

INTERAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS E LUFENUROM PARA O CONTROLE DE *Diatraea*

flavipennella (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

ANA PAULA PEREIRA DA FONSECA

(Sob Orientação do Professor Edmilson Jacinto Marques)

RESUMO

A broca, *Diatraea flavipennella* (Box), junto a *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e as cigarrinhas são pragas chave da cultura no nordeste do Brasil. O controle de *D. saccharalis* é feito tradicionalmente empregando o parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) e o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae), enquanto o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok é amplamente usado para o controle de cigarrinhas. Este trabalho avaliou a interação desses agentes de controle e do inseticida lufenurom com enfoque no controle de *D. flavipennella*. As características biológicas de *T. galloi* parasitando *D. flavipennella* foram similares aquelas obtidas em *D. saccharalis*. A concentração 1×10^7 conídios mL^{-1} do isolado URPE-11 de *M. anisopliae* reduziu a capacidade de parasitismo de *T. galloi*. Contudo, não afetou negativamente a viabilidade, longevidade, período ovo-adulto, números de indivíduos/ovo e razão sexual. A concentração 2×10^5 conídios mL^{-1} foi compatível sem ocasionar efeito negativo nas características biológicas de *T. galloi*. As concentrações letais ($CL_{S_{20, 50 \text{ e } 90}}$) determinadas do lufenurom foram 5,77; 18,22; 104,22 mg/L e 7,47; 16,56; 55,65 mg/L, respectivamente, para lagartas neonatas e com 10 dias de idade de *D. flavipennella*. O efeito subletal do tratamento de lagartas com as CL_{20} e CL_{50} resultou em prolongamento da fase larval para lagartas de 10 dias de idade tratadas com a CL_{50} , bem como a

viabilidade de ovos das fêmeas oriundas de lagartas neonatas tratadas com as CL_{20} e CL_{50} . O desenvolvimento do parasitoide *C. flavipes* sobre lagartas tratadas com as CL_{20} e CL_{50} do lufenurom mostrou aumento no período ovo-adulto; porém, sem efeito no peso de pupas, taxa de emergência, número de adultos por massa, razão sexual e a longevidade de fêmeas de *C. flavipes*.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia, parasitoide, controle biológico, entomopatígeno, inseticida regulador de crescimento.

INTERACTION OF NATURAL ENEMIES AND LUFENURON FOR *Diatraea flavipennella*

(BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) CONTROL

by

ANA PAULA PEREIRA DA FONSECA

(Under the Direction of Edmilson Jacinto Marques)

ABSTRACT

The borer, *Diatraea flavipennella* (Box) along with *Diatraea saccharalis* (Fabr.) and spittlebugs are key pest species of the sugarcane in the northeastern of Brazil. Biological control is the main tool for *D. saccharalis* control using the larval parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) and the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi; while the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorkok is widely used against sugarcane spittlebugs. Beside these natural enemies, the insecticide lufenuron has been recommended to control sugarcane borers. Thus, this study evaluated the interaction of these biocontrol agents and the insecticide lufenuron with emphasis on *D. flavipennella* control. The biological characteristics of *T. galloi* were similar between the two sugarcane borers. The interaction of the egg parasitoid-fungus showed that the concentration 1×10^7 conidia mL⁻¹ of *M. anisopliae* reduced the parasitism rate, but without negative effects on parasitoid longevity, egg-adult duration, and number of parasitoids emerged per host egg parasitized. The concentration 2×10^5 conidia mL⁻¹ was compatible without adverse effect. Lethal concentrations (LC₂₀, 50 and 90) of lufenuron calculated were 5.77, 18.22, and 104.22 mg a.i./L to neonate larvae and 7.47, 16.56, and 55.65 mg a.i./L to 10-days old *D. flavipennella*, respectively. The sublethal effects of lufenuron on treated *D. flavipennella* larvae with LC₂₀ and LC₅₀ resulted in delayed development for 10-days old larvae treated with the LC₅₀; while reduction on egg

viability was observed for adults from surviving larvae of both ages treated with both sublethal concentrations. Furthermore, the development of the larval parasitoid *C. flavipes* parasitizing lufenuron-treated LC₅₀ and LC₂₀ larvae of *D. flavipennella* exhibited delayed egg-adult duration; and no effect on parasitism viability, number of adults produced, and female longevity. Therefore, the parasitism of *D. flavipennella* eggs by *T. galloi* and larvae by *C. flavipes* showed feasibility when they survived from fungus and lufenuron applications.

KEYWORDS: Biology, parasitoid, biological control, entomopathogen, insecticide growth regulator.

INTERAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS E LUFENUROM PARA O CONTROLE DE *Diatraea*
flavipennella (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

ANA PAULA PEREIRA DA FONSECA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2014

INTERAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS E LUFENUROM PARA O CONTROLE DE *Diatraea*
flavipennella (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

ANA PAULA PEREIRA DA FONSECA

Comitê de Orientação:

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Jorge Braz Torres – UFRPE

Herbert Álvaro Abreu Siqueira – UFRPE

INTERAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS E LUFENUROM PARA O CONTROLE DE *Diatraea*
flavipennella (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

ANA PAULA PEREIRA DA FONSECA

Orientador: _____
Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Examinadores: _____
Jorge Braz Torres – UFRPE

Herbert Álvaro Abreu Siqueira – UFRPE

Laurici Maria Pires dos Santos – IFPE

Ruth Rufino do Nascimento – UFAL

DEDICATÓRIA

À minha querida e amada mãe Adeilda Ventura da Fonseca, por ter me concedido a vida, pelo seu amor incondicional, carinho e dedicação; ao meu marido Allan Oliveira, pelo amor, carinho, compreensão e cuidado; aos meus irmãos Fernanda Karina, Libel Pereira e Fredi Pereira; e aos meus queridos sobrinhos Larissa Karla, Nicholas, Ana Luísa, Júlia, Yuri e Heitor que tornam minha vida muito mais feliz.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter sido meu guia nessa jornada e por sempre me guiar no caminho do bem;

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À minha família, pelo carinho e apoio em todos os momentos da minha vida;

Ao professor Edmilson Jacinto Marques, pela amizade, confiança, orientação e ajuda nos trabalhos desenvolvidos.

Ao professor José Vargas de Oliveira, pela grande amizade, compreensão, solidariedade e momentos inesquecíveis de descontração.

Aos professores Jorge Braz Torres e Herbert Álvaro Abreu Siqueira, pela coorientação e sugestões.

Aos amigos do Laboratório de Patologia, Eliana, Anderson, Rebeqa, Lucas e Flávia, pela amizade e ajuda nos experimentos.

À Cinthia e à Lili, que contribuíram efetivamente para a realização desta Tese, pela amizade verdadeira e por momentos de descontração e alegria inesquecíveis.

Aos amigos de turma, em especial à Nicolle, pela amizade sincera e carinho.

Aos amigos Auridete Maria, Cynara, Mauricéia, Flávia Born, Mário, Maurício, Clara, Mariana e Felipe.

A Douglas, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos demais professores da área de Entomologia Agrícola do curso de Pós-Graduação.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| AGRADECIMENTOS | ix |
| CAPÍTULOS | |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| LITERATURA CITADA..... | 9 |
| 2 BIOLOGIA DE <i>Trichogramma galloi</i> ZUCCHI (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE <i>Diatraea flavipennella</i> (BOX) E <i>Diatraea saccharalis</i> (FABR.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E SUA INTERAÇÃO COM O FUNGO <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOROK.... | 13 |
| RESUMO | 14 |
| ABSTRACT | 15 |
| INTRODUÇÃO | 16 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 18 |
| RESULTADOS..... | 22 |
| DISCUSSÃO..... | 24 |
| AGRADECIMENTOS..... | 28 |
| LITERATURA CITADA..... | 28 |
| 3 SUSCETIBILIDADE DE <i>Diatraea flavipennella</i> (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AO LUFENUROM E EFEITO NO PARASITOIDE LARVAL <i>Cotesia flavipes</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)..... | 36 |
| RESUMO | 37 |

| | |
|--------------------------|----|
| ABSTRACT | 38 |
| INTRODUÇÃO | 39 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 41 |
| RESULTADOS..... | 45 |
| DISCUSSÃO..... | 48 |
| AGRADECIMENTOS | 53 |
| LITERATURA CITADA..... | 53 |

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), seguido da Índia, China, Tailândia, Paquistão, México, Filipinas, Austrália, EUA e Argentina. Atualmente a cultura da cana-de-açúcar ocupa aproximadamente sete milhões de hectares ou cerca de 2% de toda a sua terra agricultável (FAOSTAT 2014). Entre as regiões do Brasil que cultivam cana-de-açúcar, destacam-se o Sudeste, Centro-Oeste, Sul e Nordeste. A cultura da cana-de-açúcar representa grande importância socioeconômica, já que sua matéria-prima é utilizada para a produção de açúcar, álcool e aguardente, além de representar uma fonte de grande geração de empregos e renda no meio rural (Freitas *et al.* 2006).

Segundo levantamentos da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2013/14 está estimada em 8.810,79 mil hectares. O maior produtor é o Estado de São Paulo com 4.552.040 mil hectares, o que corresponde a 51,66% de toda a área com cana-de-açúcar do País. Em segundo lugar, está Goiás, com 818.390 mil hectares (9,29%), em seguida, Minas Gerais com 779.830 mil hectares (8,85%), Paraná com 586.400 mil hectares (6,66%), Mato Grosso do Sul com 624.110 mil hectares (7,08%), Alagoas com 442,59 mil hectares (5,02%) e Pernambuco com 286,3 mil hectares (3,25%). Os demais Estados produtores representam menos de 3%. A previsão do total de cana-de-açúcar para ser moída é de 659,85 milhões de toneladas, com aumento de 12,0% em relação à safra 2012/13, que foi de 588,92 milhões de toneladas, um acréscimo de 70,93 milhões de toneladas em relação à safra anterior. Desse montante, 304,24 milhões de

toneladas serão destinadas para a produção de açúcar. Para a produção de etanol são estimados 27,66 bilhões de litros (CONAB 2013).

Entre os principais fatores que limitam a produtividade da cana-de-açúcar, destaca-se a ocorrência de insetos-praga, entre eles, as brocas do gênero *Diatraea*, a broca gigante *Telchin licus licus* (Drury), a cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* (Stål) e a cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Stål), que causam perdas em todas as regiões canavieiras do País (Lima & Marques 1985, Mendonça 1996).

Cerca de vinte e uma espécies do gênero *Diatraea* ocorrem na cana-de-açúcar em toda a América, mas somente algumas apresentam importância econômica para a cultura (Mendonça 1996). No Brasil, 16 espécies desse gênero foram registradas entre os anos de 1931 a 1959, das quais, somente quatro foram encontradas em cana-de-açúcar: *Diatraea albicrinella* (Box), *D. impersonatella* (Walk.), *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box). Das quatro espécies citadas, somente *D. saccharalis* e *D. flavipennella* predominam na cultura da cana-de-açúcar (Guagliumi 1972/73, Mendonça 1996).

A espécie *D. saccharalis* tem ocorrência generalizada em todo o país e *D. flavipennella* em alguns estados brasileiros como Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Norte e Nordeste do país (Guagliumi 1972/73, Mendonça 1996, Freitas *et al.* 2006, Pinto *et al.* 2006, Garcia *et al.* 2009).

No período de 1973 a 1986, levantamentos populacionais de espécies do gênero *Diatraea* mostraram que, apesar da *D. saccharalis* predominar no Estado de Pernambuco, estava ocorrendo um aumento gradativo da incidência de *D. flavipennella* em várias regiões produtoras de cana-de-açúcar deste Estado (PLANALSUCAR/CONOR 1973-1986).

No Estado de Alagoas, entre as décadas de 70 e 80, havia dominância específica de *D. saccharalis* (70,12%) sobre *D. flavipennella* (29,88%) (Risco *et al.* 1975). No entanto, em 1985,

trabalhos conduzidos pelo Setor de Entomologia do PLANALSUCAR revelaram uma inversão no status destas duas pragas: a espécie *D. flavipennella* começava a surgir em várias localidades do Estado como espécie dominante, com até 89,80%, em oposição à espécie *D. saccharalis*, com 10,20%. Um estudo mais recente realizado nos anos de 2003 e 2004, também mostrou essa inversão populacional no Estado de Alagoas, verificando-se predominância de *D. flavipennella* de 97% em relação à *D. saccharalis* (Freitas *et al.* 2006).

Em levantamentos populacionais mais recentes de espécies de *Diatraea* realizados em Pernambuco entre os anos de 2011 e 2012, constatou-se que a espécie *D. flavipennella* apresenta uma predominância superior a 99% em relação à *D. saccharalis* (Silva 2013).

Os adultos de *D. saccharalis* e *D. flavipennella* apresentam morfologia semelhante. Os machos de ambas as espécies são um pouco menores que as fêmeas, que podem depositar, em geral, no limbo foliar, cerca de 430 ovos dispostos de forma imbricada. Quando os embriões estão desenvolvidos, os ovos adquirem forma elíptica e coloração amarelada, tornando-se escuros, quando são visíveis as cápsulas cefálicas das lagartas no seu interior (Botelho 2007, Freitas *et al.* 2007). A diferença entre os adultos dessas espécies está basicamente na coloração e nas pontuações das asas: as asas anteriores de *D. saccharalis* formam linhas diagonais em forma de v duplo invertido, além disso, apresentam coloração amarelo-palha; em *D. flavipennella*, as asas são branco-leitosas estriadas, apresentando uma pontuação negra central em cada asa anterior (Mendonça 1996).

As lagartas, durante o primeiro e segundo ínstar, se alimentam do parênquima foliar, posteriormente, penetram na parte mais mole do colmo e o perfuram, abrindo galerias de baixo para cima, concluindo a fase larval e pupal dentro do colmo. O adulto sai pelo orifício feito anteriormente pela lagarta (Gallo *et al.* 2002, Mendonça 1996).

As lagartas de *D. saccharalis* apresentam coloração amarelada, com pontuações em todo o corpo de cor marrom, que parecem formar duas linhas ao longo do dorso, sua cápsula cefálica é geralmente preta ou marrom escura (Mendonça 1996).

As lagartas de *D. flavipennella* também são amareladas, com o corpo coberto por pontuações ou manchas castanhas, dispostas de forma desuniforme, sem dar a impressão de formação de linhas no dorso. A cápsula cefálica é de cor amarela ou marrom amarelada (Mendonça 1996, Freitas *et al.* 2007). Segundo Mendonça (1996), ambas as espécies passam por seis instares larvais. No entanto foi verificado por Freitas *et al.* (2007) que lagartas de *D. flavipennella* apresentam sete instares larvais quando alimentadas com dieta artificial.

O seu ciclo biológico, em laboratório tem duração média de 65 dias: o período de incubação dos ovos compreende 8,35 dias; o período larval, 34,87 dias; pupal, 12,75; e adulto, 9,17 dias. Neste caso, os ovos, as pupas e os adultos foram mantidos a uma temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h, e as larvas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotoperíodo de 12 h (Freitas *et al.* 2007).

As lagartas provocam injúrias diretas pela alimentação e injúrias indiretas na cultura, atacando canas jovens de até quatro meses de idade, provocando a morte da gema apical, conhecida como “coração morto” e, conseqüentemente, a morte da planta. No entanto, são as injúrias indiretas que mais causam prejuízos agroindustriais, que se caracterizam pela penetração dos fungos *Colletotrichum falcatum* (Went) e *Fusarium moniliforme* (Sheldon) nos orifícios e rachaduras deixadas pelas lagartas no colmo da planta, desenvolvendo a doença conhecida como podridão vermelha do colmo. A doença causa à inversão da sacarose, redução da pureza do caldo e contaminação no processo de fermentação alcoólica, com conseqüente queda do rendimento industrial (Mendonça, 1996, Gallo *et al.* 2002, Pinto *et al.* 2006).

No manejo integrado das brocas da cana-de-açúcar, o controle biológico é o mais utilizado, com multiplicação em laboratório de parasitoides para posteriormente serem liberados em campo. O parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) é o mais utilizado para o controle de *D. saccharalis*. Foi introduzido no Brasil, através do CIBC em Trinidad, por A. F. Mendonça, no ano de 1974, para controlar *D. saccharalis* no Estado de Alagoas, sendo um caso de sucesso de controle confirmado por diversos pesquisadores (Mendonça 1996, Botelho *et al.* 1999, Botelho & Macedo 2002). Trata-se de um endoparasitoide, gregário, holometabólico, que apresenta um ciclo de vida entre 16 a 25 dias, dependendo da temperatura e idade do hospedeiro. Pode apresentar um período de parasitismo de 3-6 dias, o período de pré-oviposição de 24h, sendo o período embrionário até a formação da pupa variando de 11-18 dias (Bennet 1977, Garcia *et al.* 2009).

Ao encontrar o hospedeiro, *C. flavipes*, rapidamente, introduz o ovipositor e deposita, simultaneamente, inúmeros ovos no interior da lagarta. Dos ovos depositados, eclodem larvas que irão se alimentar do conteúdo interno do hospedeiro, permanecendo então no interior da lagarta até o último estágio larval. Posteriormente, saem do corpo do hospedeiro e tecem um casulo de seda onde passam o estágio de pupa, que é caracterizado por uma massa branca de onde os adultos emergem (Pinto *et al.* 2006).

O controle biológico de *D. saccharalis* com *C. flavipes* é feito por meio de liberações inundativas, que podem ser feitas uma vez ou sempre que a população da praga atingir o mínimo de 800 a 1000 lagartas/ha (Cruz 2007). No entanto, o fator-chave de crescimento da população da broca da cana é a fase de ovo (Botelho 1985). Assim, o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* (Zucchi) vem sendo utilizado em programas de manejo da broca comum *D. saccharalis*, (Botelho *et al.* 1999, Parra & Zucchi 2004).

O controle biológico feito por liberações inundativas desse parasitoide tem como maior vantagem a redução da população da praga antes mesmo que ocorra dano à cultura (Voegelé

1988). Sua multiplicação tem sido feita em hospedeiros alternativos como *Anagasta kuehniella* (Zeller) e *Sitotroga cerealella* (Olivier), considerados os mais adequados para o desenvolvimento de espécies de *Trichogramma* (Stein & Parra 1987). Espécies do gênero *Trichogramma* são holometabólicas, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Seu ciclo biológico completo é variável e depende principalmente da temperatura e do fotoperíodo (Cônsoi & Parra 1996, Pratisoli & Parra 2000).

A associação do parasitoide *T. galloi* e *C. flavipes* é capaz de reduzir mais de 60 % da intensidade de infestação da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis* quando utilizou-se uma liberação de *C. flavipes* com três liberações sucessivas de *T. galloi* (Botelho *et al.* 1999).

Os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., são importantes no manejo integrado de pragas da cana-de-açúcar (Alves 1998, Marques *et al.* 2008). O isolado IBCB66 de *B. bassiana* mostrou-se patogênico à *D. saccharalis* em todas as concentrações testadas em condições de laboratório (Wenzel *et al.* 2006). Isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram testados sobre ovos e lagartas de *D. flavipennella* como alternativa de controle da praga e foram patogênicos, sendo que *M. anisopliae* foi mais patogênico que *B. bassiana*, com destaque para o isolado URPE-11 de *M. anisopliae*, que proporcionou mortalidade de 100% para ovos de 2 a 3 dias de idade (Valente 2011).

O controle químico das brocas da cana-de-açúcar pode ser empregado quando houver cerca de 3% de canas com lagartas recém eclodidas no cartucho, mas é oneroso e inviável, visto que as lagartas de *D. saccharalis* e *D. flavipennella* passam a maior parte da fase larval dentro do colmo da cana. Então, para que os inseticidas tenham eficiência, eles devem ser utilizados antes que a lagarta penetre no colmo (Cruz 2007, Gallo *et al.* 2002).

Entre os inseticidas registrados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, são recomendados inseticidas de

diferentes princípios ativos (MAPA – Agrofit 2013). Entre eles, pode-se citar o lufenurum, inseticida regulador de crescimento de insetos – IGRs, que interfere no processo de desenvolvimento do inseto durante sua metamorfose. Sendo assim, sua ação é bem mais lenta comparada aos grupos de inseticidas sintéticos, cujos efeitos letais e subletais, em geral, são muito nocivos aos insetos benéficos (Ruberson *et al.* 1998).

Os IGRs são derivados das benzoilfenillureias, diacilhidrazinas, thiodiazinas e thiazina. Esse grupo de inseticidas é considerado de baixa toxicidade a mamíferos, é classificado segundo o seu modo de ação, atuando como juvenoides, antijjuvenoides, agonistas de ecdisteroides ou inibidores de síntese de quitina. Os inseticidas inibidores de síntese de quitina atuam impedindo a formação da quitina, que é um polissacarídeo essencial da cutícula dos insetos, ou podem interferir na deposição da cutícula no momento da ecdise do inseto (Silva & Mendes 2002).

Uma das maiores preocupações do manejo integrado das pragas da cana-de-açúcar é a compatibilidade entre inseticidas, entomopatógenos e parasitoides, em função da seletividade aos inimigos naturais (Parra *et al.* 2002).

Apesar do fungo entomopatógeno *M. anisopliae* ter grande potencial no manejo integrado de *D. flavipennella* (Valente 2011), são muito importantes pesquisas que possibilitem o melhor entendimento das interações resultantes entre fungos e parasitoides, de maneira isolada ou em associação, visando à viabilização do uso desses inimigos naturais no manejo de *D. flavipennella*. Estudos diversos sobre seletividade de entomopatógenos à parasitoide têm mostrado a possibilidade da coexistência desses organismos no mesmo ambiente (Potrich *et al.* 2009, Polanczyk *et al.* 2009, Broglio-Micheletti *et al.* 2006).

Segundo Polanczyk *et al.* (2009), formulações comerciais à base de *B. bassiana* e *M. anisopliae* não interferiram no desenvolvimento de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, quando pulverizadas em ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith). No entanto, Potrich *et al.* (2009)

observaram que a porcentagem de emergência de *Trichogramma pretiosum* (Riley) foi afetada quando *M. anisopliae* foi pulverizado antes do seu parasitismo em ovos de *A. kueniella*. Porém o fungo não afetou negativamente a longevidade de fêmeas do parasitoide. A taxa de parasitismo de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis*, também não foi afetada negativamente pelos isolados IPA211 e IPA139E de *M. anisopliae*, porém, esses isolados causaram redução significativa na taxa de emergência do parasitoide (Broglia-Micheletti *et al.* 2006).

A exposição direta dos inimigos naturais a inseticidas pode ocasionar uma série de efeitos subletais na fisiologia e no desenvolvimento do parasitoide, e, dependendo da dose/concentração, pode ocasionar mortalidade, redução na longevidade, fecundidade e fertilidade do parasitoide, entre outros (Desneux *et al.* 2007). O inseticida regulador de crescimento triflumurom não provocou toxicidade em parasitoides adultos de *C. flavipes*. No entanto, a longevidade desses agentes de controle biológico foi afetada negativamente pelo inseticida (Mena 2010).

Para que a integração dos métodos de controle químico e biológico de *D. flavipennella* seja feita de maneira harmônica, são necessários estudos relacionados aos prováveis efeitos de inseticidas no desenvolvimento de *D. flavipennella* e do seu parasitoide *C. flavipes*, como também aos efeitos de *M. anisopliae* sobre a biologia de *T. galloi* no controle da broca da cana-de-açúcar. Além disso, o conhecimento da biologia de *T. galloi* nos hospedeiros *D. flavipennella* e *D. saccharalis* fornecerá informações importantes para sua utilização no Manejo Integrado das brocas da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil.

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram avaliar as características biológicas de *T. galloi* nos hospedeiros *D. flavipennella* e *D. saccharalis*, estudar o controle de *D. flavipennella* pela associação do parasitoide *T. galloi* com o fungo *M. anisopliae*, e avaliar o efeito direto do inseticida lufenuron no desenvolvimento de *D. flavipennella* e o efeito indireto sobre o parasitoide *C. flavipes*.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Bennet, F.D. 1977.** A comparison of the reproductive strategies and certain other biological characteristics of *Apanteles* spp. and the tachinid parasites of *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Anais da ISSCT 1: 523-527.
- Botelho, P.S.M. 1985.** Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.,Pyralidae). Tese de Doutorado, ESALQ, Piracicaba, 110p.
- Botelho, P.S.M., J.R.P. Parra, J.F.C. Neto & C.P.B. Oliveira. 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. An. Soc. Entomol. Brasil 28: 491-496.
- Botelho, P.S.M. & N. Macedo. 2002.** *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, p. 477-494. In J.R.P Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo, Manole, 635p.
- Botelho, P.S.M. 2007.** Controle biológico e controle químico de pragas em cana-de-açúcar. Workshop tecnológico sobre pragas da cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 76p.
- Broglio-Micheletti, S.M.F., A.J.N. Santos & J.L. Pereira-Barros. 2006.** Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Agrotec. 30: 1051-1055.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2013.** Levantamento de safra da cana-de-açúcar. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2>. Acesso em: 02/12/2013.
- Cônsoli, F.L. & J.R.P. Parra. 1996.** Biology of *Trichogramma galloi* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. Ann. Entomol. Soc. Am. 89: 828-834.
- Cruz, C. 2007.** A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 12p. (Comunicado Técnico 90).
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.
- FAOSTAT. 2014.** Sugarcane production. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em 02/01/2014.

- Freitas, M.R.T., A.P.P. Fonseca, E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.L. Mendonça, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2006.** The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the State of Alagoas, Brazil. *Fl. Entomol.* 89: 539-540.
- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R. R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. *Fl. Entomol.* 90: 309-313.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Garcia, J.F., P.S.M. Botelho & L.P.M. Macedo. 2009.** Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório, p. 200-219. In V.H.P. Bueno (ed.), *Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade*. Lavras, UFLA, 430p.
- Guagliumi, P. 1972/73.** *Pragas da Cana-de-açúcar (Nordeste do Brasil)*. Instituto do Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro, 622p.
- Lima, R.O.R. & E.J. Marques. 1985.** *Controle biológico das pragas da cana-de-açúcar no Nordeste*. Boletim técnico. Piracicaba, MIC-Instituto do açúcar e do álcool, 8p.
- MAPA - Agrofit. 2013.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 28/10/2013.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A. F. Mendonça (ed.), *Pragas da cana-de-açúcar*. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Marques, E.J., R.O.R. Lima, R.M. Andrade & J.M. Araújo Jr. 2008.** Controle biológico das brocas. *Diatraea* spp, *Telchin licus licus* e cigarrinhas *Mahanarva* spp em cana-de-açúcar, p. 95-111. In M. Vezon, T.J. Paula Jr. & A. Pallini (orgs.), *Avanços no controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa, EPAMIG, 283p.
- Mena, E.F.G. 2010.** Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 61p.
- Parra, J.R.P., P. Botelho, P., B.S. Corrêa-Ferreira & J. Bento. 2002.** *Controle biológico no Brasil: parasitoides e Predadores*. São Paulo, Manole, 586p.
- Parra, J.R.P. & R.A. Zucchi. 2004.** *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research. *Neotrop. Entomol.* 33: 271-281.

- PLANALSUCAR/CONOR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar/ Coordenadoria Regional Norte). 1973-1986.** Entomologia. In Relatório anual. MIC-Instituto do açúcar e do álcool. Carpina, PE, 167p.
- Pinto, A.S., J.F. Garcia & P.S.M. Botelho. 2006.** Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, p. 65-74. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (org), Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba, FEALQ, 287p.
- Pratissoli, D. & J.R.P. Parra. 2000.** Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. Pesqu. Agropecu. Bras. 35: 1281-1288.
- Polanczyk, R.A., D. Pratissoli, L.P. Dalvi, E.D. Grecc & C.R. Franco. 2009.** Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. Agrotec. 34: 1412-1416.
- Potrich, M., L.F.A. Alves, J. Haas, E.R.L. Silva, A. Daros, V. Pitrowski & P.M.O.J. Neves. 2009.** Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 38: 822-826.
- Risco, S.H., C.E. Ferreira, A.F. Mendonça, J.M. Bradão, S.M. Sobral & H.D. Souza. 1975.** Observaciones em relacion a La distribucion populacional de *Diatraea* sp. Em La region cañavelera del Nordeste de Brasil: relatório técnico do Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar (PLANALSUCAR). Maceió, Alagoas, 85p.
- Ruberson, J.R., H. Remoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management, p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), Conservation biological control. New York, Academic Press, 396p.
- Silva, C.C.M. 2013.** Associação de *Cotesia flavipes* (Cam.) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill no controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Tese de Doutorado, UFRPE, Recife, 51p.
- Silva, J.J. & J. Mendes. 2002.** Effect of diflubenzuron on stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera, Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 97: 679-682.
- Stein, C. & J.R.P. Parra. 1987.** Aspectos biológicos de *Trichogramma* sp. em diferentes hospedeiros. An. Soc. Entomol. Brasil 6: 163-171.
- Valente, E.C.N. 2011.** Efeito de fungos entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 34p.

Voegelé, J. 1988. Reflections upon the ten years of research concerning *Trichogramma* (Hym. Trichogrammatidae), p.17-29. In International Symposium on *Trichogramma* and other egg parasites, 2. Guangzhou. Proceedings. Paris, INRA, 644p.

Wenzel, I.M., F.H.C. Giometti & J.E.M. Almeida. 2006. Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* à broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. Arq. Inst. Biol. 73: 259-261.

CAPÍTULO 2

BIOLOGIA DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)
EM OVOS DE *Diatraea flavipennella* (BOX) E *Diatraea saccharalis* (FABR.) (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) E SUA INTERAÇÃO COM O FUNGO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)

SOROK ¹

ANA PAULA P. FONSECA²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Fonseca, A.P.P. Biologia de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diatraea flavipennella* (Box) e *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) e sua interação com o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Artigo a ser submetido.

RESUMO – A biologia de *Trichogramma galloi* Zucchi parasitando *Diatraea flavipennella* (Box) e *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e sua associação com o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok parasitando *D. flavipennella* foram estudados. Este parasitoide de ovos é liberado para o controle das brocas, enquanto o fungo é empregado no controle de cigarrinhas. Os resultados mostram que o parasitismo, emergência, período de ovo-adulto, número de indivíduos emergidos por ovo, razão sexual e longevidade de fêmeas do parasitoide não diferiram entre *D. saccharalis* e *D. flavipennella*. Assim, *T. galloi* apresenta desempenho biológico semelhante parasitando ambas as brocas. No experimento de interação fungo/parasitoide foi usado o isolado URPE-11 de *M. anisopliae* nas concentrações 2×10^5 e 1×10^7 conídios mL^{-1} . O experimento constou de seis tratamentos: URPE-11, *T. galloi*, ADE + E (água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo Tween[®] 80 a 0,01%) + *T. galloi*, *T. galloi* + URPE-11, URPE-11 + *T. galloi* e testemunha (ovos pulverizados com ADE + E) com seis repetições de 30 ovos de *D. flavipennella* por repetição. O isolado URPE-11 na concentração 1×10^7 conídios mL^{-1} reduziu a capacidade de parasitismo, no entanto, não afetou a emergência, longevidade de fêmeas, período ovo-adulto, número de parasitoides por ovo e razão sexual de *T. galloi*. A concentração 2×10^5 conídios mL^{-1} não ocasionou efeitos negativos sobre o parasitoide. Assim, o uso destes inimigos naturais no manejo de pragas da cana-de-açúcar deve ser feito de forma criteriosa, visto que, *M. anisopliae*, pode reduzir o parasitismo de ovos por *T. galloi*, dependendo da concentração utilizada.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, entomopatógeno, parasitoide, interação

BIOLOGY OF *Trichogramma galloi* ZUCCHI (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

PARASITIZING *Diatraea flavipennella* (BOX) AND *Diatraea saccharalis* (FABR.)

(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EGGS AND ITS INTERACTION WITH *Metarhizium*

anisopliae (METSCH.) SOROK

ABSTRACT – Biology of *Trichogramma galloi* Zucchi parasitizing *Diatraea flavipennella* (Box) and *Diatraea saccharalis* (Fabr.) eggs and its association with *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok on *D. flavipennella* were studied. This egg parasitoid is released to control eggs of sugarcane borers while the fungus is applied to control spittlebugs. The results showed that *T. galloi* exhibited biological performance similar parasitizing eggs of both sugarcane borers. Further, the interaction of the parasitoid and the strain URPE-11 of *M. anisopliae* was investigated with eggs before and after parasitism by *T. galloi*, as follow: URPE-11 (i), *T. galloi* (ii), ADE + E (distilled and sterilized water plus surfactant Tween[®] 80 at 0.01%) + *T. galloi* (iii), *T. galloi* + URPE-11 (iv), URPE-11 + *T. galloi* (v), and the control treatment (eggs treated with ADE + E) (vi). The bioassay was run with *M. anisopliae* at 2×10^5 and 1×10^7 conidia mL⁻¹. Each treatment had six replications with 30 eggs each. The URPE-11 strain at 1×10^7 conidia mL⁻¹ reduced the parasitism rate, but without effect on *T. galloi* emergence rate, female longevity, developmental period, number of emerged parasitoids per egg and sex ratio. The concentration 2×10^5 conidia mL⁻¹ was compatible without negative effect to the parasitoid. Therefore, the use of these natural enemies aiming the control of the sugarcane pests should be carried out with judicious criterion considering that *M. anisopliae* can reduce the egg parasitism by *T. galloi*, depending on the concentration applied.

KEY WORDS: Biological control, entomopathogen, parasitoid, interaction

Introdução

A cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L. é uma das culturas mais importantes para o agronegócio brasileiro devido aos produtos obtidos pela sua industrialização, gerando riqueza para o País. A produtividade da cultura, no entanto, pode ser comprometida pela ocorrência de pragas. Entre as pragas da cana-de-açúcar, as brocas *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) destacam-se como as principais pragas desta cultura, causando redução da produtividade (Mendonça 1996, Freitas *et al.* 2007, Marques *et al.* 2008).

As brocas ocasionam injúrias diretas e indiretas à cana-de-açúcar. Galerias abertas nos colmos causadas pela alimentação das lagartas caracterizam-se como injúrias diretas, provocando consequências no desenvolvimento e tombamento da planta, enquanto as indiretas são caracterizadas pela ocorrência de patógenos oportunistas que penetram pelas galerias, com redução no rendimento industrial do caldo produzido (Mendonça 1996, Gallo *et al.* 2002, Pinto *et al.* 2006).

Os inimigos naturais são muito importantes no controle das brocas da cana-de-açúcar. Entre os parasitoides, destacam-se o endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) e o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae), os quais são multiplicados em laboratório para posteriormente serem liberados em campo de forma inundativa (Pinto *et al.* 2006).

Os entomopatógenos que se destacam no manejo de pragas da cana-de-açúcar são os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. utilizados no controle das cigarrinhas *Mahanarva posticata* (Stal.) e *Mahanarva fimbriolata* (Stål.) (Hemiptera: Cercopidae) (Alves 1998, Marques *et al.* 2008). Esses fungos têm ocorrência natural nos canaviais, sendo que as fases imaturas são consideradas as mais suscetíveis ao fungo *M.*

anisopliae (Pinto *et al.* 2006). Valente (2011) avaliando isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* observou que eles foram patogênicos também tanto para ovos quanto para lagartas de *D. flavipennella*, mostrando a possibilidade de sua utilização no manejo integrado.

Uma das grandes preocupações com a ampla utilização de fungos entomopatogênicos são os efeitos adversos a organismos benéficos, como, por exemplo, parasitoides e predadores, que também são usados no controle das mesmas pragas ou pragas diferentes e que ocupam o mesmo ambiente. A associação de parasitoides e fungos entomopatogênicos deve ser estudada pela possibilidade da mortalidade prematura do parasitoide pela colonização do fungo (Magalhães *et al.* 1998). Nesse sentido, algumas pesquisas foram desenvolvidas para obter informações a respeito de interações entre fungos entomopatogênicos e parasitoides do gênero *Trichogramma*. Broglio-Micheletti *et al.* (2006), avaliou o parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi* e verificaram redução na porcentagem de parasitismo, emergência e longevidade quando foi utilizado o isolado IPA 159E de *M. anisopliae*, na concentração 10^7 conídios mL⁻¹. Por outro lado, nenhum dos parâmetros biológicos avaliados de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) foram afetados pelo fungo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.), possibilitando a utilização simultânea desses agentes de controle biológico (Dalvi *et al.* 2007). Também, Polanczyk *et al.* (2009) não verificaram efeitos negativos dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* no parasitismo, viabilidade, razão sexual e longevidade de *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* parasitando ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) quando a concentração foi 5×10^8 conídios mL⁻¹.

O sucesso da utilização de espécies do gênero *Trichogramma* depende, entre outros fatores, do seu desempenho biológico sobre a praga alvo. Além disso, o conhecimento da interação com outros agentes naturais ou aplicados de controle. Assim, o estudo da interação do fungo *M. anisopliae* e o parasitoide *T. galloi* sobre ovos de *D. flavipennella* fornecerá

informações importantes sobre a ação desses inimigos naturais para o controle das brocas da cana-de-açúcar e das cigarrinhas. Sendo assim, os objetivos deste estudo determinar o desempenho de *T. galloi* parasitando ovos de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* e avaliar o potencial de controle de *D. flavipennella*, mediante à associação do parasitoide *T. galloi* com o fungo *M. anisopliae*.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

Criação de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*. As lagartas foram criadas em laboratório à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de 70% e alimentadas com dieta artificial desenvolvida por de Hensley & Hammond (1968), com modificações específicas feitas por (Araújo *et al.* 1985). A dieta é composta basicamente de farelo de soja, germe de trigo, açúcar, solução vitamínica, sais de Wesson, ácido ascórbico e água, esta foi colocada em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm), onde foram inoculadas dez larvas recém eclodidas. Passados 30 dias da inoculação foram transferidas para caixas plásticas contendo 19 divisórias (30 x 18 x 04 cm), com um tablete de dieta artificial de realimentação em cada divisória. As lagartas permaneceram nessas caixas até a fase de pupa. As pupas foram então transferidas para recipientes plásticos (26 x 17 x 08 cm) e lá permaneceram até a emergência dos adultos. No fundo dos recipientes de plástico, foi colocado papel de filtro com um pedaço de algodão umedecido com água destilada para manter a umidade. Os adultos foram confinados em gaiolas de PVC (20 x 22 cm) revestidas internamente com papel sulfite, como substrato para oviposição após o acasalamento. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 5% embebida em algodão no

interior das referidas gaiolas. Os ovos foram esterilizados em solução de sulfato de cobre (1%) e formol (3%) por três minutos, em seguida, armazenados em câmara úmida até o a eclosão das lagartas.

Obtenção e Criação de *Trichogramma galloi*. Os parasitoides foram obtidos do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ – USP, Piracicaba, SP. A linhagem utilizada nos experimento foi a Araçatuba. Os parasitoides foram criados e multiplicados em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), os quais foram fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE. Os ovos do hospedeiro eram colocados em retângulos de cartolina azul celeste (8,0 x 2,0 cm) contendo goma arábica diluída em água destilada (30%), inviabilizados por exposição a uma lâmpada germicida, por 50 minutos, a uma distância de 15 cm da fonte. Em uma das extremidades das cartelas, eram anotados a data de parasitismo e o código de identificação da linhagem coletada. À medida que os parasitoides emergiam, as cartelas contendo ovos de *A. kuehniella* inviabilizados eram então oferecidas às fêmeas de *Trichogramma* para o parasitismo, por um período de 24 h. A criação foi feita em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm), fechados com filme plástico de PVC, contendo uma gotícula de mel depositada na parede do tubo com auxílio de um estilete, e mantidos em câmara climatizada tipo B.O.D. a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h (Parra 1997).

Obtenção e Produção de *Metarhizium anisopliae*. O isolado de *M. anisopliae* utilizado neste estudo foi o URPE-11 (Universidade Rural de Pernambuco), obtido da coleção do Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE. A seleção do isolado foi embasada nos resultados obtidos por Valente (2011), tendo este isolado causado infecção de 100% em ovos de até 72 h de idade de *D. flavipennella*. Para o bioensaio, o fungo foi repicado em BDA + A (batata-dextrose-ágar + sulfato de streptomicina) e, após sete dias, o isolado de *M. anisopliae* foi

multiplicado em BDA + A e incubado em câmara climatizada tipo B.O.D. a 26 ± 1 °C e fotofase de 12h, onde permaneceu por dez dias.

As suspensões fúngicas foram obtidas pela adição de 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01% (ADE + E) em placas contendo meio de cultura e o fungo. Essas placas foram aferidas pela quantificação em câmara de Neubauer com o auxílio de um microscópio óptico, sendo, posteriormente, ajustadas para as concentrações de 1×10^7 conídios mL^{-1} e de 2×10^5 conídios mL^{-1} . Esta última concentração corresponde à concentração letal (CL_{50}). A estimativa da CL_{50} foi aquela encontrada por Valente (2011) para ovos de *D. flavipennella*.

A avaliação da viabilidade foi determinada pela contagem dos conídios germinados e não germinados de *M. anisopliae* em microscópio óptico, após 24h do plaqueamento em BDA + A, sendo tomados 100 conídios por placa para obtenção da porcentagem de germinação.

Características Biológicas de *Trichogramma galloi* em Ovos de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*. Foram utilizados 30 ovos de cada hospedeiro com até 24h de idade. As posturas foram colocadas em retângulos de cartolina azul celeste (8,0 x 2,0 cm) com goma arábica a 30%, em seguida, colocadas em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm) contendo fêmeas de *T. galloi*. As fêmeas foram alimentadas com uma gotícula de mel puro depositada na parede dos tubos com auxílio de um pincel de cerdas finas. Em cada tubo com ovos dos hospedeiros, foram colocadas três fêmeas (12-24h de idade) de *T. galloi*, mantidas em câmara climatizada, com temperatura de 25 °C e fotofase de 12h. Os tubos foram fechados com filme plástico de PVC para evitar a fuga dos parasitoides. Após 24h de parasitismo, as fêmeas foram retiradas e os tubos com ovos supostamente parasitados foram mantidos na câmara para avaliação do desenvolvimento. Os parâmetros avaliados foram: duração do ciclo do parasitoide (período ovo-adulto); porcentagem de parasitismo e emergência (determinada pelo número total de parasitoides emergidos dividido pelo número total de ovos escurecidos); razão sexual (número de fêmeas / total de indivíduos -

macho e fêmeas), sendo o sexo dos parasitoides determinado pelo dimorfismo sexual, tendo como base para tal as antenas (Brown & Stern 1966), com auxílio de microscópio estereoscópio; número de parasitoide por ovo; e longevidade das fêmeas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos (hospedeiros) e 10 repetições com 30 ovos cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, através do programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Interação de *Metarhizium anisopliae* com *Trichogramma galloi*. Ovos de *D. flavipennella* com até 24h de idade foram pulverizados com 1mL da suspensão fúngica nas concentrações de 1×10^7 conídios mL^{-1} e de 2×10^5 conídios mL^{-1} (CL_{50}) em cada tratamento, com auxílio de um microatomizador marca Paasche “VL”. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, cada concentração constando de seis tratamentos com seis repetições. Cada repetição com duas posturas, com aproximadamente 15 ovos por postura, totalizando 180 ovos por tratamento. Para cada concentração, foram utilizados os seguintes tratamentos: ovos pulverizados apenas com o isolado URPE-11; ovos parasitados apenas com *T. galloi*; ovos pulverizados com ADE + E e após um dia parasitados com *T. galloi*; ovos parasitados com *T. galloi* e após um dia pulverizadas com isolado URPE-11; ovos pulverizados com o isolado URPE-11 e após um dia parasitados com *T. galloi* e Testemunha (ovos pulverizados apenas com água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01%).

Os ovos de *D. flavipennella* foram colocados em retângulos de cartolina azul celeste (8,0 x 2,0 cm) com goma arábica diluída em água (30%). Após a aplicação do fungo e a inoculação do parasitoide, estas cartelas foram transferidas para tubos de fundo chato, fechados com filme plástico de PVC e mantidos em câmara climatizada com temperatura de 26 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Nos tratamentos em que houve submissão ao parasitismo por *T. galloi*, foram introduzidas três fêmeas de 12-24h de idade. Estas fêmeas estavam na décima

sexta geração em ovos de *A. kuehniella*. Após 24h de parasitismo, as fêmeas foram retiradas dos tubos e acondicionadas novamente em câmara climatizada. As fêmeas foram alimentadas com mel puro depositado na parede do tubo. A testemunha foi tratada com ADE + E. A ação do agente de controle foi aferida diariamente, observando-se o parasitismo. Foram avaliadas a mortalidade total e a mortalidade confirmada causadas pelo fungo, a porcentagem de parasitismo e de emergência (determinada pelo número total de parasitoides dividido pelo número total de ovos escurecidos) referente aos ovos que foram parasitados por *T. galloi* nos tratamentos, além do período ovo-adulto, número de parasitoides por ovo, a razão sexual (número de fêmeas / total de indivíduos - macho e fêmeas), sendo que o sexo dos parasitoides foi determinado pelo dimorfismo sexual através das antenas (Bowen & Stern 1966), com auxílio de microscópio estereoscópico. Foram avaliadas também a longevidade das fêmeas e a redução do parasitismo da broca causada pela aplicação do fungo *M. anisopliae* após o parasitismo por *T. galloi*. As médias relacionadas às porcentagens de mortalidade pelo parasitoide, à mortalidade total e à viabilidade do parasitismo por *T. galloi* foram transformadas em $\arcsin \sqrt{(x/100)}$, e o período ovo-adulto proveniente da concentração de 2×10^5 conídios mL^{-1} foi transformado em $\sqrt{x} + 0,5$, tendo os dados sido submetidos à análise de variância, empregando-se o programa SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Resultados

Características Biológicas de *Trichogramma galloi* em Ovos de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*. Nenhum dos parâmetros biológicos avaliados apresentou diferença entre os tratamentos. A taxa de parasitismo de *T. galloi* em ovos de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* apresentou médias superiores a 90% para as duas espécies estudadas. Os valores das médias de

emergência de *T. galloi* foram 94,7 e 96,1% em *D. flavipennella* e *D. saccharalis*, respectivamente (Tabela 1).

O período de desenvolvimento (ovo-adulto) de *T. galloi* em ovos de *D. flavipennella* e *D. saccharalis* foi superior a 11 dias, sendo que o número médio de parasitoides emergidos por ovo nas duas espécies hospedeiras foi 2,15 para *D. flavipennella* e 2,26 para *D. saccharalis*. A razão sexual foi superior a 0,65 e a longevidade de fêmeas de *T. galloi* alimentadas com mel foi semelhante para as duas espécies de hospedeiros estudados variando de 5 a 10 dias (Tabela 1).

Interação de *Metarhizium anisopliae* com *Trichogramma galloi*. A mortalidade de ovos de *D. flavipennella* ocasionada pelo isolado URPE-11 de *M. anisopliae* na concentração de 2×10^5 conídios mL^{-1} (CL_{50}) variou de 16,9% no tratamento em que o fungo foi previamente pulverizado, a 56,2% naquele em que houve somente a aplicação do fungo ($F = 13,22$; $P = 0,005$) (Tabela 2). A concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} de *M. anisopliae* obteve mortalidade entre 43,7 a 84,9%, diferindo estatisticamente dos tratamentos em que houve exposição ao parasitismo e pulverização do fungo, independentemente do momento da exposição ou da aplicação do entomopatógeno ($F = 10,61$; $P = 0,0013$).

Não houve diferença estatística para as mortalidades causadas pelo parasitoide entre os tratamentos com ou sem a presença do fungo proveniente na concentração de 2×10^5 conídios mL^{-1} , com taxas de parasitismo variando entre 68,5 e 83,9%. No entanto, para aqueles tratamentos empregando a concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} , a mortalidade provocada somente pelo parasitoide *T. galloi* variou de 91 a 97%, apresentando diferença estatística dos tratamentos em que houve associação do fungo com o parasitoide, com taxas de parasitismo variando de 68,7 e 61,7 nos tratamentos *T. galloi* + URPE-11 e URPE-11 + *T. galloi*, respectivamente (Tabela 2).

A mortalidade ocasionada pela interação fungo-parasitoide, na concentração 2×10^5 (mortalidade total) conídios mL^{-1} foi diferente entre os tratamentos apenas com a aplicação do

fungo e, somente, parasitismo com *T. galloi*. Na interação fungo-parasitoide, a maior mortalidade foi encontrada quando houve a pulverização do fungo 24h após o parasitismo por *T. galloi* (97%), mas não diferiu quando houve a submissão ao parasitismo e, posteriormente, a aplicação do fungo (Tabela 2).

A taxa de emergência não diferiu entre os tratamentos para as duas concentrações do fungo testadas, variando de 84,8 a 90,8% na concentração 2×10^5 conídios mL^{-1} e 81 a 94% na concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} . A longevidade das fêmeas provenientes dos tratamentos com ou sem aplicação do fungo, também, não diferiu entre os tratamentos empregando as duas concentrações do fungo (Tabela 3).

Discussão

Características Biológicas de *Trichogramma galloi* em Ovos de *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*. A capacidade de parasitismo de *T. galloi* em ovos das espécies *Diatraea* estudadas foi alta, superior a 90%, fato que pode estar relacionado a idade dos ovos dos hospedeiros e das fêmeas (0-24h de idade) usados neste estudo. Segundo Mellini (1986) a aceitação pelo parasitoide pode ser restringida pela idade do hospedeiro, visto que, a medida em que há o desenvolvimento do embrião do hospedeiro, há também dificuldade de penetração do ovipositor em função do endurecimento do córion. Isso foi observado por Pereira-Barros *et al.* (2005) em que as taxas de parasitismo por *T. galloi* foram 79,3 e 55,2% em ovos de *D. saccharalis* com 24 e 48h de idade, respectivamente. Fêmeas jovens de diversas espécies de *Trichogramma* apresentam maior oviposição havendo redução gradativa na sua capacidade de parasitismo com a idade (Pratissoli & Parra 2000, Pratissoli *et al.* 2004, Zago *et al.* 2006).

A taxa de emergência de *T. galloi* nos hospedeiros avaliados também foi alta. De acordo com Navarro (1998) a porcentagem de emergência ideal para o controle de qualidade de espécies de *Trichogramma* deve ser superior a 85%. Dias-Pini *et al.* (2012) obtiveram uma viabilidade

média de 81,9% em ovos de *D. flavipennella* parasitados por *T. galloi*, bem como, Pereira-Barros *et al.* (2005), que encontraram uma emergência igual a 78,1% para a mesma espécie de parasitoide em ovos de 24h de idade de *D. saccharalis*; resultados esses numericamente inferiores ao encontrado neste estudo.

O período de desenvolvimento (ovo-adulto) não sofreu influência dos hospedeiros comprovando que ovos de *D. flavipennella* são adequados ao desenvolvimento de *T. galloi*. Visto que, este parâmetro biológico pode ser acelerado ou retardado dependendo da qualidade do hospedeiro (Vinson 1997), além de fatores físicos como temperatura (Pratissoli & Parra 2000). No entanto, Dias-Pini *et al.* (2012) observaram que a duração do ciclo de *T. galloi* em ovos de *D. flavipennella* foi superior em cerca de 3 dias que o encontrado neste estudo, mantidos a 25 °C, UR de 70% e fotofase de 14h.

O número de parasitoides por ovo variou de 2 a 3, sendo que essa variação é considerada satisfatória, o que demonstra que os ovos dos hospedeiros avaliados apresentam uma quantidade de nutrientes suficientes para completar o desenvolvimento de mais de um indivíduo desta espécie sem afetar a qualidade da descendência. Parasitoides *Trichogramma*, dependendo do seu tamanho ou volume do ovo do hospedeiro, é comum o desenvolvimento de mais de um indivíduo por hospedeiro (Vinson 1997). Além disso, um número de parasitoide por hospedeiro, superior ao relatado, pode produzir descendentes menores e com deformações morfológicas, conseqüentemente, com menor desempenho biológico (Bleicher & Parra 1989, Vinson 1997). Outros autores encontraram valores semelhantes aos desta pesquisa, para *T. galloi* em ovos de espécies de *Diatraea* (Pereira-Barros *et al.* 2005, Geremias (2007), Dias-Pini *et al.* 2012, Santana *et al.* 2013).

No que se refere a razão sexual, uma proporção de fêmeas superior a 65% é um parâmetro desejável para o controle biológico, pois cabe as fêmeas a localização e parasitismo dos hospedeiros (Garcia 1991). Santana *et al.* (2013) verificaram valores para a razão sexual de *T. galloi*, em ovos de *D. saccharalis* entre 0,85 e 0,87.

O presente estudo, portanto, mostrou que o desempenho de *T. galloi* em *D. flavipennella* e *D. saccharalis* é semelhante, exibindo características biológicas favoráveis à sua utilização no Manejo da broca da cabeça amarela-da-cana-de-açúcar, *D. flavipennella*, no Nordeste do Brasil.

Interação de *Metarhizium anisopliae* com *Trichogramma galloi*. Os resultados demonstraram que *Trichogramma* apresentam a capacidade de reconhecer ovos contaminados por fungos entomopatogênicos durante a tentativa de oviposição (Vinson 1997, Magalhães *et al.* 1998). Assim, *M. anisopliae* não provocou repelência no parasitoide, pois, as fêmeas, ao serem liberadas nos tubos contendo ovos como o isolado testado, ovipositaram rapidamente, semelhante aquelas da testemunha.

Apesar do isolado URPE-11 de *M. anisopliae* (1×10^7 conídios mL⁻¹) ter permitido o desenvolvimento do parasitoide, este reduziu a capacidade de parasitismo em mais de 25%, devido à colonização pelo fungo em ovos do hospedeiro parasitado por *T. galloi* antes ou após a aplicação do isolado. Esse fato concorda com os resultados obtidos por Broglio-Micheletti *et al.* (2006) os quais verificaram redução na taxa de parasitismo de *T. galloi* quando ovos de *D. saccharalis* foram tratados como o isolado IPA159E de *M. anisopliae* na concentração de 1×10^7 conídios mL⁻¹. Entretanto, os isolados IPA211 e IPA139E não afetaram este parâmetro. Estes mesmos autores observaram resultado semelhante para a emergência dos adultos, relatando a ausência de efeitos negativos ao parasitoide quando ovos de *D. saccharalis* de 24h de idade foram pulverizados com os isolados IPA211 e IPA139E. No entanto, o isolado IPA159E afetou tanto a emergência, quando a longevidade do parasitoide.

A concentração 2×10^5 conídios mL^{-1} não afetou a taxa de parasitismo de *T. galloi*. Adicionalmente, efeitos aditivos foram evidenciados quando houve a associação fungo-parasitoide, quando aplicou-se o fungo e 24h após foi inoculado o parasitoide.

Embora a concentração 1×10^7 conídios mL^{-1} de *M. anisopliae* tenha provocado redução na capacidade de parasitismo de *T. galloi*, não afetou negativamente a emergência, período de desenvolvimento, número de parasitoides por ovo, razão sexual e longevidade das fêmeas. Em alguns casos a presença de fungos entomopatogênicos podem reduzir o parasitismo como verificado por Antigo *et al.* (2013), em que a taxa de parasitismo de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis* foi reduzida por *M. anisopliae* quando o fungo foi pulverizado na concentração máxima indicada para a cultura da cana-de-açúcar. Entretanto, a taxa de emergência de *T. galloi* não foi afetada pelo fungo. Além disso, estes autores relataram efeito de repelência do parasitoide resultante da aplicação do entomopatógeno.

Estudos tem demonstrado casos do uso associado de entomopatógenos em que não foi verificado a influência negativa na capacidade de parasitismo, bem como, aspectos biológicos em espécies de *Trichogramma* associadas a fungos como *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *L. lecanii* parasitando diferentes espécies de pragas (Dalvi *et al.* 2007, Polanczyk *et al.* 2009, Potrich *et al.* 2009). Com base em nossos resultados, o isolado URPE-11 de *M. anisopliae*, na concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} , provocou redução na porcentagem de parasitismo de *T. galloi*. No entanto, o mesmo isolado, na concentração de 2×10^5 conídios mL^{-1} , não interferiu em nenhum dos parâmetros biológicos avaliados. Sendo assim, a utilização de *M. anisopliae* nesta concentração deve ser feita de forma criteriosa, visto que, o fungo *M. anisopliae* pode causar efeitos negativos no parasitoide dependendo da concentração utilizada.

Agradecimentos

Ao Dr. Leandro Delalibera Geremias do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ-USP, pelo fornecimento de espécimes de *Trichogramma galloi*. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo à primeira autora deste trabalho.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Antigo, M.R., H.N. Oliveira, G.A. Carvalho & F.F. Pereira. 2013.** Repelência de produtos fitossanitários usados na cana-de-açúcar e seus efeitos na emergência de *Trichogramma galloi*. Rev. Cienc. Agron. 30: 1051-1055.
- Araújo, J.R., P.S.M. Botelho, S.M.S.S. Araújo, L.C. Almeida & N. Degaspari. 1985.** Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Saccharum APC, Rev. Tecnol. Indust. Açuc. Alcool. 36: 45-48.
- Bowen, W.R. & V.M. Stern. 1966.** Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 59: 823-834.
- Broglio-Micheletti, S.M.F., A.J.N. Santos & Pereira-Barros, J.L. 2006.** Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Agrotec. 30: 1051-1055.
- Dalvi, L.P., R.A. Polanczyk, D. Pratissoli, R.L. Melo & A.M. Holtz. 2007.** Seletividade de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W.Gams (Classe-forma: Hyphomycetes) ao parasitoide *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Agrotec. 31: 1392-1395.
- Dias-Pini, N.S., S.M.F. Broglio, S.S. Costa, J.M. Santos & E.C. Guzzo. 2012.** Biological characteristics of *Telenomus alecto* and *Trichogramma galloi* reared on eggs of the sugacane borer *Diatraea flavipennella*. Rev. Bras. Entomol. 56: 515-518.
- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L.Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. Fl. Entomol. 90: 309-313.

- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Garcia, M.A. 1991.** Ecologia das interações inseto/planta. In: A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (ed.). Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo integrado de pragas. São Paulo, Manole/CNPq, 359p.
- Geremias, L.D. 2008.** Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho. Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 81p.
- Hensley, S.D. & A.M. Hammond Jr. 1968.** Laboratory technique for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. J. Econ. Entomol. 61: 1742-1743.
- Magalhães, B.P., R. Monnerat & S.B. Alves. 1998.** Interações entre entomopatógenos, parasitoides e predadores. p. 195-216. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Marques, E.J., R.O.R. Lima, R.M. Andrade & J.M. Araújo Jr. 2008.** Controle biológico das brocas. *Diatraea* spp, *Telchin licus licus* e cigarrinhas *Mahanarva* spp em cana-de-açúcar, p. 95-111. In Vezon M., T.J. Paula Jr. & A. Pallini (org.), Avanços no controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa, EPAMIG, 283p.
- Mellini, E. 1986.** Importanza dell' età dell' uovo, al momento della parassitizzazione, per la biologia degli imenotteri oofagi. Bolletino dell' Intituto di Entomologia "Guido Grandi" della Univesità de Bologna. 41: 1-21.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A. F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Navarro, M.A. 1998.** *Trichogramma* spp. Procucción, uso y manejo en Colombia. Guadalajara de Buja: Impretec, 176p.
- Oliveira C. M. 2013.** Efeito da densidade e da idade de ovos de *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) sobre parâmetros biológicos e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 53p.
- Parra, J.R.P. 1997.** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para a produção de *Trichogramma*. p. 121-150. In Parra, J.R.P. & R.A. Zucchi (ed.), *Trichogramma* e o Controle Biológico Aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pastori, P.L., L.B. Monteiro & M. Botton. 2008.** Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) “linhagem bonagota”

criados em ovos de *Banagota salubricola* (Meyrich) (Lepidoptera: Tortricidae). Rev. Bras. Entomol. 53: 472-476.

- Pereira-Barros, J.L., S.M.F. Broglio-Micheletti, A.J.N. Santos, L.W.T. Carvalho, L.H.T. Carvalho & C.J.T. Oliveira. 2005.** Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Cienc. Agrotec. 24: 714: 718.
- Pinto, A.S., J.F. Garcia & P.S.M. Botelho. 2006.** Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, p. 65-74. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (org), Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba, FEALQ, 287p.
- Polanczyk, R.A., E.D. Grecco, G.S. Andrade, F.N. Celestino, W.F. Barbosa, C.R. Franco & D. Pratissoli. 2009.** Desempenho de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) tratados com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Arq. Inst. Biol. 76: 495-499.
- Potrich, M., L.F.A. Alves, J. Haas, E.R.L. Silva, A. Daros, V. Pitrowski & P.M.O.J. Neves. 2009.** Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 38:822-826.
- Pratissoli, D., A.M. Holtz, J.R. Gonçalves, R.C. Oliveira & U.R. Vianna. 2004.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum*, criados em ovos de *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*. Hort. Bras. 22: 562-565.
- Pratissoli, D. & J.R.P. Parra. 2000.** Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. Pesqui. Agropecu. Bras. 35: 1281-1288.
- Santana, D.R.S., P.P. Bellon, E.P. Melo & H.N. Oliveira. 2013.** Influência do fotoperíodo no parasitismo de *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). Entomobrasilis. 6: 165-167.
- Valente, E.C.N. 2011.** Efeito de Fungos Entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 34p.
- Vinson, S.B. 1997.** Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p.67-120. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds) *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Volpe, H.X.L., S.A. Bortoli, R.T. Thuler, C.L.T.P. Viana & R.M. Goulart. 2006.** Avaliação de características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em três hospedeiros. Arq. Inst. Biol. 73: 311-315.

Zago, H.B., D. Pratissoli, R. Barros & M.G.C. Gondim Jr. 2006. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pratissoli* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos. Neotrop. Entomol. 35: 377-381.

Tabela 1. Parasitismo (%), emergência (%), período ovo/adulto (dias), número de parasitoides/ovo, razão sexual e longevidade de fêmeas (dias) de *Trichogramma galloi* nos hospedeiros *Diatraea flavipennella* e *Diatraea saccharalis*. Temp.: $26 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$; UR: $68 \pm 11\%$ e fotofase de 12h.

| Parâmetros avaliados ¹ | Hospedeiro | |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| | <i>D. flavipennella</i> | <i>D. saccharalis</i> |
| Parasitismo | $90,2 \pm 2,55$ a | $90,5 \pm 2,49$ a |
| Emergência | $94,7 \pm 2,00$ a | $96,1 \pm 2,11$ a |
| Período ovo-adulto | $11,3 \pm 0,11$ a | $11,5 \pm 0,08$ a |
| Nº de parasitoide/ovo | $2,2 \pm 0,13$ a | $2,3 \pm 0,11$ a |
| Razão sexual | $0,65 \pm 0,02$ a | $0,71 \pm 0,02$ a |
| Longevidade de fêmeas | $6,0 \pm 0,12$ a | $6,3 \pm 0,15$ a |

¹Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra, na linha, comparando os hospedeiros, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Tabela 2. Mortalidade (Média \pm EP) de ovos de *Diatraea flavipennella* parasitados por *Trichogramma galloi*, pulverizados ou não com o isolado URPE-11 de *Metarhizium anisopliae*, nas concentrações 2×10^5 e 1×10^7 conídios mL⁻¹. Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h fotofase.

| Tratamentos ¹ | Mortalidade pelo Fungo | Mortalidade pelo Parasitoide | Mortalidade Total |
|---|------------------------|------------------------------|--------------------|
| 2×10^5 conídios mL ⁻¹ | | | |
| URPE-11 | 56,2 \pm 5,54 a | - | 56,2 \pm 5,54 c |
| <i>T. galloi</i> | - | 80,4 \pm 3,91 a | 80,4 \pm 3,91 b |
| ADE +E + <i>T. galloi</i> | - | 81,9 \pm 3,48 a | 81,9 \pm 3,48 b |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 28,1 \pm 6,26 b | 68,5 \pm 7,09 a | 84,1 \pm 5,00 ab |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 16,9 \pm 4,83 b | 83,9 \pm 5,62 a | 97,1 \pm 1,38 a |
| Testemunha (ADE +E) | - | - | 4,3 \pm 0,57 d |
| <hr/> | | | |
| 1×10^7 conídios mL ⁻¹ | | | |
| URPE-11 | 84,9 \pm 4,40 a | - | 84,9 \pm 4,40 a |
| <i>T. galloi</i> | - | 91,8 \pm 4,48 a | 91,8 \pm 4,48 a |
| ADE + E + <i>T. galloi</i> | - | 97,3 \pm 1,02 a | 97,3 \pm 1,02 a |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 39,5 \pm 11,32 b | 68,7 \pm 7,65 b | 91,3 \pm 3,94 a |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 43,7 \pm 5,48 b | 61,7 \pm 16,66 b | 97,2 \pm 1,90 a |
| Testemunha (ADE +E) | - | - | 3,6 \pm 0,48 b |

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Parasitismo (%), emergência (%) e longevidade de fêmeas (dias) de descendentes de *Trichogramma galloi* em ovos de *Diatraea flavipennella*, pulverizados ou não com o isolado URPE-11 de *Metarhizium anisopliae*, nas concentrações 2×10^5 e 1×10^7 conídios mL^{-1} . Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h fotofase.

| Tratamentos ¹ | Parasitismo | Emergência | Longevidade de fêmeas |
|---|----------------|---------------|-----------------------|
| 2×10^5 conídios mL^{-1} | | | |
| <i>T. galloi</i> | 80,4 ± 3,91 a | 89,1 ± 6,50 a | 4,4 ± 0,23 a |
| ADE + E + <i>T. galloi</i> | 81,9 ± 3,48 a | 90,8 ± 1,70 a | 4,2 ± 0,30 a |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 68,5 ± 7,09 a | 85,3 ± 8,95 a | 4,2 ± 0,19 a |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 83,9 ± 5,62 a | 84,8 ± 3,95 a | 4,4 ± 0,53 a |
| 1×10^7 conídios mL^{-1} | | | |
| <i>T. galloi</i> | 91,9 ± 3,74 a | 94,1 ± 1,76 a | 4,1 ± 0,24 a |
| ADE+E+ <i>T. galloi</i> | 97,3 ± 1,02 a | 94,2 ± 2,67 a | 4,0 ± 0,30 a |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 61,6 ± 10,57 b | 81,0 ± 5,22 a | 3,8 ± 0,28 a |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 63,7 ± 7,79 b | 84,8 ± 3,91 a | 4,1 ± 0,28 a |

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Período ovo-adulto (dias \pm EP), número de parasitoides por ovo e razão sexual de descendentes de *Trichogramma galloi* em ovos de *Diatraea flavipennella*, pulverizados ou não com o isolado URPE-11 de *Metarhizium anisopliae*, nas concentrações 2×10^5 e 1×10^7 e conídios mL⁻¹. Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h fotofase.

| Tratamentos ¹ | Período ovo-adulto | N ^o parasitoides/ovo | Razão sexual |
|---|--------------------|------------------------------------|-------------------|
| 2×10^5 conídios mL ⁻¹ | | | |
| <i>T. galloi</i> | 10,6 \pm 0,16 a | 2,59 \pm 0,20 a | 0,75 \pm 0,06 a |
| ADE + E + <i>T. galloi</i> | 10,7 \pm 0,14 a | 2,70 \pm 0,25 a | 0,72 \pm 0,04 a |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 10,5 \pm 0,08 a | 2,76 \pm 0,11 a | 0,75 \pm 0,01 a |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 10,5 \pm 0,08 a | 2,57 \pm 0,16 a | 0,70 \pm 0,03 a |
| 1×10^7 conídios mL ⁻¹ | | | |
| <i>T. galloi</i> | 10,5 \pm 0,14 a | 2,49 \pm 0,09 a | 0,73 \pm 0,02 a |
| ADE + E + <i>T. galloi</i> | 10,5 \pm 0,14 a | 2,94 \pm 0,13 a | 0,80 \pm 0,01 a |
| <i>T. galloi</i> + URPE-11 | 10,7 \pm 0,08 a | 2,58 \pm 0,11 a | 0,76 \pm 0,03 a |
| URPE-11 + <i>T. galloi</i> | 10,7 \pm 0,22 a | 2,69 \pm 0,14 a | 0,76 \pm 0,04 a |

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

CAPÍTULO 3

SUSCETIBILIDADE DE *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AO LUFENUROM E INTERAÇÃO COM O SEU PARASITOIDE LARVAL *Cotesia flavipes* (CAM.) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)¹

ANA PAULA P. FONSECA²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

¹Fonseca, A.P.P. Suscetibilidade de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) ao lufenurom e interação com o seu parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae). Artigo a ser submetido.

RESUMO – A broca da cabeça amarela-da-cana *Diatraea flavipennella* (Box) tem se destacado como praga da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil e com expansão eminente para outras regiões. Neste estudo foi determinada a susceptibilidade de *D. flavipennella* ao inseticida regulador de crescimento lufenurom e qual o efeito da lagarta intoxicada com este inseticida no desempenho do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.). Lagartas neonatas e de 10 dias de idade de *D. flavipennella* foram alimentadas com dieta artificial contendo ou não o inseticida em diferentes concentrações. A partir da mortalidade foram determinadas curvas concentração-mortalidade. A avaliação dos efeitos subletais de lagartas tratadas com o inseticida sobre *C. flavipes* foi estudado com lagartas de 10 dias e alimentadas com dieta contendo às CL_{S20} e 50. As concentrações 1,562; 3,125; 6,25 e 12,5 mg i.a./L permitiram sobrevivência de lagartas neonatas e com 10 dias de idade, respectivamente, enquanto as concentrações 25, 50 e 100 mg i.a./L causaram 100% de mortalidade. Lagartas de ambas as idades apresentando desenvolvimento não tiveram as fases de larva e pupa afetadas, exceto o peso de pupa que foi reduzido nas concentração 12,5mg/L para lagartas neonatas. O efeito subletal do tratamento de lagartas com as CL₂₀ e CL₅₀ resultou em prolongamento da fase larval para lagartas de 10 dias de idade tratadas com a CL₅₀, bem como a viabilidade de ovos das fêmeas oriundas de lagartas neonatas tratadas com as CL₂₀ e CL₅₀. O parasitoide *C. flavipes* teve, apenas, o período ovo-adulto prolongado parasitando lagartas sobrevivente do tratamento com as CL₂₀ e CL₅₀. Os resultados mostram que o lufenurom a partir de 25 mg/mL causou 100% de mortalidade de lagartas de ambas as idades, e que em concentrações inferiores pode ocorrer sobrevivência de lagartas, as quais são parasitadas com sucesso por *C. flavipes*.

PALAVRAS-CHAVE: Inseticida regulador de crescimento, efeito subletal, endoparasitoide, controle biológico

SUSCEPTIBILITY OF *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) TO LUFENURON AND INTERACTION WITH ITS LARVAL PARASITOID *Cotesia flavipes* (CAM.) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

ABSTRACT – The yellow sugarcane borer *Diatraea flavipennella* (Box) has been reported as a key pest of sugarcane in the Northeastern of Brazil with imminent expansion to other regions. In this study, the susceptibility of *D. flavipennella* to lufenuron and the effect of surviving intoxicated larvae with this insecticide on the performance of the main larval parasitoid of the yellow sugarcane borer, *Cotesia flavipes* (Cam.) were studied. Neonate and 10-days old larvae of *D. flavipennella* were fed treated diet with seven concentrations of lufenuron. Based on the mortality, concentration-mortality lines were calculated. The assessment of sublethal effects of lufenuron to larvae and to the parasitoid were studied using the LC₂₀ and LC₅₀-concentrations. The tested concentrations of lufenuron 1.56, 3.12, 6.25, 12.50 mg a.i./L allowed partial survival of larvae; while the higher tested concentrations 25, 50 and 100 mg a.i./L caused 100% mortality of larvae in both ages. Surviving larvae did not exhibit sublethal effects, except for reduced pupal weight of neonate larvae at concentration 12.5 mg a.i./L. Larvae 10-days old treated with the LC₅₀ exhibited delayed development, while reduction on egg viability was observed for adults from surviving larvae of both ages treated with both sublethal concentrations. The parasitoid *C. flavipes* successfully parasitized surviving LC₂₀- and LC₅₀-treated larvae and only exhibited delayed development among all evaluated characteristics. The results showed that lufenuron is effective against *D. flavipennella*, but sublethal concentrations allowed survival of larvae, which were successfully parasitized by *C. flavipes* showing feasibility of both control methods.

KEYWORDS: Insecticide growth regulator, sublethal effect, endoparasitoid, biological control

Introdução

O ataque de insetos-praga representa um dos principais problemas fitossanitários enfrentados pela cultura da cana-de-açúcar no Brasil. Entre as principais pragas dessa cultura destacam-se as brocas do gênero *Diatraea* que atacam a cana tanto na fase jovem, em menor incidência, quanto na fase adulta, ocasionando prejuízos consideráveis na produção (Gallo *et al.* 2002, Freitas *et al.* 2007). As espécies de *Diatraea* que ocorrem nos canaviais brasileiros são *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box), sendo que a primeira espécie apresenta distribuição generalizada em todo o país, e a segunda está citada com ocorrência nos canaviais dos Estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e no Norte e Nordeste do país (Guagliumi 1972/73, Mendonça *et al.* 1996, Freitas *et al.* 2006, Pinto *et al.* 2006, Garcia *et al.* 2009).

O controle das brocas é dificultado devido ao seu hábito alimentar, pois as lagartas ficam protegidas dentro do colmo. Além disso, a ocorrência simultânea de todos os estágios de desenvolvimento da praga e a presença das culturas hospedeiras durante todo o ano são os principais entraves para o sucesso do manejo (Pinto *et al.* 2006, Freitas *et al.* 2007). Desta maneira, o parasitismo de lagartas tem sido o método mais utilizado para minimizar os prejuízos causados pelas brocas. Para tanto, o endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) tem sido um dos principais exemplos de agente de controle biológico de sucesso (Botelho & Macedo 2002, Garcia *et al.* 2009). Liberações inundativas deste parasitoide visando o controle de *D. saccharalis* têm sido realizadas desde a sua introdução na década de 70 até os dias atuais (Mendonça 1996, Botelho & Macedo 2002, Pinto *et al.* 2006, Hivizi *et al.* 2009). Embora com longa data de citação como praga nos canaviais do Brasil, somente recentemente *D. flavipennella* vem se destacando com infestações superiores até mesmo a *D. saccharalis* (Freitas *et al.* 2006, Silva 2013), a qual

também é parasitada com sucesso por *C. flavipes* de forma similar a *D. saccharalis* (Silva *et al.* 2012).

Apesar da localização parcialmente protegida das lagartas e pupas no interior do colmo da cana, o controle químico também pode ser utilizado para controlar as brocas da cana-de-açúcar. Isto pode acontecer até o segundo instar larval antes das lagartas penetrarem no colmo (Gallo *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2012). Entre os inseticidas recomendados para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar são registrados diversos princípios ativos e modos de ação, a exemplo dos inseticidas reguladores de crescimento (IGRs), como o lufenurom (MAPA – Agrofit 2014).

Benzoiluréias são análogas ou antagonistas dos hormônios ecdisona e juvenis, agem principalmente por ingestão podendo afetar o desenvolvimento dos insetos e interferir no processo de metamorfose. Assim, os IGRs apresentam ação lenta comparada aos inseticidas convencionais (Schneider *et al.* 2008). No entanto, são inseticidas considerados de baixo impacto sobre a fauna benéfica (Dhadialla *et al.* 1998). Isto tem uma grande vantagem considerando a grande área cultivada com cana no Brasil e que recebem pulverizações aéreas para o controle das brocas. Apesar desta seletividade, IGRs podem ocasionar efeitos subletais tanto na praga alvo como para os seus inimigos naturais. Entre esses efeitos têm-se, dependendo da dosagem/concentração, redução da longevidade, fecundidade e fertilidade de parasitoides, entre outros (Desneux *et al.* 2007). Além disso, o conhecimento dos efeitos subletais é relevante não apenas sobre parasitoides, como também sobre seu hospedeiro, visto que, alterações nos processos fisiológicos do inseto-praga provocadas por efeitos subletais podem ser favoráveis a atuação do parasitoide através de alterações da imunidade do hospedeiro (Parra *et al.* 2002, Passos 2013).

Para que haja a integração dos métodos químico e biológico no controle *D. flavipennella*, de maneira harmoniosa é desejada a compatibilidade de inseticidas e *C. flavipes* no controle da broca da cabeça amarela-da-cana-de-açúcar. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar a

susceptibilidade de *D. flavipennella* ao inseticida inibidor de síntese de quitina, lufenurom, e o efeito indireto do inseticida nos parâmetros biológicos do parasitoide *C. flavipes*.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Criação de *Diatraea flavipennella*. As lagartas foram criadas em laboratório à temperatura de 27 ± 1 °C e UR de 70% e alimentadas com dieta artificial desenvolvida por Hensley & Hammond (1968), modificada por Araújo *et al.* (1985). A dieta é composta basicamente de farelo de soja, germe de trigo, açúcar, solução vitamínica, sais de Wesson, ácido ascórbico e água. Esta foi depositada em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm), onde foram inoculadas dez larvas recém-eclodidas, e passados 30 dias de inoculação foram transferidas para caixas plásticas contendo 19 divisórias (30 x 18 x 04 cm), com um tablete de dieta artificial de realimentação. As lagartas permaneceram nessas caixas até a fase de pupa. As pupas foram então transferidas para recipientes plásticos (26 x 17 x 08 cm) e lá permaneceram até a emergência dos adultos. No fundo dos recipientes de plástico foram colocados papel de filtro com um pedaço de algodão umedecido com água destilada para manter a umidade. Os adultos foram confinados em gaiolas de PVC (20 x 22 cm) revestidas internamente com papel sulfite, como substrato para oviposição após o acasalamento. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 5% embebida em algodão no interior das referidas gaiolas. Os ovos foram esterilizados em solução de sulfato de cobre (1%) e formol (3%) por três minutos, e em seguida armazenados em câmara úmida até a eclosão das lagartas.

Obtenção e Criação de *Cotesia flavipes*. Pupas (massas) do parasitoide foram fornecidos pela Associação dos Plantadores de Cana-de-açúcar da Paraíba - ASPLAN-PB. Estas pupas foram acondicionadas em potes plásticos (5 x 7cm) com tampas contendo pequenos orifícios para a saída dos parasitoides. Para a multiplicação do parasitoide foi utilizado como hospedeiro, lagartas de terceiro instar de *D. flavipennella*, 24h após a emergência dos adultos, fêmeas acasaladas foram utilizadas para o parasitismo, onde lagartas do hospedeiro foram levadas próximas ao orifício de inoculação para a oviposição em seu interior. Lagartas parasitadas foram acondicionadas em caixas plásticas contendo 19 divisórias (30 x 18 x 4cm), com um tablete de dieta artificial de aproximadamente 4 cm, onde permaneceram até a formação das pupas (massas) do parasitoide. Após a formação das massas de pupas do parasitoide, estas foram retiradas e transferidas novamente para gaiolas de inoculação, e lá permaneceram até a emergência dos adultos.

Suscetibilidade de *Diatraea flavipennella* ao Lufenurom. Sete concentrações foram definidas para o estudo a partir de bioensaios preliminares. A dose do inseticida inicialmente testada foi 25% daquela recomendada para a cultura da cana-de-açúcar, 400 mL do p.c./ha (20 g i.a./ha) para pulverização com 200 L de calda/ha, objetivando o controle de lagartas de *D. saccharalis* (MAPA - Agrofitec 2014). Lagartas neonatas e com 10 dias de idade de *D. flavipennella* foram utilizadas neste estudo. A criação foi oriunda do Laboratório de Patologia de Insetos. Foram utilizados recipientes plásticos com 4x2cm (diâmetro e altura) com tampa perfurada com alfinete entomológico nº 1 para a circulação do ar. Em cada recipiente foi depositado 4,5 mL de dieta artificial e mantidas em câmara de fluxo laminar com luz germicida até o seu endurecimento (\approx 1h). As concentrações do inseticida lufenurom foram obtidas através da diluição do produto comercial Match 50CE (Syngenta, São Paulo, Brasil) em água destilada com adição do surfactante Triton X-100® a 0,01% para cada concentração testada. Após a secagem da dieta, 100

μL da solução do inseticida foi depositado sobre a superfície da dieta. A testemunha recebeu apenas água destilada com Triton X-100[®] a 0,01%. Os recipientes contendo dieta artificial contaminada com o inseticida foram mantidas em câmara de fluxo laminar até a secagem da solução (~1h). Após os bioensaios preliminares, o bioensaio definitivo foi conduzido com as concentrações: 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg i.a. /L. Lagartas de duas idades de *D. flavipennella* foram usadas: neonatas (< 1 dia de idade) e 10 dias (segundo instar). Antes do experimento, as lagartas de 10 dias foram individualizadas por 12h sem alimento. Após a secagem do inseticida foram inoculadas 10 lagartas por repetição para cada idade empregando seis repetições e sete concentrações totalizando 420 insetos em observação, além da testemunha. Os recipientes contendo o material foram mantidos em câmara climatizada (B.O.D) a 27 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h por um período de cinco dias sendo que após este período, as lagartas foram realimentadas com dieta não tratada. O critério de mortalidade foi baseado na ausência de locomoção das lagartas após o toque com pincel de cerdas macias. A avaliação de mortalidade foi realizada no terceiro e quinto dia após a inoculação da lagarta na dieta contendo o inseticida. Os resultados da avaliação ao quinto dia foram utilizados para calcular a curva concentração-mortalidade de cada idade de *D. flavipennella* e estimar as $CL_{S_{20}}$, 50 e 90.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit usando o programa estatístico POLO – PLUS 2.0 (LeOra Software 2005). As lagartas sobreviventes foram individualizadas em placas de acrílico (5 cm x 1,5 cm) com dieta artificial sem inseticida e acompanhadas diariamente. Para as lagartas sobreviventes foram avaliados além da mortalidade, a duração larval e pupal, peso das pupas, deformação de pupas, emergência e longevidade dos adultos. As pupas foram sexadas conforme Silva & Mendonça (1996) e pesadas 24hs após a sua formação com auxílio de balança de precisão 0,0001g (Bio Precisa[®]) e individualizadas em

recipientes plásticos com 4x2cm (diâmetro e altura) forrados com papel filtro umedecidos com água destilada.

Efeito do Lufenurom no Desenvolvimento e na Reprodução de *Diatraea flavipennella*. As concentrações CL_{S20}, 50 e 90 foram testadas para avaliar o desenvolvimento de *D. flavipennella*. O bioensaio foi conduzido da mesma forma que os de suscetibilidade, exceto pelo número de concentrações. A mortalidade foi avaliada nos terceiro e quinto dias após a inoculação da lagarta na dieta contendo o inseticida. As lagartas sobreviventes foram individualizadas em placas de acrílico (5 cm x 1,5cm) com dieta artificial não tratada até a formação das pupas ou mortalidade das lagartas. Todo o material foi mantido em câmara climatizada (B.O.D) a 27 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. As pupas foram individualizadas em recipientes plásticos de 4x2cm (diâmetro e altura). Para a avaliação do efeito do inseticida na reprodução de *D. flavipennella*, 10 casais foram formados com adultos oriundos de lagartas tratadas aos 10 dias e cinco casais de lagartas neonatas provenientes dos tratamentos com as CL_{S20}, 50 e testemunha. Não foram formados casais provenientes da CL₉₀ das duas idades devido não ter tido formação de pupas nessa concentração. Os casais foram confinados em gaiolas de PVC (10 x 12 cm) revestidas internamente com papel A4 para oviposição e alimentados com solução de mel a 5%. As posturas foram coletadas a cada dois dias, esterilizadas e armazenadas em câmara úmida até o a eclosão das lagartas. Os parâmetros biológicos avaliados foram à mortalidade das lagartas, a duração larval e pupal, peso das pupas, deformação de pupas, emergência e longevidade de adultos, fecundidade e viabilidade dos ovos de *D. flavipennella*. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (CL_{S20}, 50 e 90 e testemunha) com 10 repetições por tratamento (10 lagartas/repetição) totalizando 100 lagartas/ tratamento.

Desempenho do Parasitismo de *Cotesia flavipes* em Lagartas de *Diatraea flavipennella* Tratadas com Lufenurom em Subdosagens. Lagartas de 10 dias de idade foram expostas as

concentrações CL_{20} e CL_{50} pelo método de aplicação superficial em dieta artificial do inseticida lufenurom. As lagartas sobreviventes foram expostas ao parasitismo quando atingiram o quarto instar (25-30 dias de idade). Após o parasitismo, as lagartas foram individualizadas em placas de acrílico (5 x 1,5 cm) com dieta artificial não tratada até a formação das pupas do parasitoide (massas) ou mortalidade das lagartas. Todo o material foi mantido em câmara climatizada (B.O.D) a 27 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. O período ovo-adulto, taxa de emergência, peso de pupas 24h após a formação, número de adultos por massa, razão sexual, longevidade de fêmeas e medição da tíbia mediana da perna direita foram anotados e analisados. Para a medição da tíbia foram separadas 15 fêmeas de cada tratamento. A perna de cada indivíduo foi retirada e colocada em uma gota de água destilada depositada em lâmina e coberta por uma lamínula e a medição realizada com o auxílio de micrométrica acoplada ao microscópio óptico marca Olympus (aumento de 40x com fator de conversão de 2,45). A avaliação da longevidade de *C. flavipes* foi realizada com a observação de 40 fêmeas de cada tratamento individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm). As fêmeas foram alimentadas com mel puro depositado na parede interna dos tubos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado constando de três tratamentos (CL_{20} , CL_{50} e testemunha) com 50 repetições (lagartas). As médias relacionadas à duração da fase de pupa de *D. flavipennella*, peso das massas e viabilidade do parasitoide foram transformados em $\arcsen\sqrt{(x/100)}$ para atender aos requisitos de normalidade e homogeneidade. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$), empregando-se o programa estatístico SAS Versão 9.0 (SAS Institute 2002).

Resultados

Suscetibilidade de *Diatraea flavipennella* ao Lufenurom. A mortalidade das lagartas de *D. flavipennella* tratadas com o lufenurom aumentou gradativamente com o aumento da

concentração. Assim, os resultados de concentração-mortalidade obtidos neste estudo se ajustaram ao modelo de Probit ($P > 0,05$), tanto para as lagartas neonatas como para lagartas com 10 dias de idade (Tabela 1). Os valores de CL_{50} calculados para lagartas neonatas e lagartas com 10 dias de idade foram, respectivamente, 18,22 e 16,56 mg i.a./L (Tabela 1).

O padrão de mortalidade ao longo do tempo foi semelhante para as lagartas neonatas e de 10 dias de idade nas maiores concentrações: 25; 50 e 100 mg/L de lufenurum. Lagartas de ambas as idades apresentaram 100% de mortalidade até o dia 13 após o início do tratamento e diferiram entre as demais concentrações (teste de Log-Rank; $\chi^2 = 433,50$; $P < 0,0001$; G.L. = 7; Fig. 1). Por outro lado, a sobrevivência de lagartas nas menores concentrações foi variável entre as concentrações e entre as idades de lagartas. Lagartas neonatas submetidas às concentrações 1,562 e 3,125 mg i.a./L apresentaram curva de sobrevivência similar a testemunha, e superior àquela observada nas concentrações 6,25 e 12,5 mg i.a./L (Fig. 1); enquanto que lagartas de 10 dias de idade exibiram igualdade nas curvas de sobrevivência nas concentrações 1,562; 3,125; 6,25 e 12,5 mg/L, porém inferior a testemunha (Fig. 1).

As lagartas que sobreviveram às concentrações 1,562; 3,125; 6,25 e 12,5 mg i.a./L apresentaram desenvolvimento com formação de pupas e emergência de adultos. Contudo, alterações morfológicas foram observadas durante a fase larval como ecdise incompleta, dificuldade de locomoção, retenção da exúvia ou cutícula velha, formação de bolha na região cefálica de algumas lagartas resultando em morte. No entanto, não foram observadas deformações em pupas e adultos provenientes das lagartas sobreviventes e que completaram o desenvolvimento em nenhum dos tratamentos.

As fases de larva e pupa e a longevidade de mariposas adultas provenientes das lagartas neonatas e de 10 dias de idade sobreviventes, não diferiram entre si e da testemunha, exceto para a concentração 12,5 mg i.a./L para lagartas neonatas. Lagartas neonatas tratadas com esta

concentração do inseticida apresentaram redução no peso de pupas fêmeas ($F = 3,79$; $P = 0,0209$) (Tabela 2).

Efeito do Lufenurom no Desenvolvimento e na Reprodução de *Diatraea flavipennella*. As estimativas das CL_{s20} , CL_{50} e CL_{90} para lagartas neonatas e de 10 dias de idade de *D. flavipennella* são apresentadas na Tabela 1. Lagartas alimentadas com dieta artificial contendo a CL_{90} , tanto para lagartas neonatas, quanto para as de 10 dias de idade exibiram 100% de mortalidade antes de completarem a fase larval. Por outro lado, parte das lagartas neonatas e de 10 dias tratadas com as CL_{s20} e CL_{50} apresentaram sobrevivência e completaram desenvolvimento. A viabilidade larval das lagartas alimentadas com dieta artificial tratada com as CL_{s20} e CL_{50} variaram de 67 a 18% para lagartas neonatas e de 78% a 25% para lagartas de 10 dias de idade, respectivamente. A viabilidade de pupas apresentou os mesmos valores da viabilidade larval, exceto, para a CL_{50} , que apresentou apenas 29% de pupas formadas (Tabela 3).

Para os tratamentos oriundos das lagartas neonatas não houve variação significativa nas durações das fases de larva (46,0 a 48,7 dias), de pupa (9,4 a 9,6 dias) e o peso das pupas fêmeas (130,0 a 144,0 mg) e pupas machos (73,0 a 80,6 mg). Entretanto, a duração larval foi prolongada para lagartas de 10 dias de idade alimentadas com dieta contendo a CL_{50} ($F = 5,49$; $P = 0,0064$), diferindo da testemunha e da CL_{20} . Por outro lado, não se observou diferenças para a fase de pupa que variou de 9,4 a 9,6 dias, peso das pupas fêmea que variou de 131,5 a 138,5 mg e de pupas macho que variou de 75,8 a 79,0 mg (Tabela 3).

A fecundidade e a longevidade de fêmeas de *D. flavipennella* provenientes de lagartas sobreviveram as CL_{s20} e CL_{50} não foram afetadas nas idades avaliadas. Porém, a viabilidade dos ovos de mariposas oriundas das lagartas neonatas foi reduzida pelas CL_{s20} e CL_{50} em mais de 14% ($F = 38,14$; $P < 0,0001$). E, para adultos provenientes de lagartas de 10 dias, a viabilidade dos ovos foi

inferior para aquelas alimentadas com dieta artificial contendo a CL₅₀ (F = 5,29; P = 0,0115), diferindo da testemunha (Tabela 4).

Desempenho do Parasitismo de *Cotesia flavipes* em Lagartas de *Diatraea flavipennella* Tratadas com Lufenurom em Subdosagens. A duração do período ovo-adulto (do parasitismo a emergência) de *C. flavipes* foi prolongada quando parasitando lagartas alimentadas com as CL₂₀ e ₅₀ em relação a testemunha (F = 15,03; P < 0,0001), mas não entre os tratamentos com o inseticida. O peso de massas (pupas), taxa de emergência, número de parasitoides por lagarta parasitada, tamanho do parasitoide emergido baseado no comprimento da tibia e a razão sexual não apresentaram diferença entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 5). A razão sexual foi em média (\pm EP), de $0,7 \pm 0,05$; $0,6 \pm 0,05$ e $0,5 \pm 0,05$ para a testemunha, CL₂₀ e ₅₀, respectivamente.

A longevidade média das fêmeas de *C. flavipes* emergidas de lagartas de *D. flavipennella* tratadas com as CL₂₀ e ₅₀ e testemunha foi em média (\pm EP) $2,8 \pm 0,28$; $2,8 \pm 0,24$ e $2,2 \pm 0,12$ dias, respectivamente. Isto demonstra, que mesmo oriundas de lagartas tratadas, a sobrevivência de adultos não foi significativamente afetada (teste de Log-Rank; $\chi^2 = 5,39$; P = 0,0676; G.L. = 2). Numericamente, os últimos adultos morreram nos dias 8, 6 e 4 após a emergência quando oriundos dos tratamentos testemunha, CL₂₀ e CL₅₀, respectivamente. Da mesma forma, o tamanho dos parasitoides emergidos baseado no comprimento da tibia de fêmeas, também, não diferiu entre os tratamentos e da testemunha sendo de 3,91 a 3,96 μ m (Tabela 5).

Discussão

Suscetibilidade de *Diatraea flavipennella* ao Lufenurom. Os resultados deste estudo demonstram a suscetibilidade de lagartas neonatas e aquelas com 10 dias de idade ao inseticida lufenurom, bem como, a resposta da praga e do seu parasitoide *C. flavipes* quando tratadas com quantidades

subletais (CL_{20} e CL_{50}) deste inseticida. Estes resultados são importantes por demonstrar a suscetibilidade da praga ao inseticida e, também, a possibilidade de integração deste com o principal agente de controle biológico das brocas da cana-de-açúcar, o parasitoide *C. flavipes*. Apenas no Estado de São Paulo, no período de 1977 a 1994, mais de 2 bilhões de parasitoides foram liberados em uma área de aproximadamente 360 mil hectares de cana-de-açúcar (Parra *et al.* 2002). Vale salientar, no entanto, que houve variações entre as idades de lagartas quanto a sobrevivência nas menores concentrações (Fig. 1) e, também, quanto a susceptibilidade medida pela CL_{90} (Tabela 1). A CL_{90} calculada para lagartas neonatas foi quase duas vezes superior àquela calculada para lagartas com 10 dias de idade (Tabela 1). Este resultado pode estar relacionado ao consumo de inseticida mediada pelo maior consumo de dieta em lagartas maiores, bem como, lagartas recém-eclodidas podem ser mais tolerantes que lagartas de idade avançada (Gilbert & Gill 2010).

Efeito do Lufenurom no Desenvolvimento e na Reprodução de *Diatraea flavipennella*. As concentrações de 25, 50 e 100 mg i.a./L foram letais tanto para lagartas neonatas, quanto para lagartas de 10 dias de idade. As lagartas de *D. flavipennella* oriundas destas concentrações apresentaram alterações morfológicas características dos inseticidas reguladores de crescimento. Essas anormalidades morfológicas devem-se provavelmente pela incapacidade das lagartas tratadas em livrarem-se da exocutícula e dificuldade de secretar a endocutícula nova, levando-as a morte (Dhadialla *et al.* 1998).

De modo geral, as menores concentrações do lufenurom 1,562; 3,125 e 6,25 mg i.a./L não provocaram efeitos negativos para as fases larval, pupal e características avaliadas na fase adulta de *D. flavipennella* nas lagartas sobreviventes a estas concentrações, embora alguns estudos com IGRs demonstrem efeitos adversos provocados por subdosagens de inseticidas reguladores de crescimento em diversas espécies de insetos-praga (Correia 2012, Seth *et al.* 2004). No entanto,

vale ressaltar que de acordo com resultados da literatura há variabilidade de resposta entre espécies e inseticidas testados quanto a efeitos subletais, especialmente que *D. flavipennella* apresenta um desenvolvimento larval relativamente longo. Também, considerando os resultados deste estudo com 100% de mortalidade na concentração 25 mg i.a./L de lufenurom para *D. flavipennella* e indícios de efeitos subletais somente a partir da concentração 12,5 mg de i.a./L. Assim, possivelmente lagartas tratadas com concentrações variando entre 12,5 e 25 mg de i.a./L caracterizará tais efeitos subletais. Esta sugestão possui suporte na CL₅₀ determinadas para lagartas neonatas e lagartas com 10 dias de idade que se situam entre estas duas concentrações (Tabela 1), bem como pelo resultado de menor viabilidade de ovos para fêmeas oriundas de lagartas neonatas e com 10 dias de idade tratadas com a CL₅₀ (Tabela 4).

A redução significativa na viabilidade de ovos de fêmeas provenientes de lagartas neonatas e de 10 dias alimentadas com dieta artificial contendo as CL₂₀ e CL₅₀ demonstrou que o lufenurom pode ter provocado ação transovariana em *D. flavipennella*. Além da redução da viabilidade observou-se, também, que alguns destes ovos apresentaram coloração alaranjada três a quatro dias após a sua deposição, que é um aspecto aparentemente normal; porém, por volta do quinto dia tornaram-se murchos e não viáveis, similar ao observado por Pratissoli *et al.* (2003) em ovos de *S. frugiperda*. Estes mesmos autores, constataram que as concentrações 64, 72 e 84 g i.a. ha⁻¹ reduziram a fecundidade e fertilidade de *S. frugiperda*. A ação de redução na viabilidade de ovos de fêmeas oriundas de lagartas expostas ao lufenurom foi também observada em outras espécies de Lepidópteros (Bortoli *et al.* 2006, Silva *et al.* 2011, Adel 2012, Saber *et al.* 2013).

Desempenho do Parasitismo de *Cotesia flavipes* em Lagartas de *Diatraea flavipennella* Tratadas com Lufenurom em Subdosagens. Lagartas de *D. flavipennella* com 10 dias de idade e que sobreviveram ao consumo de dieta tratada com as CL₂₀ e CL₅₀ do lufenurom não afetaram negativamente os parâmetros biológicos avaliados para o endoparasitoide larval *C. flavipes*,

exceto, o período ovo-adulto que foi prolongado em 10 dias. Segundo Parra *et al.* (2002), os principais efeitos subletais provocados por inseticidas em parasitoides são a redução da viabilidade de parasitismo, período de desenvolvimento, longevidade, razão sexual e reprodução. A maioria dos estudos relacionados aos efeitos subletais em parasitoides larvais referem-se a tratamentos por contato residual em adultos ou contato direto em pupas ou larvas do parasitoide com inseticidas. No entanto, estudos relacionados à exposição de parasitoides larvais através do seu hospedeiro intoxicado por inseticidas são raros. Estudos como estes são importantes, visto que nos agroecossistemas podem ser comuns lagartas intoxicadas por subdosagens de inseticidas, devido a variação na deposição destes sobre a superfície a ser consumida pela praga, a idade do inseto, ou ainda, a degradação do inseticida.

Desta maneira, os resultados mostram que lagartas sobreviventes de *D. flavipennella* expostas a concentrações do lufenurom inferior a CL_{50} , determinada neste estudo, podem ser parasitadas com sucesso por *C. flavipes*. A aplicação de inseticidas, em campo, está sob efeito de inúmeras variáveis que podem influenciar a sua eficácia. Uma delas é a sobrevivência da praga alvo devido a sua exposição a subdosagens do produto ou indivíduos com predisposição a resistência. Assim, lagartas sobreviventes, além de continuar ocasionando perdas a produção, podem também ser indivíduos que irão compor uma futura população resistente ao inseticida. Assim, os resultados encontrados neste estudo de interação do inseticida lufenurom e o parasitoide *C. flavipes* no controle de *D. flavipennella* tem importantes implicações práticas no manejo desta praga. Primeiro, por parasitar lagartas sobreviventes e resultar em efeito aditivo do controle químico e biológico. Segundo, a mortalidade de lagartas sobreviventes ao contato com o inseticida pelo parasitismo reduz as chances de seleção de populações resistentes.

Os efeitos letais e subletais do inseticida triflumurom ao parasitoide *C. flavipes* foram estudados por Mena (2010). Quando adultos do parasitoide entraram em contato residual com o

inseticida através de folhas de cana-de-açúcar pulverizadas com 120 ppm do produto comercial (i.e., correspondente a 100, 50 e 10% da concentração recomendada) observou-se mortalidade variando de 17 a 32%, sendo considerado pelos autores como pouco tóxico para adultos do parasitoide. Na avaliação dos efeitos subletais, lagartas de *D. saccharalis* tratadas com a CL₂₅ (1,0 ppm) foram expostas ao parasitismo. Como observado nos nossos resultados, a porcentagem de emergência da geração parental e F₁ não foi afetada pelo tratamento, bem como a mortalidade de larvas e pupas e a razão sexual do parasitoide.

Estudos com diferentes IGRs e parasitoides da praga alvo tem sido conduzidos demonstrando resultados variáveis dependendo da espécie do parasitoide, inseticida e método de exposição (Khan *et al.* 2005, Schneider *et al.* 2008, Saber 2013). Muzeyi & Jembere (2005) encontraram que diflubenzurom não provocou efeitos negativos na viabilidade larval e pupal, porcentagem de emergência, razão sexual e mortalidade de adultos de *C. flavipes* quando parasitando lagartas de *Chilo partellus* (Swinhoe) tratadas com este inseticida, semelhante a metodologia e resultados encontrados em nosso estudo.

Assim, dependendo do parasitoide e do inseticida, apesar da baixa toxicidade, os inseticidas IGRs apresentam resultados variáveis que podem afetar de maneira negativa a população do parasitoide através de efeitos subletais interferindo nos programas de controle biológico de pragas, o que parece não ocorrer com a interação lufeniurom, *D. flavipennella* e *C. flavipes* nas concentrações e metodologia usada neste estudo.

A morfometria da tíbia de *C. flavipes* foi avaliada com o intuito de verificar os potenciais efeitos das concentrações subletais do inseticida presente nas lagartas de *D. flavipennella* na qualidade do parasitoide. A diminuição no tamanho dos parasitoides que pode ser ocasionado por vários fatores, entre eles qualidade do hospedeiro (Silva-Torres *et al.* 2009). Neste estudo, lagartas intoxicadas poderiam refletir em hospedeiro de pior qualidade e resultar em parasitoide menores

e, conseqüentemente, com menor predisposição para voo e acasalamento. Como não foram observadas diferenças entre os tratamentos e a testemunha, supõe-se que o desenvolvimento de *C. flavipes* em lagartas tratadas com as CL₂₀ e CL₅₀ do lufenurom não afetaram a qualidade do parasitoide emergido.

Os resultados encontrados demonstraram que a concentração 12,5 mg i.a./L do lufenurom, inferior a CL₅₀ (Tabela 1), afetou negativamente o peso de pupas fêmea oriundas de lagartas neonatas sobreviventes e que concentrações a partir de 25 mg i.a./L ocasiona 100% de mortalidade de lagartas neonatas e com 10 dias de idade. A CL₅₀ prolongou a fase larval em lagartas de 10 dias de idade. Os efeitos subletais do lufenurom sobre lagartas de *D. flavipennella* são importantes do ponto de vista prático, pois podem contribuir para a redução da população em campo. Adicionalmente, lagartas intoxicadas com subdosagens do lufenurom, que sobreviveram, não foram prejudiciais ao parasitismo por *C. flavipes*. Estes resultados indicam compatibilidade do inseticida com o parasitoide e sugerem que quando utilizados em conjunto, o lufenurom e *C. flavipes* podem obter ação aditiva de controle de *D. flavipennella*.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo a primeira autora deste trabalho; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por suporte financeiro e bolsa de pesquisa aos demais autores.

Literatura Citada

Adel, M.M. 2012. Lufenuron impair the chitin synthesis and development of *Spodoptera littoralis* Bosid (Lepidoptera: Noctuidae). J. Appl. Sci. Res. 8: 2766-2775.

- Araújo, J.R., P.S.M. Botelho, S.M.S.S. Araújo, L.C. Almeida & N. Degaspari. 1985.** Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). *Saccharum APC, Rev. Tecnol. Indust. Açuc. Alcool.* 36: 45-48.
- Bortoli, S.A., R.T. Thuler & B.S. Lopes. 2006.** Efeito de lufenuron e azadiractina sobre adultos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Cientifica* 34: 53-58.
- Botelho, P.S.M. & N. Macedo. 2002.** *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, p. 477-494. In J.R.P Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores.* São Paulo, Manole, 635p.
- Correia, A.A. 2012.** Avaliação de inseticidas sobre a biologia e embriologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e o efeito em *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoide de ovos. Tese de Doutorado, Recife, 75p.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Dhadialla, T.S., G.R. Carlson & D.P. Le. 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 545-569.
- Freitas, M.R.T., A.P.P. Fonseca, E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.L. Mendonça, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2006.** The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the State of Alagoas, Brazil. *Fla. Entomol.* 89: 539-540.
- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L.Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. *Fla. Entomol.* 90: 309-313.
- Gallo, D., O. Nakano, S. SilveiraNeto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. BertiFilho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia agrícola.* Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Garcia, J.F., P.S.M. Botelho & L.P.M. Macedo. 2009.** Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório, p. 200-219. In V.H.P. Bueno (ed.), *Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade.* Lavras, UFLA, 430p.
- Gilbert, L.I. & S.S. Gill. 2010.** *Insect Control: Biological and Synthetic Agents.* New York, USA, Academic Press, 490p.
- Guagliumi, P. 1972/73.** *Pragas da cana-de-açúcar (Nordeste do Brasil).* Instituto do Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro, 622p.

- Hensley, S.D. & A.M. Hammond Jr. 1968.** Laboratory technique for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.* 61: 1742-1743.
- Hivizi, C.L., V.H.P. Bueno, A.C. Silva & L.M. Carvalho. 2009.** Controle de qualidade do parasitoide *Cotesia flavipes*, p. 371-377. In V.H.P. Bueno (ed.), Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras, UFLA, 430p.
- LeOra Software. 2005.** PoloPlus, POLO for Windows, LeOra Software, Petaluma, CA. Disponível em: (www.LeOraSoftware.com).
- MAPA-Agrofit. 2014.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 08/01/2014.
- Mena, E.F.G. 2010.** Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 61p.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A. F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Muzeyi, S.S. & B. Zembere. 2005.** Effects of botanicals a synthetic insecticide and insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes* parasitising the stem-boring moth *Chilo partellus*. *Int. J. Pest Manag.* 51: 25-30.
- Oliveira, H.N., D.F. Glaeser & P.P. Bellon. 2012.** Recomendações para obter um controle biológico mais eficaz da broca da cana-de-açúcar. Dourados, Embrapa Oeste, 8p. (Comunicado Técnico 181).
- Parra, J.R.P., P. Botelho, P., B.S. Corrêa-Ferreira & J. Bento. 2002.** Controle biológico no Brasil: parasitoides e Predadores. São Paulo, Manole, 586p.
- Passos E. M. 2013.** Efeito do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) sobre parâmetros imunológicos e morfofisiológicos em *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Tese de Doutorado, Recife, 72p.
- Pinto, A.S., J.F. Garcia & P.S.M. Botelho. 2006.** Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, p. 65-74. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (org), Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba, FEALQ, 287p.
- Pratissoli, D., F.F. Pereira, Oliveira, H.N. & R.T. Thuler. 2003.** Ação de tebufenozide em *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) e no parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae). *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 2: 120-124.
- Khan, R.R., M. Ashfaq & S.A. Rana. 2005.** Some studies on the toxicity of conventional and new chemistry insecticides against *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) under laboratory conditions. *Pak. Entomol.* 27: 19-21.

- Saber, M. & Z. Abedi. 2013.** Effects of methoxyfenozide and pyridalyl on the larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*. J. Pest. Sci. 86: 685–693.
- Saber, M., E. Parsaeyan, S. Vojoudi, M. BagheriA. Mehrvar& S.G. Kamita. 2013.** Acute toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide and thiodicarb on survival, development and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Crop Prot. 43: 14-17.
- SAS Institute Inc. 1999.** STAT User's guide computer program, version 9.0. By SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schneider, M., G. Smaghe, S. Pineda & E. Viñuela. 2008.** The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): Pharmac. Approach. Ecotoxicol. 17: 181-188.
- Seth. R.K., J.J. Kaur, D.K. Rao & S.E. Reynolds. 2004.** Effects of larval exposure to sublethal concentrations of the ecdysteroid agonists RH-5849 and tebufenozide (RH-5992) on male reproductive physiology in *Spodoptera litura*. J. Insect Physiol. 50: 505–517.
- Silva, C.C. M., E.J. Marques, J. V. Oliveira & E.C.N. Valente. 2012.** Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). Acta Sci. Agron. 34: 23-27.
- Silva, C.C.M. 2013.** Associação de *Cotesia flavipes* (Cam.) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill no controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Tese de Doutorado, Recife, 51p.
- Silva, M.L. & A.F. Mendonça. 1996.** Determinação do sexo em pupas de algumas lepidobrocas da cana-de-açúcar, p. 123-130. In A.F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Silva, O.A.B.N., M. Botton, M.S. Garcia & A. Silva. 2011.** Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre ovos, lagartas e adultos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae). Rev. Bras. Frutic. 33: 420-428.
- Silva-Torres, C.S.A., I.T. Ramos Filho, J.B. Torres & R. Barros. 2009.** Superparasitism and host size effects in *Oomyzus sokolowskii*, a parasitoid of diamondback moth. Entomol. Exp. Appl. 133: 65-73.

Tabela 1. Toxicidade do lufenurom para lagartas neonatas (< 24h de idade) e lagartas com 10 dias de idade de *Diatraea flavipennella*.

| Idade de lagartas | n ¹ | GL ² | Inclinação ³ (±EP) | CL ₂₀ (IC _{95%}) ⁴ | CL ₅₀ (IC _{95%}) | CL ₉₀ (IC _{95%}) | χ ² (5) |
|-------------------|----------------|-----------------|----------------------------------|---|--|--|--------------------|
| Neonata | 420 | 5 | 1,692 (± 0,17) | 5,79 (3,79 - 7,90) | 18,22 (14,24 - 22,94) | 104,22 (74,46 - 166,43) | 1,11 |
| 10 dias | 420 | 5 | 2,436 (±0,26) | 7,48 (5,15 - 9,73) | 16,56 (12,27 - 20,04) | 55,65 (44,08 - 76,42) | 4,46 |

¹Número total de lagartas testadas.

²Grau de liberdade.

³Inclinação da reta ± erro padrão.

⁴CL, concentração letal e intervalo de confiança a 95% de probabilidade em mg i.a./L.

⁵Qui-quadrado (P > 0,05).

Tabela 2. Parâmetros biológicos de *Diatraea flavipennella*, cujas lagartas neonatas e com 10 dias de idade foram alimentadas com dieta artificial tratada com lufenurom em diferentes concentrações. Temp.: $27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

| Tratamentos ¹ (mg i.a./L) | Duração larval (dias) | Duração pupal (dias) | Peso pupal (♀) (mg) | Longevidade das fêmeas (dias) |
|---|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Lagarta neonatas (< 1 dia de idade) | | | | |
| Testemunha ¹ | 48,6 ± 2,18 a | 9,8 ± 0,22 a | 150,8 ± 6,03 a | 6,4 ± 0,50 a |
| 1,562 | 56,8 ± 1,67 a | 9,8 ± 0,26 a | 131,6 ± 3,06 ab | 6,8 ± 0,74 a |
| 3,125 | 54,1 ± 4,03 a | 9,3 ± 0,33 a | 135,0 ± 4,58 ab | 6,3 ± 0,88 a |
| 6,25 | 52,2 ± 5,07 a | 9,4 ± 0,24 a | 130,3 ± 10,26 ab | 6,3 ± 0,88 a |
| 12,5 | 44,3 ± 2,90 a | 9,6 ± 0,33 a | 114,0 ± 2,00 b | 6,0 ± 1,00 a |
| 25,0 | - ² | - | - | - |
| 50,0 | - | - | - | - |
| 100,0 | - | - | - | - |
| Lagartas com 10 dias | | | | |
| Testemunha | 56,3 ± 2,57 a | 9,6 ± 0,25 a | 121,9 ± 6,60 ab | 5,6 ± 0,33 a |
| 1,562 | 57,0 ± 2,63 a | 9,5 ± 0,32 a | 128,8 ± 7,13 ab | 5,2 ± 0,53 a |
| 3,125 | 51,8 ± 2,07a | 9,7 ± 0,27 a | 103,5 ± 5,61 b | 6,3 ± 0,42 a |
| 6,25 | 56,4 ± 2,24 a | 9,9 ± 0,41 a | 112,3 ± 7,61 b | 4,8 ± 0,45 a |
| 12,5 | 54,6 ± 2,86 a | 10,8 ± 0,2 a | 146,0 ± 5,43 a | 5,2 ± 1,18 a |
| 25,0 | - | - | - | - |
| 50,0 | - | - | - | - |
| 100,0 | - | - | - | - |

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

²Dados inexistentes devido a 100% de mortalidade de lagartas durante o desenvolvimento.

Tabela 3. Duração das fases de larva e pupa e respectivas viabilidades (%), peso de pupas fêmea e pupas macho (mg) de *Diatraea flavipennella* de lagartas neonatas e com 10 dias de idade alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações do lufenurom. Temp.: $27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

| Tratamentos ¹ | Duração (dias) | | Peso de pupa (mg) | |
|--------------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| | Larva | Pupa | ♀ | ♂ |
| Lagartas neonatas (< 1 dia de idade) | | | | |
| Testemunha | 48,7 ± 1,35 a (67) | 9,4 ± 0,15 a (67) | 144,7 ± 4,34 a | 80,6 ± 1,89 a |
| CL ₂₀ | 46,5 ± 1,63 a (23) | 9,4 ± 0,16 a (23) | 130,0 ± 4,53 a | 73,0 ± 2,01 a |
| CL ₅₀ | 46,0 ± 1,91 a (18) | 9,6 ± 0,14 a (18) | 130,1 ± 5,45 a | 78,3 ± 2,60 a |
| CL ₉₀ | - ² | - | - | - |
| Lagartas com 10 dias | | | | |
| Testemunha | 51,5 ± 1,15 b (78) | 9,6 ± 0,15 a (78) | 131,5 ± 3,92 a | 75,8 ± 2,63 a |
| CL ₂₀ | 48,7 ± 1,73 b (31) | 9,5 ± 0,14 a (29) | 134,4 ± 5,90 a | 78,6 ± 1,94 a |
| CL ₅₀ | 57,6 ± 2,23 a (25) | 9,4 ± 0,19 a (25) | 138,5 ± 7,48 a | 79,0 ± 3,06 a |
| CL ₉₀ | - | - | - | - |

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey HSD.

²Dados inexistentes devido a 100% de mortalidade de lagartas durante o desenvolvimento.

Tabela 4. Fecundidade, viabilidade de ovos e longevidade de fêmeas de *Diatraea flavipennella*, cujas lagartas neonatas e com 10 dias de idade foram alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações do lufenurom. Temp.: $27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

| Tratamentos | Viabilidade de ovos (%) | No. de ovos/fêmea | Longevidade de fêmeas (dias) |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------------|
| Lagartas neonatas (< 1 dia de idade) | | | |
| Testemunha | $85,0 \pm 2,24$ a | $371,4 \pm 37,66$ a | $6,8 \pm 0,37$ a |
| CL ₂₀ | $70,4 \pm 1,57$ b | $360,4 \pm 43,80$ a | $5,9 \pm 0,18$ a |
| CL ₅₀ | $61,7 \pm 1,83$ c | $349,6 \pm 34,19$ a | $5,9 \pm 0,64$ a |
| CL ₉₀ | - ¹ | - | - |
| Lagartas com 10 dias | | | |
| Testemunha | $82,6 \pm 2,90$ a | $329,3 \pm 25,35$ a | $6,4 \pm 0,33$ a |
| CL ₂₀ | $78,8 \pm 2,94$ ab | $384,7 \pm 30,30$ a | $6,0 \pm 0,71$ a |
| CL ₅₀ | $68,7 \pm 3,49$ b | $329,4 \pm 37,82$ a | $5,7 \pm 0,62$ a |
| CL ₉₀ | - | - | - |

¹Dados inexistentes devido a mortalidade de lagartas durante o desenvolvimento.

²Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey HSD.

Tabela 5. Período ovo-adulto (dias), peso de massas de pupas (mg), emergência (%), número de adultos e comprimento da tíbia (μm) de *Cotesia flavipes* parasitando *Diatraea flavipennella*. Temp.: $27 \pm 1,0$ °C; UR: $68 \pm 11\%$ e fotofase de 12h.

| Tratamentos ¹ | Período ovo-adulto | Peso de massas | Emergência | No. de adultos | Comprimento da tíbia |
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|
| Testemunha | $19,8 \pm 0,7$ a | $41,1 \pm 3,23$ a | $89,3 \pm 2,49$ a | $48,5 \pm 4,58$ a | $3,96 \pm 0,05$ a |
| CL ₂₀ | $24,2 \pm 1,3$ b | $39,3 \pm 3,59$ a | $86,3 \pm 2,61$ a | $38,2 \pm 4,15$ a | $3,94 \pm 0,06$ a |
| CL ₅₀ | $30,6 \pm 2,1$ b | $33,8 \pm 2,93$ a | $87,2 \pm 3,08$ a | $39,5 \pm 4,14$ a | $3,91 \pm 0,04$ a |

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de

Tukey HSD.

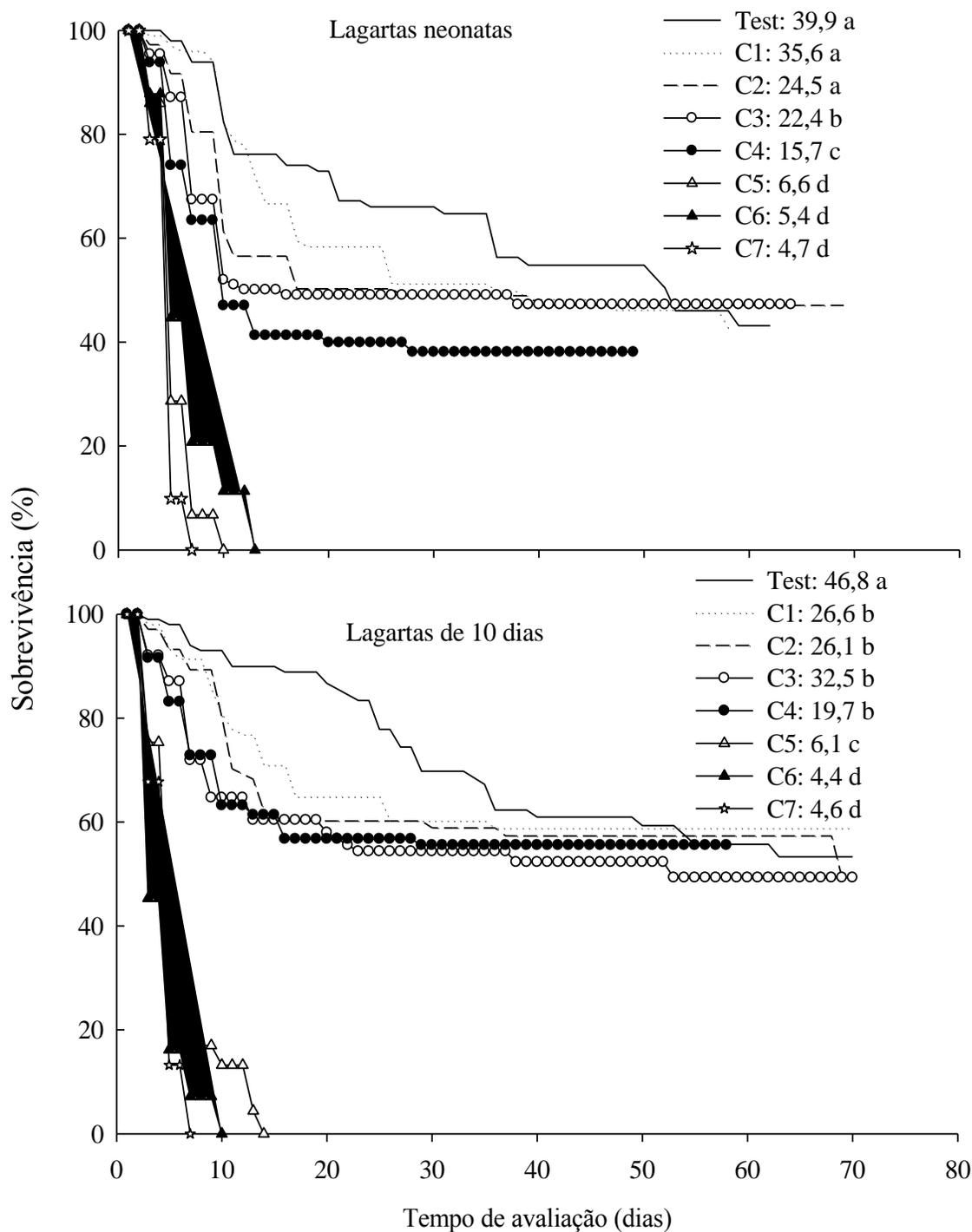


Figura 1. Curvas de sobrevivência de lagartas neonatas e com 10 dias de idade de *Diatraea flavipennella* alimentadas com dieta artificial sem lufenurum (Test.) e com lufenurum nas concentrações (C1 a C7) correspondentes a 1,562; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg i.a/L. Nota: Médias de sobrevivência (em dias até pupação) calculada pelo método Kaplan-Meier, seguidas pela mesma letra, não diferem pelo teste Log-Rank por pares de comparação ($P > 0,05$).