T. howardi* pode parasitar apenas os hospedeiros que escaparam do parasitismo de *C. flavipes* e conseguiram se desenvolver até o estágio de pupa. A dinâmica é dada pelas seguintes equações:

$$(3) N_{i,t+1} = \lambda N_{i,t} f(P_{i,t}) f(Q_{i,t})$$

$$(4) P_{i,t+1} = N_{i,t} (1 - f(P_{i,t}))$$

$$(5) Q_{i,t+1} = N_{i,t} f(P_{i,t}) (1 - f(Q_{i,t}))$$

Onde $N_{i,t}$ representa a população de *D. saccharalis*, $P_{i,t}$ a população de *C. flavipes* e $Q_{i,t}$ a população de *T. howardi* no tempo t no *patch* i ; λ é a taxa de crescimento da população do hospedeiro na ausência do parasitismo (dado adquirido da literatura – Tabela 1).

As funções $f(P_t)$ e $f(Q_t)$ representam as respostas funcionais tipo II (Holling 1959) de *C. flavipes* e *T. howardi*, ou seja, a fração de hospedeiros que escapam do ataque dos parasitoides (foi definida a resposta funcional tipo II após a análise dos dados experimentais – ver seção 4.3.1 Resultados):

$$(6) f(P_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_P T_s P_{i,t}}{1 + \alpha_P T_{hP} N_{i,t}}}$$

$$(7) f(Q_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_Q T_s Q_{i,t}}{1 + \alpha_Q T_{hQ} N_{i,t}}}$$

Onde T_s é o tempo total de interação entre a espécie parasitoide e seu hospedeiro; T_{hP} e T_{hQ} descreve o tempo de manuseio do hospedeiro e α_P e α_Q a taxa de ataque de *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente (dados obtidos no experimento de resposta funcional).

A estrutura espacial do modelo, ou seja, paisagem agrícola, neste trabalho foi representada por um *grid*. Assim, a paisagem era composta por um *grid* de 50×50 *patches*, totalizando 2500 *patches*, equivalentes a uma área de plantio de dez hectares de cana-de-açúcar. Dessa forma, cada hectare era composto por 250 *patches* (cada *patch* possui 40 m²), unidades espaciais no modelo matemático.

No modelo proposto bem como em condições reais, as espécies de insetos interagem dentro de cada *patch* (local de presença de *D. saccharalis* e/ou liberação dos parasitoides) e, após a interação, a prole dos insetos gerada pode movimentar-se para outro *patch* (*patch* j), dependendo da densidade de hospedeiros e parasitoides presentes no local (*patch* i). O número de indivíduos que podem deixar o *patch* i local é representado pelas seguintes equações (Reigada et al. 2014):

$$(8) N_{i,t+1}^{out} = \frac{\mu_N N_{i,t+1}^2}{N_{i,t+1} + n^0}$$

$$(9) P_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_P \frac{N^0}{N^0 + N_{i,t+1}} \frac{P_{i,t+1}^2}{P_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} > 0 \\ P_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} = 0 \end{cases}$$

$$(10) Q_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_Q \frac{N^0}{N^0 + N_{i,t+1}} \frac{Q_{i,t+1}^2}{Q_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} > 0 \\ Q_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} = 0 \end{cases}$$

Onde $N_{i,t+1}^{out}$ representa a população de *D. saccharalis* que deixa o *patch* i , sendo μ_N a taxa máxima de dispersão dos hospedeiros quando a densidade de coespecíficos é alta (dispersão dependente da densidade) e n^0 a tolerância dos hospedeiros a seus coespecíficos. Desse modo, espera-se que quando a densidade de hospedeiros no *patch* é baixa, a fração de hospedeiros que irão permanecer no *patch* seja maior.

$P_{i,t+1}^{out}$ e $Q_{i,t+1}^{out}$ representam as populações de *C. flavipes* e *T. howardi* que deixam o *patch* i , sendo μ_P e μ_Q a fração máxima dos parasitoides que podem deixar o *patch* i quando não encontram uma proporção adequada de hospedeiros. Assim, N^0 é o número de hospedeiros necessários para a permanência dos parasitoides no *patch* i e f^0 é a tolerância dos parasitoides a seus coespecíficos.

A dispersão dos insetos ocorre dentro de uma distância R do *patch* i (original), com área de dispersão de πR^2 . Dessa forma, os números de indivíduos que chegam ao novo *patch* j são dados pelas seguintes equações:

$$(11) N_{j,t+1}^{in} = \frac{0.05}{r_{i,j}} N_{i,t+1}^{out}$$

$$(12) P_{i,t+1}^{in} = \frac{0.25}{r_{i,j}} P_{i,t+1}^{out}$$

$$(13) Q_{j,t+1}^{in} = \frac{0.25}{r_{i,j}} Q_{i,t+1}^{out}$$

Onde o número de indivíduos das espécies que chegam no *patch* j é inversamente proporcional a $r_{i,j}$, que representa a distância euclidiana do *patch* de saída i para o *patch* vizinho j ($r_{i,j}=1$ para *patches* adjacentes). Para evitar preferências dentre os *patches* vizinhos durante a dispersão, *patches* situados a uma dada distância $r_{i,j}$ foram selecionados aleatoriamente nas simulações.

Após serem considerados os insetos que se dispersaram para outro *patch* e os que chegaram de outro *patch*, as populações dos insetos dentro de cada *patch* são dadas pelas seguintes equações:

$$(14) N_{i,t+1} = N_{i,t+1} - N_{i,t+1}^{out} + \sum N_{j,t+1}^{in}$$

$$(15) P_{i,t+1} = P_{i,t+1} - P_{i,t+1}^{out} + \sum P_{j,t+1}^{in}$$

$$(16) Q_{i,t+1} = Q_{i,t+1} - Q_{i,t+1}^{out} + \sum Q_{j,t+1}^{in}$$

Considerando todos esses fatores como essenciais para o modelo, foram simulados cenários estratégicos para avaliar o uso de uma única liberação das espécies de parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi* no controle da população de *D. saccharalis*.

Para cada cenário, as simulações se iniciaram considerando que a população do inseto-praga se encontrava no nível de controle, ou seja, havia 1.500 brocas/ha (Pinto et al. 2021), o que equivale à 15% (375) de infestação do total de *patches* que simulam a paisagem nesse estudo. Dessa forma, cada hectare da paisagem possuía 37 *patches* infestados com *D. saccharalis*, totalizando 1517 brocas/ha ou 41 brocas/*patch*. A distribuição das brocas foi feita de forma aleatória no início das simulações (o modelo não considera o início da infestação da praga no campo e sim sua distribuição após seu estabelecimento na área).

Em todos os cenários, a liberação dos parasitoides ocorreu próximo a bordadura da paisagem, uma vez que Volpe et al (2011) e Litholdo et al. (2013), verificaram que *C. flavipes* tem o hábito se direcionar para o interior do canavial e não para o exterior, observando maiores taxas de parasitismo por esse parasitoide em tratamentos onde sua liberação ocorreu próxima as bordaduras da área de plantio.

Cenário C_1 : Liberação de *C. flavipes* de forma aleatória na área de borda da paisagem;

Cenário C_2 : Liberação de *C. flavipes* + *T. howardi* de forma aleatória na área de borda da paisagem;

Cenário C_3 : Liberação dupla de *C. flavipes* em locais diferentes de liberação, aleatórios, na área de borda da paisagem.

Em C_1 foram considerados 8 pontos de liberação dos parasitoides, sendo 6.000 (750/ ponto) *C. flavipes* (Pinto 2021) e 7.000 (810/ ponto) *T. howardi* (Oliveira 2013). No cenário C_2 , em que houve liberação dos dois parasitoides, estes foram liberados em *patches* diferentes 16 (pontos), sendo 6.000 (750/ ponto) *C. flavipes* (Pinto 2021) e 7.000 (875/ ponto) *T. howardi* (Oliveira 2013), de forma a evitar competição no momento da liberação entre as

espécies. O cenário C_3 foi simulado a fim de verificar os efeitos da competição intraespecífica entre os agentes de controle (tratamento controle do cenário C_2). As liberações dos parasitoides ao longo dos *patches* da borda da paisagem foram feitas de forma aleatória, tendo como restrição somente a necessidade da presença de brocas no *patch* de liberação.

O momento de liberação em todos os cenários foi considerado como $t = 0$, entretanto, considerando o número de gerações que o inseto-praga pode atingir ao longo do ciclo de produção (1 ano - Silveira Neto et al. 1968; Carbognin 2016) e que permanece na paisagem agrícola por todo ciclo da cultura (média de 6 anos – EMBRAPA 2015), foram considerados a densidade populacional e porcentagem de ocupação da paisagem por *D. saccharalis* de $t=0$ a $t= 30$. Dessa forma, foi possível estimar os momentos em que a população de *D. saccharalis* atinge novamente o nível de controle após uma única liberação dos parasitoides e consequentemente a necessidade de liberações extras ao longo do ciclo da cultura.

Todos os valores utilizados para parametrizar esse modelo matemático podem ser visualizados na Tabela 1. O modelo foi desenvolvido em linguagem de programação Python com o auxílio das bibliotecas Pickle (Van Rossum e Drake 2009; Van Rossum 2020), Matplotlib (Hunter 2007), NumPy (Harris et al. 2020) e do pacote *open-sourced* APLpy (Robitaille e Bresset 2012; Robitaille 2019).

Tabela 1 Dados utilizados para parametrizar o modelo.

Parâmetro	Descrição	Valores	Referência
λ	Taxa de crescimento populacional	1,0341	Botelho 1985
α_P	Taxa de ataque de <i>Cotesia flavipes</i>	0,28	Seção 4.3.1
α_Q	Taxa de ataque de <i>Tetrastichus howardi</i>	8,01	Seção 4.3.1
T_{hP}	Tempo de manuseio de <i>Cotesia flavipes</i>	1,46	Seção 4.3.1
T_{hQ}	Tempo de manuseio de <i>Tetrastichus howardi</i>	3,07	Seção 4.3.1
μ_N	Máxima taxa de dispersão dos hospedeiros	0,30	
n^0	Tolerância máxima dos hospedeiros a coespecíficos	100	
μ_P	Taxa máxima de dispersão de <i>Cotesia flavipes</i>	0,9	
μ_Q	Taxa máxima de dispersão de <i>Tetrastichus howardi</i>	0,9	
P_P	Quantidade média de <i>C. flavipes</i> adultos que emergem do hospedeiro	52,5	Wiedenmannetal 1992
P_Q	Quantidade média de <i>T. howardi</i> adultos que emergem do hospedeiro	30	Gonzáles 2003
N^0	Quantidade mínima de hospedeiros para a permanência de parasitoides nos <i>patches</i>	300	
f^0	Tolerância dos parasitoides a coespecíficos	100	
R_H	Raio de dispersão de <i>Diatraea saccharalis</i>	225	Caixeta 2010
R_P	Raio de dispersão de <i>Cotesia flavipes</i>	15	Dinardo-Miranda 2014
R_Q	Raio de dispersão de <i>Tetrastichus howardi</i>	20	Barbosa et al. 2019
R	Distância máxima alcançada pelo hospedeiro e parasitoides dentre os vizinhos do <i>patch</i> natal	3	
T_s	Tempo de procura dos parasitoides (ambas as espécies) por hospedeiros	4	

4.3 Resultados

4.3.1 Resposta funcional

As estimativas de parâmetros (e níveis de significância) para análises de regressão logística da proporção de hospedeiro parasitado em relação à densidade inicial do hospedeiro indicaram que *C. flavipes* apresentou Tipo II funcional (Fig.2) em lagartas de *D. saccharalis* (coeficiente linear = $-0,08 \pm 0,013$, valor $z = -6,02$; $p < 0,001$). A comparação dos valores de AIC com uma curva de resposta do Tipo I (ou seja, linear) também indicou que a resposta funcional do Tipo II foi mais apropriada (AIC Tipo I vs. Tipo II: 186,34 vs. 146,87). *Tetrastichus howardi* também apresentou Tipo II funcional (Fig.3) sob pupas de *D. saccharalis* (coeficiente linear = $-0,122 \pm 0,016$, valor $z = -7,615$; $p < 0,001$). A comparação dos valores de AIC com uma curva de resposta do Tipo I (ou seja, linear) também indicou que a resposta funcional do Tipo II foi mais apropriada (AIC Tipo I vs. Tipo II: 207,57 vs. 117,26).

As estimativas dos parâmetros de resposta funcional para as duas espécies parasitoides são dadas na tabela 2. Os resultados indicaram que *C. flavipes* foi a espécie parasitoide mais eficiente na redução da densidade de *D. saccharalis*, comparada a *T. howardi*, uma vez que apresentou maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio (Tab.2).

Tabela 2. Parâmetros estimados pelo ajuste de resposta funcional II, representada por uma curva assintótica, de *C. flavipes* e *T. howardi* sobre lagartas e pupas de *D. saccharalis*.

Espécie parasitoide	a	T_h
<i>C. flavipes</i>	$0,28 \text{ h}^{-1}$ (0,148 – 0,546)	1,46h (1,195 – 1,784)
<i>T. howardi</i>	$8,06 \text{ h}^{-1}$ (1,46 – 10,252)	3,08h (2,715 - 3,52)

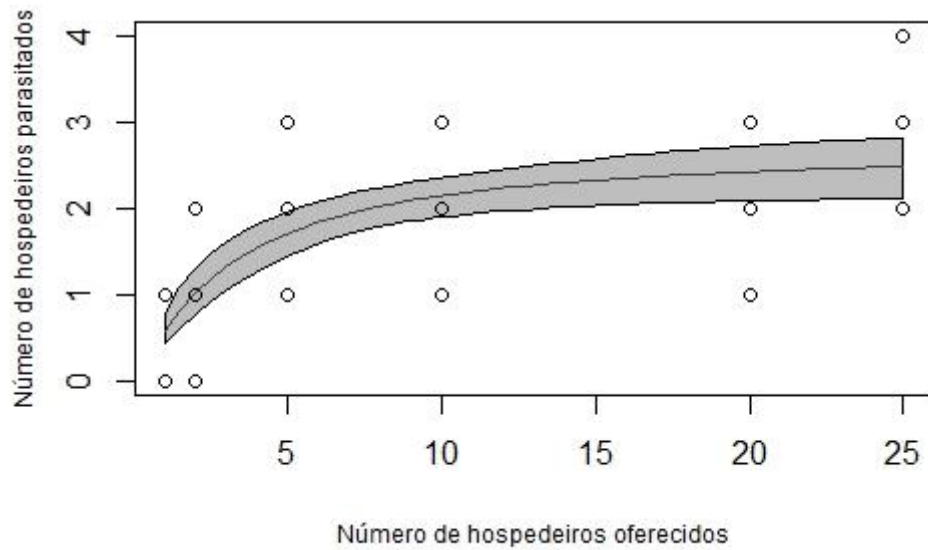


Fig. 2 Resposta funcional de *Cotesia flavipes* sobre diferentes densidades de lagartas de *Diatraea saccharalis*

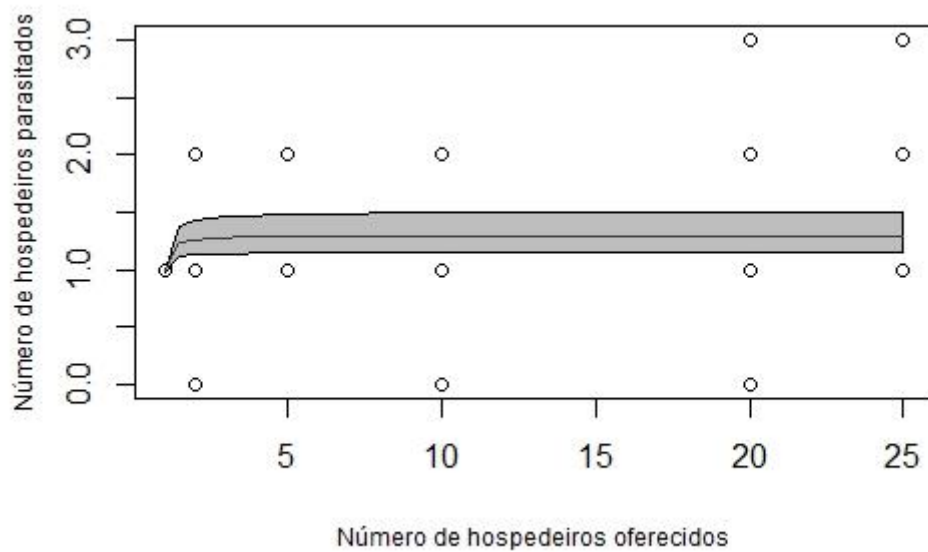


Fig. 3 Resposta funcional de *Tetrastichus howardi* sobre diferentes densidades de pupas de *Diatraea saccharalis*

4.3.2 Parasitismo de *Tetrastichus howardi* sobre lagartas de *Diatraea saccharalis*

Tetrastichus howardi parasitou apenas 10% das lagartas de *D. saccharalis* oferecidas. Também foi constatada a presença de imaturos no interior de lagarta com desenvolvimento incompleto após os 20 dias de experimentação (Fig. 4).



Fig. 4 Lagarta parasitada por *Tetrastichus howardi* com presença de imaturos do parasitoide.

4.3.3 Modelo matemático populacional

Três cenários (C_1 , C_2 e C_3), sendo um controle (C_3), foram analisados a fim de avaliar as estratégias de liberação de uma ou duas espécies de parasitoides no controle de *D. saccharalis*. A eficiência de cada estratégia foi avaliada por meio do tempo de permanência dos parasitoides, ocupação e densidade populacional das espécies de insetos (agentes de controle e hospedeiro) na paisagem. Para cada cenário, foram realizadas 50 simulações, totalizando 150 simulações.

A figura 5 mostra a frequência na qual os parasitoides permaneceram na paisagem até o final das simulações, num total de 50 simulações realizadas. Em todos os cenários, ambas as espécies de parasitoides persistiram na paisagem até a 5ª geração, período correspondente ao momento da primeira colheita da cultura. Entretanto, a persistência a longo prazo diferiu entre os cenários. Para C_1 , cenário em que houve liberação apenas de *C. flavipes*, a persistência desta espécie parasitoide na paisagem ocorreu em 100% das simulações por 14 gerações. Após este período a população do parasitoide apresentou maior propensão à extinção. Neste cenário, a permanência da população de *C. flavipes* na paisagem por 30 gerações ocorreu em apenas 40% das simulações.

Em C_2 , cenário em que houve liberação de ambas as espécies de parasitoides, ambas as populações de agente de controle permaneceram na paisagem até o final da 5ª geração em 100% das simulações. Por volta da 10ª geração ambas as populações passaram a ter maior ocorrência de extinção. A população de *C. flavipes* não persistiu na paisagem até o final das simulações (30 gerações) em nenhuma simulação, entretanto, *T. howardi* persistiu na

paisagem em aproximadamente 10% das simulações realizadas (Fig. 5 – C₂). No C₃, cenário controle de C₂ em que houve apenas liberação de *C. flavipes*, porém em maior quantidade que C₁, a população do parasitoide de larvas apresentou tendência a extinção a partir da 10ª geração, com queda mais acelerada comparada ao cenário C₁, e não se manteve na paisagem até a 30ª geração em nenhuma das simulações (Fig. 5 - C₃).

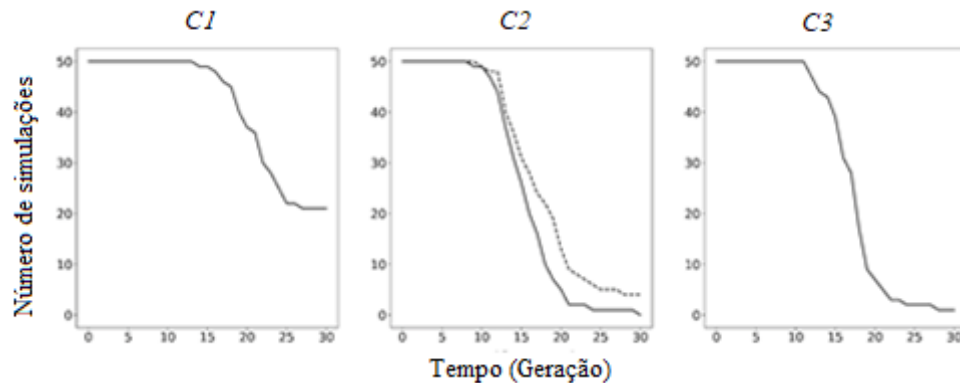


Fig. 5 Número de simulações com presença de *Cotesia flavipes* (linha sólida) e *Tetrastichus howardi* (linha tracejada) do total de 50 simulações. No painel, as colunas representam os cenários para uso das espécies de parasitoides: (C₁) liberação de 6000 *C. flavipes*; (C₂) liberação de 6000 *C. flavipes* + 7000 *T. howardi* e o tratamento controle (C₃) com liberação de 13000 *C. flavipes* por hectare.

A porcentagem de ocupação da área de plantio por ambas as espécies de parasitoides foi maior nos cenários C₂ e C₃, quando comparada a C₁ (Fig. 6), o que resultou na redução da ocupação de *D. saccharalis* nestes cenários. Até t=5, momento da colheita do primeiro ciclo da cana, a ocupação de *D. saccharalis* foi de 37.4% em C₁ e 25.5% e 24.8% em C₂ e C₃, respectivamente. Já no final do período de observação (t=30), a ocupação da área pela praga permaneceu menor nos cenários C₂ (29.9%) e C₃ (30.2%) enquanto em C₁ a praga ocupava 38.5% da área da paisagem, indicando que em ambos os cenários, C₂ e C₃, as populações de parasitoides tiveram o mesmo impacto sobre a expansão da praga na paisagem.

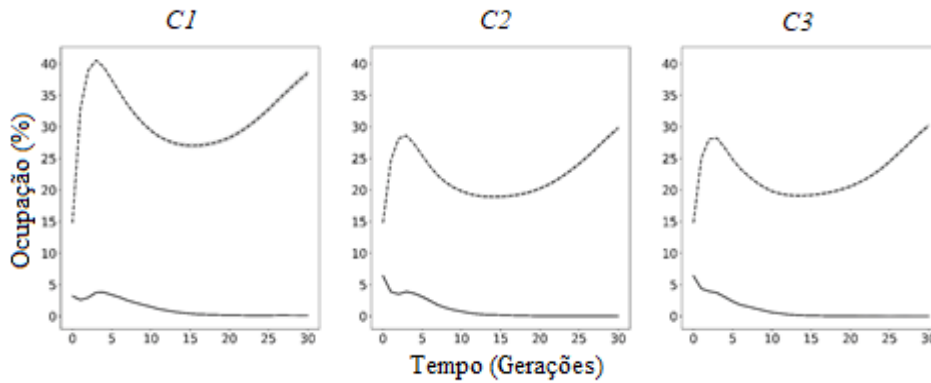


Fig. 6 Proporção média de patches ocupados por *Diatraea saccharalis* (linha tracejada) e ambos parasitoides (*Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi*) (linha preta) em um grid 50×50 , totalizando 2500 patches ou 10 hectares, ao longo do tempo. No painel, as colunas representam os cenários para uso das espécies de parasitoides: (C_1) liberação de 6000 *C. flavipes*; (C_2) liberação de 6000 *C. flavipes* + 7000 *T. howardi* e o tratamento controle (C_3) com liberação de 13.000 *C. flavipes* por hectare.

Além do efeito das liberações de parasitoides sobre a distribuição e expansão (ocupação) da praga, também foi analisado o impacto da presença dos inimigos naturais sobre o tamanho populacional da praga. Independente do cenário de liberação (C_1 , C_2 e C_3), a população de *D. saccharalis* não voltou a atingir o nível de controle após a liberação dos parasitoides até $t=5$, apesar de ter sido observado o declínio populacional dos parasitoides ao longo do tempo (Fig. 7).

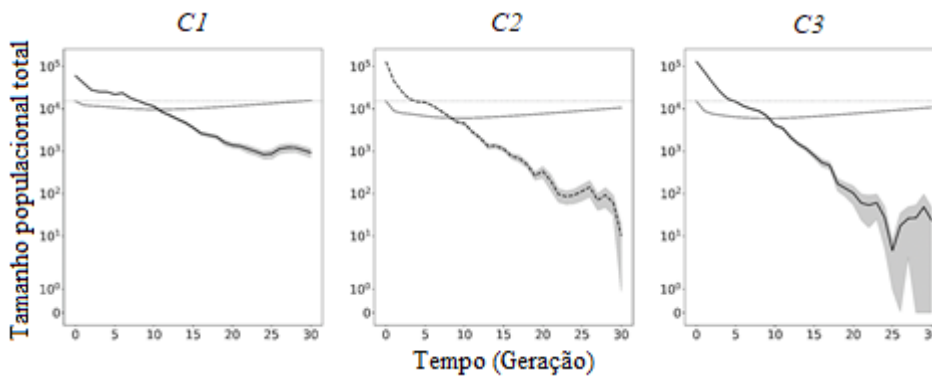


Fig. 7 Média (\pm erro padrão) populacional de *Diatraea saccharalis* (linha sólida cinza), *Cotesia flavipes* (linha sólida preta) e ambos parasitoides (*C. flavipes* + *Tetrastichus howardi*) (linha tracejada preta) em um grid 50×50 , totalizando 2500 patches ou 10 hectares. A linha pontilhada horizontal representa o nível de controle da praga. No painel, as colunas de gráficos representam os cenários para uso das espécies parasitoides: (C_1) liberação de 6000 *C. flavipes*; (C_2) liberação de 6000 *C. flavipes* + 7000 *T. howardi* e o tratamento controle (C_3) com liberação de 13000 *C. flavipes* por hectare.

A população de parasitoides no cenário C_1 se manteve em maior tamanho populacional até o final das simulações em comparação com os cenários C_2 e C_3 , entretanto, o impacto dos parasitoides sobre redução da população de pragas foi menor e ao final das simulações ($t=30$), a densidade populacional da broca em C_1 foi maior, comparada a

densidade populacional da praga nos cenários C_2 e C_3 . No cenário C_1 , a população da praga voltou a atingir o nível de controle (15691.5 ± 1788.19). O uso das duas espécies parasitoides em conjunto levou a um maior decréscimo das populações de parasitoides na paisagem, sugerindo ligeiro efeito da competição interespecífica sobre a população de parasitoides, embora estes efeitos não tenham prejudicado a regulação da população da praga no período de análise.

Uma vez que o monitoramento da praga no campo se dá em áreas de amostragem de 1 hectare, também foi analisado o efeito das estratégias de liberação dos parasitoides em cada um dos hectares da paisagem (total de 10 hectares). Em média, os picos populacionais da praga (nível de controle) nos cenários C_2 e C_3 ocorreram mais tardiamente nos hectares que compõe a paisagem, quando comparados com C_1 (Tabela 3). Assim como apresentaram menor número de hectares acima do nível de controle na última geração analisada (30ª geração).

Tabela 3 Médias (\pm desvio padrão) do número gerações necessárias para um hectare (em uma paisagem composta por 10 hectares) atingir o nível de controle e o número de hectares acima do nível de controle na última geração ($t=30$) nos diferentes cenários de liberação dos parasitoides: *Cotesia flavipes* (C_1), *Cotesia flavipes* + *Tetrastichus howardi* (C_2) e tratamento controle com liberação dupla de *Cotesia flavipes* (C_3). As médias são referentes ao total de 50 simulações para cada estratégia usada.

Cenários	Média (\pm desvio padrão) de gerações necessárias para um hectare atingir o nível de controle	Média (\pm desvio padrão) de hectares no nível de controle na última geração
C_1	14.14 (± 3.03)	4.94 (± 1.42)
C_2	23.93 (± 3.23)	1.70 (± 0.96)
C_3	27.22 (± 1.92)	1.04 (± 0.85)

4.4 Discussão

Neste estudo foi observado que *C. flavipes* e *T. howardi* apresentam reposta funcional do tipo II, entretanto seus comportamentos (taxa de ataque e tempo de manuseio) se diferenciam, com maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio apresentados pelo parasitoide especialista, *C. flavipes*. Com base nesses resultados e outros parâmetros encontrados na literatura, as simulações do modelo matemático também indicaram que a adoção da liberação complementar de *T. howardi* às liberações de *C. flavipes* aumentou a eficiência na regulação e manutenção da população de *D. saccharalis* abaixo do nível de controle, quando comparada a liberação única da *C. flavipes*, por diminuir a ocupação do inseto-praga na paisagem e manter sua população abaixo do nível de controle por mais tempo durante o ciclo da cana-de-açúcar.

A resposta funcional pode ser classificada em três tipos: (i) tipo I, a qual descreve uma relação linear sem desaceleração entre a taxa de ataque e a densidade do hospedeiro, a qual se estabiliza em um platô ao atingir a taxa máxima de ataque; (ii) tipo II, caracterizada por uma curva assintótica que indica a resposta do parasitoide frente ao aumento do número de hospedeiros até determinada densidade e (iii) tipo III, caracterizada por uma curva sigmoide, ou seja, o parasitoide se torna mais eficiente, aumentando sua taxa de ataque ou diminuindo seu tempo de manuseio, conforme o aumento da densidade de hospedeiros (Holling 1969; Berryman 1999; Hassel 2000). Neste estudo, a resposta funcional do tipo II apresentada por *C. flavipes* e *T. howardi*, indica que ambas as espécies de parasitoides responderam ao aumento da densidade do hospedeiro, entre 2 e 3 lagartas para *C. flavipes* e 1 e 2 pupas para *T. howardi*, ocorrendo posteriormente uma desaceleração do parasitismo, devido a taxa de ataque e ao tempo de manuseio do hospedeiro por cada inimigo natural (Holling 1959).

Em seu estudo com plantas de milho, Wiedenmann & Smith (1993) estimaram taxa de ataque de $a = 0,00126 \text{ h}^{-1}$ e tempo de manuseio $Th = 8,39 \text{ h}$ para *C. flavipes*, valores diferentes dos encontrados nesse estudo ($a = 0,28\text{h}^{-1}$ e $Th = 1,46\text{h}$). Essas divergências, ocorrem, provavelmente, devido ao delineamento experimental de cada estudo, uma vez que Wiedenmann & Smith (1993) realizaram seus experimentos em gaiolas com diferentes densidades do hospedeiro em 50 plantas de milho, onde *C. flavipes* deveria primeiro encontrar plantas infectadas para depois localizar as lagartas. Este fato explica o aumento do tempo de manuseio, uma vez que *C. flavipes* necessita apenas alguns segundos para depositar uma média 45 ovos em uma lagarta (Takasu & Overholt 1996).

Cotesia flavipes é uma espécie pró-ovigênica, ou seja, possui aproximadamente 150 ovos maduros disponíveis para oviposição (Flanders 1950; Potting et al. 1997), os quais são divididos entre os hospedeiros parasitados. Wiedenmann & Smith (1993), observaram que este parasitoide possui a capacidade de parasitar 2,8 hospedeiros, Potting et al. (1997) entre 3 e 4 e os resultados encontrados neste estudo indicam entre 2 e 3 hospedeiros. Entretanto, a probabilidade de uma fêmea de *C. flavipes* parasitar mais de um hospedeiro é baixa, uma vez que a cada encontro com um hospedeiro sua probabilidade de morte é alta, variando de 30-40% (Potting et al. 1997) à 90% (Takasu e Overholt 1996), devido ao ataque de defesa, mordidas, da lagarta hospedeira. Neste sentido, *C. flavipes* é uma espécie que deve otimizar sua oviposição e o sucesso desenvolvimento de sua prole (Godfray 1987), o que ocorre pela rapidez (3 a 4 segundos) em depositar um número alto de ovos nos primeiros hospedeiros (20 a 25% da carga total de ovos) e evitando o superparasitismo, ao distinguir entre hospedeiros já

parasitados pela presença de feromônio epideítico/marcação depositado por uma fêmea coespecífica (Takasu e Overholt 1996; Potting et al. 1997).

Tetrastichus howardi apresentou menor taxa de ataque ($a = 8,01 \text{ h}^{-1}$) e maior tempo de manuseio ($Th = 3,08\text{h}$) que *C. flavipes* ($a = 0,28 \text{ h}^{-1}$ e $Th = 1,46\text{h}$), essas diferenças de comportamento decorrem das diferentes estratégias de forrageamento das espécies parasitoides, que vão além da capacidade de parasitismo, como a detecção de pistas químicas para localização do hospedeiro e a capacidade de driblar o sistema imune do hospedeiro (Barbosa 1988; Vet e Dicke 1992).

No geral, inimigos naturais localizam seus hospedeiros por meio de uma sequência de passos, definida por Vinson (1976; 1984; 1985; 1997), os quais são: localização do habitat do hospedeiro, localização do hospedeiro, reconhecimento do hospedeiro e aceitação do hospedeiro. Plantas danificadas pela alimentação por lagartas liberam voláteis de folhas verdes e outros compostos que variam conforme o tempo de dano feito pelo hospedeiro (Loughrin et al. 1994; McCall et al. 1994). Alguns estudos (Cortesero et al. 1994; Rose et al. 1998) reportaram a atração tanto de parasitoides especialistas como generalistas por esses compostos. Rose et al. (1998), entretanto, observaram que apenas o parasitoide generalista, *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), era atraído por plantas com danos recentes, uma vez que pode encontrar diferentes hospedeiros disponível no ambiente, enquanto que o parasitoide especialista, *Microplitis croceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) foi atraído apenas por compostos liberados pelas plantas danificadas a mais tempo, ou seja, necessitam de pistas mais específicas para buscarem pelo hospedeiro. Nesse sentido, Cortesero et al. (1994), observaram que o parasitoide especialista, *M. croceipes*, além de ser atraído por plantas danificadas a mais tempo, aumentou sua atração por plantas que continham excreções da lagarta hospedeira.

Assim como *M. croceipes*, *C. flavipes* além de ser atraída por plantas danificadas (Nig-Song et al. 1996), também localizam seus hospedeiros por meio da percepção de uma substância hidrossolúvel presente nas excreções das lagartas (Potting et al. 1997; Silva et al. 2012). Nesse sentido, *T. howardi* apresenta maior tempo de busca por ser menos seletivo as pistas no ambiente e a aceitação de diferentes hospedeiros, enquanto *C. flavipes* por ser uma espécie especialista, rastreia pistas mais específicas para distinguir entre espécies hospedeiras e não hospedeiras e assim localizar hospedeiros adequados. Outro aspecto que influencia o maior tempo de busca e menos taxa de ataque exibidos por *T. howardi*, é que diferente de *C. flavipes* que emerge com seus ovos maduros, *T. howardi* é uma espécie sinovigênia e inicia o

processo de maturação de seus ovos apenas 24 horas após emergência, estendendo o processo de maturação de ovos ao longo da vida adulta (Flanders 1950; Zhong et al. 2016).

Embora não tenha sido observado parasitismo de *T. howardi* em lagartas de *D. saccharalis* na avaliação da resposta funcional, a ocorrência de parasitismo por esse inimigo natural sob esse estágio de vida do hospedeiro foi observada, mesmo que em taxas baixas, nesse estudo, quando avaliado a interação de fêmeas de *T. howardi* com lagartas da broca após 20 dias. O baixo parasitismo de lagartas de *D. saccharalis* também foi reportado por outros autores (Cruz et al. 2011; Vargas et al. 2011; Pereira et al. 2015; Rodrigues et al. 2021). No capítulo 3 deste trabalho, o uso associado de *T. howardi* à *C. flavipes* no controle de lagartas de *D. saccharalis* resultaram em apenas lagartas parasitadas por *C. flavipes*, por ser um inimigo natural mais eficiente sobre esse hospedeiro. Ainda assim, a presença de *T. howardi* não afetou de forma negativa a performance de *C. flavipes*, assim como no tratamento em que havia lagartas e pupas disponíveis aos parasitoides, no qual *T. howardi* foi capaz de atacar as pupas do hospedeiro, confirmando sua preferência por estágio de vida a praga, que em condições naturais, podem escapar do ataque do parasitoide larval (Botelho e Macedo 2002).

Os resultados gerados pelas simulações corroboram com os resultados encontrados no capítulo 3, e permitiram avaliar a dinâmica populacional das espécies resultante das interações entre os parasitoides e o hospedeiros ao longo de todas as gerações nas quais *D. saccharalis* pode permanecer durante os ciclos da cana-de-açúcar, tanto a curto prazo (1 colheita), quanto a longo prazo (média de 6 colheitas) (Botelho 1985; Gallo et al. 2002; EMBRAPA 2015).

A curto prazo, tanto a liberação única de *C. flavipes* (C_1) como em associação a *T. howardi* (C_2) ao nível de controle de *D. saccharalis* (1500/ha) permitiram 100% de persistência das populações dos parasitoides na paisagem no primeiro ciclo de colheita da cana. Porém, a longo prazo, nota-se que a população do parasitoide em C_1 inicia sua queda após a décima geração do hospedeiro, com queda menos acentuada que C_2 , onde os parasitoides iniciaram o declínio de suas populações antes da décima geração. Isso ocorre, possivelmente, devido a ocorrência da competição interespecífica entre as espécies de inimigos naturais que disputam o mesmo nicho. Ainda assim, em C_2 , a população de *C. flavipes* se extingue antes do final das simulações (30ª geração), enquanto *T. howardi* permanece na paisagem. Essa diferença de permanência das populações na paisagem pode ter ocorrido devido as estratégias de forrageamento das espécies.

Enquanto *T. howardi* é generalista, com menor taxa de ataque e maior tempo de manuseio, o que faz com que demore mais tempo para acabar com hospedeiros disponível

para perpetuação de sua espécie, *C. flavipes* é especialista e ataca com mais precisão e rapidez seu hospedeiro (Mohamad et al. 2015), diminuindo o número de hospedeiro disponíveis com mais rapidez. Essa queda populacional observada nas populações de *C. flavipes* no cenário C_2 também foi observada no cenário C_3 , o que indica que a competição intraespecífica também prejudica a persistência do parasitoide na paisagem (Beddington 1975).

O impacto da competição interespecífica sobre a população de *C. flavipes*, entretanto, não reduziu a efetividade do controle populacional da praga, e a longo prazo, possibilitou a persistência de *T. howardi* em algumas simulações. No cenário C_3 , o aumento da competição intraespecífica (maior densidade de parasitoides liberadas em comparação ao cenário C_1) levou a extinção da população de parasitoides em 100% das simulações. A persistência de parasitoides na paisagem após liberações inundativas em sistemas semi-perenes, como a cana pode ajudar a reduzir a frequência de surtos da praga e a necessidade de novas liberações de parasitoides ao longo dos ciclos da cana. Assim, o cenário C_2 traz vantagens ao promover maiores chances de permanência de parasitoides na área de plantio.

Parasitoides generalistas, por terem menor dependência de uma espécie hospedeira, são mais resilientes às modificações e distúrbios que ocorram na paisagem (Zepeda-Paulo et al. 2013). Por exemplo, em condições naturais, *T. howardi*, pode aumentar sua persistência no campo ao encontrar outras espécies hospedeiras adequados para parasitismo e desenvolvimento de sua prole (Magal et al. 2008; Stilmant et al. 2008) ao ser atraído por pistas gerais da presença de hospedeiros no ambiente (Vet e Dicke 1992) quando *D. saccharalis* está ausente ou em baixas densidades populacionais e, dessa forma manter sua população na área mesmo em períodos que a praga está ausente no local.

As simulações mostraram que, tanto em C_1 , quanto em C_2 , a população de *D. saccharalis* não voltou a atingir o nível de controle até o tempo $t=5$. Este resultado teórico difere do resultado observado por Rodero (2016), que recomenda uma ou duas liberações de *C. flavipes* a cada ciclo da cana em suas simulações. A curto prazo, as simulações indicam que apenas com ataque de *C. flavipes*, a população do hospedeiro ocupava em torno de 40% (mais de 1000 lagartas) da paisagem em sua quinta geração, valor o qual já se recomenda ações de controle (Pinto 2021), assim como observado por Rodero (2016). Por outro lado, com a complementação de *T. howardi* a ocupação máxima do hospedeiro ficou por volta de 28% (cerca de 6500 lagartas), valor aceitável para o nível de equilíbrio dessa praga (Pinto 2021). A longo prazo, o uso dos dois parasitoides manteve a ocupação do inseto-praga entre 15 e 28% da paisagem, sendo necessário liberação extra desses agentes de controle apenas na

23ª geração, já com a liberação apenas de *C. flavipes*, a ocupação se manteve entre 25 e 40% e liberações extras foram necessárias logo na 14ª geração.

Conforme também indicado pela tabela 3, na última geração da broca na paisagem, com o uso associado dos parasitoides, apenas 2 hectares de toda área de plantio continham a população de *D. saccharalis* no nível de controle, enquanto em C_I , com liberação apenas de *C. flavipes*, esse valor foi de aproximadamente 5 hectares. O controle local desses hectares, por meio da amostragem pelo método “broca-dentro” (Macedo e Botelho 1988; Dinardo-Miranda et al. 2011) ou por técnicas de sensoriamento remoto, que em conjunto com outras técnicas avançam e compõem a Agricultura 4.0 (Parra 2019), pode garantir maior economia de recursos ao produtor no manejo da broca.

Os resultados das simulações realizadas nesse estudo vão de encontro aos resultados encontrados nos testes em laboratório realizados no terceiro capítulo desse estudo e aos resultados encontrados por Costa (2013). Dessa forma, o modelo trouxe importantes informações sobre o potencial de associação de espécies parasitoides com diferentes comportamentos e estratégias reprodutivas em programas de controle biológico, permitindo fazer previsões e avaliação de estratégias para a liberação dos parasitoides em programas de controle biológico. Estes resultados teóricos, entretanto, devem ser considerados com cautela, uma vez que alguns importantes aspectos da dinâmica destes insetos em sistema real não foram considerados, como por exemplo chegada de novos indivíduos de *D. saccharalis* na paisagem, estrutura etária da praga no campo (Walter 1976; Botelho 1985; Costa 2009; Carbognin 2016), taxa de parasitismo em campo pelos agentes de controle e etc., aspectos que são considerados em um modelo matemático com base no individual, o qual pode ser desenvolvido em pesquisas futuras. Assim, é necessário avaliar como estas restrições afetam os resultados encontrados através de implementações de novos parâmetros e simulações computacionais, além da necessidade da validação dos resultados em teste de campo.

4.5 Conclusões

- *Cotesia flavipes* e *T. howardi* apresentam resposta funcional do tipo II sobre lagartas e pupas de *D. saccharalis*, respectivamente;
- *Cotesia flavipes* apresenta maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio sobre *D. saccharalis* quando comparada a *T. howardi*, o que a torna um melhor competidor na busca por hospedeiros;
- De acordo com as simulações, a maior efetividade de *C. flavipes* leva a maiores taxas de extinção das populações da praga nos *patches* da paisagem. Entretanto,

devido a limitação da dispersão dos parasitoides na paisagem, a rápida extinção de hospedeiros em *patches* vizinhos prejudica, a longo prazo, a persistência da espécie na paisagem, devido ao fato dos parasitoides, ao se dispersarem, não encontrarem hospedeiros nas proximidades (dentro de seu raio de dispersão) para se reproduzir;

- A associação de *C. flavipes* e *T. howardi* garante menor ocupação e expansão de *D. saccharalis* na paisagem, assim como mantém sua população abaixo do nível de controle por um período mais longo do que quando realizada liberação apenas *C. flavipes*.

Com base nos resultados observados, a associação de *T. howardi* às liberações tradicionais de *C. flavipes* é mais eficiente na supressão da população *D. saccharalis* na paisagem, pois embora a liberação de apenas *C. flavipes* seja suficiente para diminuir a população do inseto-praga abaixo do nível de controle, a curto prazo, a longo prazo, a liberação de ambas as espécies de parasitoides em associação garantem menor ocupação da broca na paisagem, exigindo uma próxima liberação apenas ao final do ciclo do total da cultura, em seu último ciclo de produção, antes da renovação do plantio.

Referências

- Althoff DM, Thompson JN (2001) Geographic structure on the searching behaviour of specialist parasitoid: combining molecular and behavioural approaches. *Journal of Evolutionary Biology* 14, 3 (2001), 406 – 4017. doi <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2001.00286.x>
- Bader A, Heinz K, Wharton R (2005) Impact of interspecific interactions on inoculative biological control of leafminers. *IOBC/WPRS Bulletin* 28, (2005), 5-9.
- Barbosa P (1988) Natural enemies and herbivore–plant interactions: influence of plant allelochemicals and host specificity. *Novel Aspects of Plant Interactions*. Wiley Interscience Publication, New York, p. (1988), 201–229.
- Barbosa RH, Kassab SO, Pereira FF, Rossoni C, Costa DP, Berndt MA (2015) Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. *Ciência Rural* 45 (2015), 185-188. doi <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130896>
- Beddington JR (1975) Mutual interference between parasites or predators and its effect on searching efficiency. *Journal of Animal Ecology* 44, (1975), 331-340.
- Berryman AA (1999) The theoretical foundations of biological control. *Theoretical Approaches to Biological Control*. Cambridge University Press, Cambridge. p. (1999), 3-21.
- Borer ET, Murdoch WW, Swarbrick SL (2004) Parasitoid coexistence: linking spatial field patterns with mechanism. *Ecology* 85,3 (2004), 667-678. doi <https://doi.org/10.1890/02-0566>
- Botelho PSM (1985) Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae). 1985. 110p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo.

- Botelho PSM, Magrini EA, Silveira Neto S, Macedo N (1993) Flutuação de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) através de armadilha de feromônio. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22, 2 (1993), 293-297.
- Botelho PSM, Macedo N. (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. Manolecap, São Paulo. (2002), 409-421.
- Briggs CJ, Nisbet RM, Murdoch WW (1993) Coexistence of competing parasitoid species on a host with a variable life cycle. *Theoretical Population Biology* 44, 3 (1993), 341-373.
- Carbognin ER (2016) Modelos de previsão de ocorrência de adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). 2016. 53p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.
- Cherubin N (2018) Cana-de-açúcar: referência quando o assunto é controle biológico. *RPA News* 202: 311-313.
- Cortesero AM, Monge JP (1994) Influence of pre-emergence experience on response to host and host plant odours in the larval parasitoid *Eupelmus vuilleti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 72, 3 (1994), 281-288.
- Costa DP (2009) Distribuição espacial de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2009. 32p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Costa DP (2013) Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Cruz I, Redoan AC, Silva RB, Figueiredo MLC, Pentead-Dias AM (2011) New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Scientia Agricola* 68, 2 (2011), 252-254. doi <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000200017>
- De Moraes CM, Lewis WJ, Pare PW, Alborns HT, Tumlinson JH (1998) Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393, (1998), 570 – 573.
- Dethier VG (1954) Evolution of feeding preferences in phytophagous insect. *Evolution* 8, (1954), 33 -54.
- Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Perecin D (2011) Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. *Bragantia* 70, 3 (2011), 577-585.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2015) Plantio da cana-de-açúcar. Acessado: 10-fev.-2022. Recuperado 10-fev.-2022: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_33_711200516717.html.
- Fernandes WC (2018) Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas, pupas e pré-pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebididae) em condições de laboratório e semi-campo. 2018, 143p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Flanders SE (1950) Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic Hymenoptera. *Canadian Entomologist* 82, (1950) 134-140. doi <https://doi.org/10.4039/Ent82134-6>
- Fonseca Lacerda L, Coelho Jr A, Gomes Garcia A, Sentelhas PC, Postali Parra JR (2019). Biology at different temperatures, thermal requirements, and ecological zoning of *Opogona sacchari* (Lepidoptera: Tineidae). *Journal of Economic Entomology* 112, 4 (2019) 1676-1682.
- Gallo D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Baptista GCDE, Berti Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C (2002). Manual de entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba, Brasil. (2002), 920.

- Garcia AG, Godoy WAC, Thomas JMG, Nagoshi RN, Meagher RL (2017) Delimiting strategic zones for the development of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn in the state of Florida. *Journal of Economic Entomology* 111, 2 (2019) 120-126. doi <https://doi.org/10.1093/jee/tox329>
- Garcia AG, Diniz AJF, Parra JRP (2019) A fuzzy-based index to identify suitable areas for host-parasitoid interactions: Case study of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* and its natural enemy *Tamarixia radiata*. *Biological Control* 135, (2019) 135-140. doi <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.001>
- Giraldo-Jaramillo M, Garcia AG, Parra JRP (2018) Biology, thermal requirements, and estimation of the number of generations of *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Economic Entomology* 111, 5 (2018) 2192-2200. doi <https://doi.org/10.1093/jee/toy162>
- Godfray HCJ (1987) The evolution of clutch size in parasitic wasps. *The American Naturalist* 129, 2 (1987) 221-233.
- Godfray HCJ (1994) *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Gutierrez AP (1996) *Applied population ecology: a supply-demand approach*. John Wiley & Sons, New York, USA. (1996), 320.
- Hannon B, Ruth M (2001) *Dynamic modeling*. Springer, New York, USA. (2001), 409.
- Harris CR, Millman KJ, Van der Walt SJ. et al (2020). Array programming with NumPy. *Nature* 585, (2020) 357-362.
- Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013) Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology* 58 (2013), 333-351.
- Hassel MP (2000) Host-parasitoid population dynamics. *Journal of Animal Ecology* 69, 4 (2000), 543-566. doi <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00445.x>
- Hensley SD, Hammond AM (1968) Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology* 61, 6 (1968), 1742-1743.
- Holling CS (1959) Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *The Canadian Entomologist* 91, 7 (1959) 385-398. doi <https://doi.org/10.4039/Ent91385-7>
- Huffaker CB, Messenger PS, De Bach P (1971) The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. *Biological Control*, Academic Press, New York. (1971), 617-659.
- Hunter JD (2007) Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering* 9, 3 (2007) 90-95.
- Iwantsch GF, Vinson SB (1980) Host suitability in insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 25, 1 (1980) 397-419.
- Juliano SA (2001) Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. *Design and Analysis of Ecological Experiments* (eds S.M. Scheiner & J. Gurevitch), pp. 178-196. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Litholdo MG, Cantori LV, Arroyo BM, Pinto AS, Arruda AO, Oliveira PAZG (2013) Parasitismo de lagartas de *Diatraea saccharalis* por *Cotesia flavipes* em bordadura de canavial. Simpósio de Controle Biológico. Embrapa Agropecuária Oeste/ UFMS, Dourados.

- Louqhrin JH, Manukian A, Heath RR, Turlings TCJ, Tumlinson JH (1994) Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A.* 91:11836-11840.
- Lucchetta JT (2016) Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2016. 57p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Macedo N (1978) New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptative potential in the Southern Brazil. *Entomology Newsletter* 4, (1978), 11-12.
- Macedo N, Botelho PSM (1988) Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794) (Lepidoptera: Pyralidae). *Brasil Açucareiro* 160, 1 (1988), 2-14.
- Magal C, Cosner C, Ruan S, Casas J (2008) Control of invasive hosts by generalist parasitoids. *Mathematical Medicine and Biology: a journal of the IMA* 25, 1 (2008), 1-20.
- Mahmoud AMA, De Luna-Santillana EJ, Guo X, Rodrigues-Perez MA (2012) Parasitism by *Cotesia flavipes* alters the haemocyte population and phenoloxidase activity of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. *The Canadian Entomologist* 144, 4 (2012), 599-608. doi <https://doi.org/10.4039/tce.2012.41>
- May RM, Hassell MP (1981) The dynamics of multiparasitoid-hot interactions. *The American Naturalist* 117, 3 (1981) 234- 261. doi <https://doi.org/10.1086/283704>
- McCall PJ, Turlings TCJ, Louqhrin JH, Proveaux AT, Tumlinson JH (1994) Herbivore-induced volatile emission from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings. *Journal of Chemical Ecology* 20, 12 (1994), 3039-3050.
- Miranda M, Sivinski J, Rull J, Cicero L, Aluja M (2015) Niche breadth and interspecific competition between *Doryctobracon crawfordi* and *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), native and introduced parasitoids of *Anastrepha* spp. fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 82 (2015), 86-95.
- Mohamad R, Wajnberg E, Monge JP (2015) The effect of direct interspecific competition on patch exploitation strategies in parasitoid wasps. *Oecologia* 177, 1 (2015), 305-315.
- Molnár S, López I, Gámez M, Garay J (2016) A two-agent model applied to the biological control of the sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) by the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the larvae parasitoid *Cotesia flavipes*, *Biosystems* 141, (2016) 45-54. doi <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2016.02.002>
- Moral RA, Hinde J, Demétrio CGB (2017) Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R: The hnp Package. *Journal of Statistical Software* 81, 10 (2017), 1-23. doi: 10.18637/jss.v081.i10
- Ngi-Song AJ, Overholt WA, Njagi PGN, Dicke M, Ayerter JN, Lwande W (1996) Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on graminiae." *Journal of Chemical Ecology* 22, 2 (1996), 307-323.
- Oliveira FG (2013) Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). 2013. 54p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Oliveira HN, Simonato J, Glaeser DF, Pereira FF (2016) Parasitism of *Helicoverpa armigera* pupae (Lepidoptera: Noctuidae) by *Tetrastichus howardi* and *Trichospinus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae). *Ciências Agrárias* 37, 1 (2016), 111-115. doi <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n1p111>

- Parra JRP (2019) Controle Biológico na Agricultura Brasileira. *Entomological Communication* 1, (2019), 2675-1305.
- Parra JRP, Botelho PSM, Pinto ADS (2010) Controle biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade, pp (2010) 441-450.
- Pedersen BS, Mills NJ (2004) Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. *Journal of Applied Ecology* 41, 5 (2004), 973-984. doi <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00953.x>
- Pereira FF, Kassab SO, Calado VRF, Vargas EL, Oliveira HN, Zanuncio JC (2015) Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist* 98, 1 (2015), 377-380. <https://doi.org/10.1653/024.098.0164>
- Pritchard DW (2014) frair: Functional response analysis in R. R package version 0.4. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=frair>
- Piñeyro NG, Pereira FF, Borges FLG, Rossoni C, Silva AS, Kassab SO (2016) Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología? *Acta Biológica Colombiana* 21, 1 (2016), 189-193. doi <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>
- Pinto AS (2021) O caso de *Cotesia flavipes* na cana-de-açúcar no Brasil. Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. FEALQ, Piracicaba. (2021), 157– 202.
- Potting RPJ (1996) Hunting for hiding hosts: the behavioral ecology of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. 2016. 120p. These (pHD). Wageningen University & Research.
- Potting RPJ, Overholt WA, Danso FO, Tasaku K (1997) Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 10, 1 (1997), 13. <https://doi.org/10.1007/BF02765472>
- R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>
- Reigada C, Aguiar MAM, Fernandes LD (2014) Demographic Processes in Spatially Structured Host-Parasitoid Systems. *Ecological Modelling Applied to Entomology*. Springer, Switzerland. (2014), 11-38.
- Robitaille T (2019). APLpy v2. 0: The Astronomical Plotting Library in Python. *Zenodo* (2019).
- Robitaille T, Bressert Eli (2012). APLpy: astronomical plotting library in Python. *Astrophysics Source Code Library*. (2019) ascl-1208.
- Rochat J, Gutierrez AP (2001) Weather-mediated regulation of Olive scale by two parasitoids. *Journal of Animal Ecology* 70, 3 (2001) 476-490.
- Rodero DP (2016) Modelagem matemática da interação populacional entre *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). 2016. 98p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, Araras.
- Rodrigues A, Pereira FF, Barbosa PR et al. (2021) Parasitism Behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on Larvae and Pupae of Sugarcane Borers. *Journal of Insect Behavior* 34 (2021), 71–81. doi <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>
- Rogers D. Random search and insect population models. *Journal of Animal Ecology* 41, (1972), 369-383.

- Röse USR, Lewis JW, Tumlinson JH (1998) Specificity of systemically released cotton volatiles as attractants for specialist and generalist parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology* 24, 2 (1998), 303-319.
- Silva CCM, Marques EJ, Oliveira JV, Valente ECN (2012) Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Scientiarum Agronomy Maringá* 34, (2012) 23-27.
- Silveira Neto S, Carvalho RPL, Paranhos SB (1968) Flutuação populacional de pragas de cana-de-açúcar em Piracicaba. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Entomologia, SEB, Piracicaba.
- Smerage GH (1992) Representation of development in insect population models. Basics of Insect Modeling. St. Joseph: *American Society of Agricultural Engineers*. (1992), 107-134.
- Schowalter TD (2006) Insect ecology: an ecosystem approach. Elsevier, San Diego. (2006), 572.
- Solomon JE (1949) The natural control of animal populations. *Journal of Animal Ecology* 8, (1949) 1-35.
- Stilmant D, Van Bellinghen C, Hance T, Boivin G (2008). Host specialization in habitat specialists and generalists. *Oecologia* 156, 4 (2008) 905-912.
- Storer NP, Babcock JM, Schlenz M, Meade T, Thompson GD, Bing JW, Huckaba RM (2010) Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *Journal of economic entomology* 103, 4 (2010) 1031-1038. doi <https://doi.org/10.1603/EC10040>
- Strickler K (1979) Specialization and foraging efficiency of solitary bees. *Ecology* 60, 5 (1979) 998-1009.
- Takasu K, Overholt WA (1996) Oviposition behavior of *Cotesia flavipes* and *Gornozus indicus*, larval parasitoids of the lepidopteran stemborer *Chilo partellus*. *Jpn. Journal of Applied Entomology and Zoology*. 40: 308–310.
- Trexler JC, McCulloch CE, Travis J (1988) How can functional response best be determined? *Oecologia*, 76 (1988) 206-214.
- Van Lenteren JC, Bolckmans K, Kohl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A (2018) Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63, 1 (2018) 39-59
- Van Rossum G (2020). The Python Library Reference, release 3.8.2. Python Software Foundation.
- Van Rossum G, Drake FL (2009). Python 3 Reference Manual. Scotts Valley, CA
- Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL (2011) Record o *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea sp.* (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica* 26, 3 (2011), 143-146.
- Vet LEM, Dicke M (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology* 37, (1992) 141–172.
- Vinson SB (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology* 21, 1 (1976), 109–133.
- Vinson SB (1984) How parasitoids locate their hosts: A case of insect espionage. *Insect Communication*. Academic Press, London. (1984), 325–348.
- Vinson SB (1985) The behavior of parasitoids. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, NY. (1985), 417 – 469.
- Vinson SB (1997) The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biological control* 11, 2 (1998): 79-96.

- Volpe HXL, De Bortoli SA, Barbosa, JC, Vacari AM, Veiga ACP, Viel SR (2011) Metodologia para avaliar liberações dirigidas de *Cotesia flavipes*. VII Congresso Brasileiro de Agroecologia, Fortaleza, Ceará.
- Walter JMM (1976) Estudo da população da *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) em quatro regiões canavieiras do estado de São Paulo. 1976. 124 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Wang XY, Jennings DE, Jian J, Duan JJ (2015) Trade-offs in parasitism efficiency and brood size mediate parasitoid coexistence, with implications for biological control of the invasive emerald ash borer. *Journal of Applied Ecology* 52, 5 (2015), 1255–1263. doi <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12487>
- Wiedenmann RN, Smith JW, Darnell PO (1992) Laboratory rearing and Biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology* 21, 5 (1992), 1160-1167. doi <https://doi.org/10.1093/ee/21.5.1160>
- Wiedenmann RN, Smith JW (1993) Functional response of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at low densities of the host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology* 22, 4 (1993), 849-858. doi <https://doi.org/10.1093/ee/22.4.849>
- Yu SJ, Nguyen SN, Abo-Elghar GE (2003) Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 77, 1 (2003) 1-11. doi [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00079-8](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00079-8)
- Zepeda-Paulo F, Ortiz-Martinez SA, Figuero CC, Lavandero B (2013) Adaptive evolution of a generalist parasitoid: implications for the effectiveness of biological control agents. *Evolutionary Applications* 6, 6 (2013) 1-17. doi <https://doi.org/10.1111/eva.12081>
- Zheng YH, Zheng LX, Liao YL, Wu WJ (2016) Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* Olliff (Hymenoptera: Eulophidae). *Microscopy Research and Technique* 76, 1 (2016), 374-384. doi <https://doi.org/10.1002/jemt.22134>
- Zhong L, Liao Y, Zhang Y, Wu W (2016) Ovarion development and oogenesis in *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Environmental Entomology* 38, 1 (2016), 154-158.

5. CONCLUSÕES GERAIS

- *Tetrastichus howardi* é capaz de encontrar e atacar pupas dentro do colmo de cana-de-açúcar, com taxa de ataque de 45%;
- A associação de *T. howardi* e *C. flavipes* no controle de lagartas de *D. saccharalis* não afeta de forma negativa a performance do parasitoide larval, sendo este último dominante e apresentando menor tempo para o desenvolvimento de prole;
- A associação de *T. howardi* e *C. flavipes* no controle de lagartas e pupas de *D. saccharalis* é responsável por 81% da mortalidade do inseto-praga;
- *Cotesia flavipes* e *T. howardi* apresentam resposta funcional do tipo II sobre lagartas e pupas de *D. saccharalis*, respectivamente, com maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio exibidos pelo parasitoide especialista, *C. flavipes*;
- Os cenários simulados por modelagem matemática corroboram com os resultados encontrados no teste com brocas inoculadas em cana-de-açúcar realizados em laboratório. Estes indicam que a associação de *C. flavipes* e *T. howardi* garante menor ocupação de *D. saccharalis* na paisagem, assim como mantém sua população abaixo do nível de controle por um período mais longo do que quando realizada liberação apenas *C. flavipes*.