

## BIOLOGICAL CONTROL

### Comparação de Técnicas de Liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Para o Controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)

ALEXANDRE DE S. PINTO<sup>1</sup>, JOSÉ R.P. PARRA<sup>2</sup>, HERALDO N. DE OLIVEIRA<sup>2</sup> E ENRICO D.B. ARRIGONI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Depto. Ciências Agrárias, Centro Universitário Moura Lacerda, C. postal 63, 14085-420, Ribeirão Preto, SP  
email: aspinn@uol.com.br

<sup>2</sup>Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, C. postal 09, 13418-900, Piracicaba, SP

<sup>3</sup>COPERSUCAR, C. postal 162, 13400-970, Piracicaba, SP

---

*Neotropical Entomology* 32(2):311-318 (2003)

#### Comparison of Release Techniques of *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to Control *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)

**ABSTRACT** - We compared five different release techniques of *Trichogramma galloi* Zucchi in the field to control the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius). The tests were carried out in June, November, and December of 1998, in Piracicaba, state of São Paulo. We evaluated the average daily egg parasitism in 25 equidistant infestation sites within 400 m<sup>2</sup> plots artificially infested with *D. saccharalis* eggs, with only one release of parasitoids. The percentage of parasitism and active period of *T. galloi* observed after adults were spread over the plot was similar to that obtained when adults were released in a single place. Besides, no differences were observed between releases of adults or non-protected pupae. However, the techniques using releases of protected pupae were superior to the others and were not affected by the weather conditions. Temperature and rain were the factors that most affected the release efficiency of the other four techniques. The release of protected pupae at three different ages did not increase the active period of the parasitoid. The spatial distribution of *T. galloi* was not affected by the release technique. Regardless of the technique used, the active period of the parasitoid lasted for six days.

**KEY WORDS:** Insecta, biological control, egg parasitoid, sugarcane borer

**RESUMO** - Compararam-se cinco diferentes técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi, no campo, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius). Os ensaios foram realizados em junho, novembro e dezembro de 1998, em Piracicaba, SP, avaliando-se o parasitismo médio diário de ovos, em 25 pontos equidistantes, dentro de parcelas de 400 m<sup>2</sup> infestadas artificialmente com ovos de *D. saccharalis*, a partir de uma única liberação do parasitóide. Não existiram diferenças na porcentagem de parasitismo e tempo de atuação de *T. galloi* entre a liberação de adultos por dispersão e em ponto fixo na área, nem entre a liberação de adultos ou de pupas desprotegidas. Entretanto, a utilização de pupas protegidas mostrou parasitismo maior do que as demais técnicas, não sendo as pupas afetadas pelas condições climáticas. A temperatura e a chuva foram os fatores que mais afetaram a eficiência das liberações nas demais técnicas. A liberação de pupas protegidas de três idades diferentes não aumentou o tempo de atividade do parasitóide, pois independente da técnica utilizada, houve parasitismo durante seis dias. A distribuição espacial de *T. galloi* não foi afetada pela forma de liberação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insecta, controle biológico, parasitóide de ovos, broca-da-cana-de-açúcar

---

O controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi é muito promissor, visto ser tal estágio o fator chave do crescimento populacional da broca-da-cana-de-açúcar. O

parasitóide já vem sendo produzido em larga escala em laboratórios de vários países, inclusive no Brasil, e suas liberações têm mostrado que ele é um eficiente regulador da população da praga (Botelho *et al.* 1995). A liberação de *T.*

*galloi* em cana-de-açúcar, no País, é feita com indivíduos adultos em pontos fixos da cultura (Botelho *et al.* 1995), sendo que outras técnicas, revisadas por Smith (1994), ainda não foram testadas. A forma de liberação é muito importante, pois pode influenciar a eficiência do parasitóide e sua capacidade de localização do hospedeiro (Bigler *et al.* 1997). Smith & Wallace (1990), em florestas no Canadá, ao testarem a liberação de pupas protegidas de *T. minutum*, distribuídas na área ou em ponto fixo, concluíram que ambas as formas proporcionam a mesma longevidade, razão sexual, fecundidade e emergência do parasitóide, além de uma distribuição uniforme.

Embora exista um alto potencial de controle de *D. saccharalis* através de *T. galloi* (Botelho *et al.* 1999), são poucos os trabalhos relacionados à comparação de técnicas de liberação. Assim este trabalho teve por objetivo verificar a eficiência do parasitóide *T. galloi*, liberado a partir de diferentes técnicas, na cultura da cana-de-açúcar, infestada artificialmente com ovos de *D. saccharalis*.

### Material e Métodos

Todos os ensaios foram conduzidos em plantações comerciais de cana-de-açúcar, no município de Piracicaba, SP. Os dados climáticos foram obtidos na Estação Meteorológica do Depto. de Ciências Exatas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP, situada a cerca de 5 km do lote experimental. A broca-da-cana utilizada nos ensaios foi criada e mantida nos Laboratórios de Biologia de Insetos do Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/ USP e no Laboratório de Entomologia da Cooperativa dos Plantadores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (COPERSUCAR). Duas linhagens do parasitóide *T. galloi* (“Copersucar” e “Sidrolândia”) foram criadas e mantidas somente na primeira instituição.

O parasitóide *T. galloi* foi criado sobre o hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller), utilizando-se a metodologia de Parra (1997). A cada quatro gerações no hospedeiro alternativo, os parasitóides eram criados, por uma geração, em ovos do hospedeiro natural, *D. saccharalis*. A broca-da-cana foi criada em duas dietas artificiais, uma à base de farelo de soja e germe de trigo (King & Hartley 1985) e a outra à base de soja e levedura de cerveja (Hensley & Hammond 1968, modificada), conforme metodologias propostas por Parra *et al.* (1993) e Parra (1996).

Realizaram-se três experimentos (Tabela 1) para testar técnicas de liberação de *T. galloi* em campo para o controle de *D. saccharalis*. A infestação artificial com ovos da broca-da-cana foi feita diariamente, durante sete dias, como descrito por Lopes *et al.* (1989), em parcelas de 400 m<sup>2</sup>, formadas por 25 pontos de infestação equidistantes. Diariamente, as gaiolas eram transferidas das folhas onde estavam para uma outra ao lado, na mesma touceira, e novas fêmeas da broca eram confinadas, deixando-se as posturas expostas ao parasitismo.

Foi realizada apenas uma liberação do parasitóide 24h após a primeira infestação com ovos da broca. As posturas ficaram expostas ao parasitismo por 24h, após a transferência das gaiolas, sendo estas retiradas todos os dias, cortando-se as folhas em que elas se encontravam e acondicionando-as em

Tabela 1. Época, linhagem do parasitóide e dados da cultura da cana-de-açúcar utilizados nos diferentes experimentos de parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi*. Usina Iracema, Piracicaba, SP, 1998.

Ensaio	Instalação <sup>1</sup>	Linhagem do parasitóide	Dados da cultura (variedade, idade, estágio fenológico)
1	17/06/98	“Copersucar”	‘SP80-1816’ sete meses de idade cana-planta ‘SP79-2333’
2	26/11/98	“Copersucar”	oito meses de idade cana-soca (1 <sup>o</sup> corte) ‘SP79-2333’
3	16/12/98	“Sidrolândia”	nove meses de idade cana-soca (1 <sup>o</sup> corte)

<sup>1</sup>Data da primeira infestação artificial com ovos de *D. saccharalis*

sacos plásticos. As folhas eram levadas ao laboratório e mantidas em câmara climatizada regulada a 25 ± 1°C, 80 ± 10% de U.R. e fotofase de 14h, durante cinco dias, período este suficiente para manifestação do parasitismo (escurecimento de ovos). As posturas coletadas que apresentaram mais de 90% dos ovos predados foram desprezadas.

As técnicas de liberação de *T. galloi* no campo utilizadas foram as seguintes: (1) liberação de adultos (copinho plástico contendo adultos emergidos com 12h de idade) por dispersão; (2) liberação de adultos, em ponto fixo e central dentro da parcela; (3) liberação de pupas, aderidas a cartões, não protegidas, cujos ovos tinham sido parasitados no mesmo dia (pupas de mesma idade), em ponto fixo e central; (4) liberação de pupas (mesma idade), em cartões, protegidas, em ponto fixo e central e; (5) liberação de pupas, em cartões, protegidas, cujos ovos tinham sido parasitados em três dias consecutivos (pupas de idades diferentes), em ponto fixo e central.

Para a liberação de adultos por dispersão, os parasitóides foram distribuídos pela parcela, através de caminhamento em “X”, onde os mesmos eram forçados a sair do recipiente, através de leves batidas no fundo desse. Na liberação de adultos de *T. galloi* em ponto fixo, os copinhos (com adultos, contendo gotículas de mel para alimentação) foram presos entre as folhas do terço superior da planta. Para a liberação de pupas em ponto fixo, cartões de cartolina azul contendo ovos de *A. kuehniella* parasitados, colados com goma arábica diluída (50%), foram presos diretamente nas plantas, como descrito anteriormente. No caso de pupas protegidas, foi adotado o mesmo procedimento, com a diferença de que os cartões foram acondicionados em uma caixa de cartolina verde, de 10x10x0,8 cm, ficando a parte externa protegida por uma camada de parafina, com pequenas perfurações (0,7 mm de diâmetro) em um dos lados, realizadas de dentro para fora, para a saída dos parasitóides, protegendo-se, assim, as pupas contra a ação de predadores e da chuva. No caso da liberação de pupas de idades diferentes, pedaços de cartolina contendo ovos de *A. kuehniella*, parasitados em três dias diferentes, foram colocados dentro da caixa de cartolina parafinada descrita anteriormente, na proporção de 33,33%

de pupas de 11 dias, 33,33% de pupas de 10 dias e 33,33% de pupas de nove dias de idade. A emergência de *T. galloi* ocorre a partir do 11º dia, a 25°C (Parra & Sales Jr. 1994).

Antes da instalação dos experimentos, ainda em laboratório, o material a ser liberado foi avaliado quanto ao número médio de ovos parasitados por cm<sup>2</sup>, pelo método proposto por Lopes *et al.* (1989). Pequenos pedaços dos cartões com pupas de *T. galloi* foram recortados, colocados em tubos de vidro e mantidos em condições ambientais para avaliação da viabilidade e data de emergência.

A contagem do número de ovos (total e parasitados) foi realizada sob microscópio estereoscópico. Desta forma, foi possível estimar a porcentagem de parasitismo e o tempo de permanência do parasitóide no campo, para as diferentes técnicas testadas. Como os ovos de *D. saccharalis* eram renovados diariamente e não havia parasitóides no campo, a taxa de parasitismo diária serviu como indicador da presença (permanência) do parasitóide no campo.

O número total de ovos contados nas folhas levadas ao laboratório foi acrescido da quantidade média de ovos existentes nas gaiolas, pois as mariposas aí também realizavam posturas. Para tanto, foram recolhidas, ao acaso, 25 gaiolas, após o término do ensaio, e levadas ao laboratório para contagem dos ovos postos na tela e na armação das mesmas. A soma destes valores foi adicionada ao número total de ovos obtidos em cada parcela experimental para o cálculo da relação parasitóide:ovo real.

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

A distribuição espacial de *T. galloi*, dentro da área de 400 m<sup>2</sup>, foi analisada com base nas porcentagens médias de parasitismo, obtidas nas diferentes distâncias do ponto central, para as cinco técnicas de liberação estudadas.

Adotou-se o delineamento estatístico de blocos casualizados para os testes de técnicas de liberação. Cada técnica de liberação foi considerada um tratamento e cada distância do ponto central um bloco, totalizando cinco tratamentos e seis repetições. Os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade e, se paramétricos, aplicou-se a análise de variância pelo teste F e as médias foram transformadas, quando necessário, e comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ); se não paramétricos, aplicou-se a análise de variância pelo teste de Friedman e as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $P \leq 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

No primeiro experimento, em junho de 1998, existiram diferenças significativas entre as diferentes técnicas utilizadas (Fig. 1). A quantidade média de ovos, obtida em cada parcela experimental, foi de 22.592 ovos/400 m<sup>2</sup>, ou seja, o equivalente a 564.800 ovos/ha, durante toda a semana, e a relação parasitóide:ovo foi, em média, de 1,55:1 (Tabela 2), ocorrendo significativas variações climáticas no período de estudo (Fig. 2).

No primeiro dia após a liberação de *T. galloi*, a porcentagem média de parasitismo, observada para as diferentes técnicas, foi baixa, sendo aquelas resultantes de adultos liberados por dispersão e em ponto fixo e pupas protegidas, de um dia de idade, significativamente maiores (Fig. 1). Seguindo a mesma tendência, o parasitismo foi quase nulo no segundo dia, para

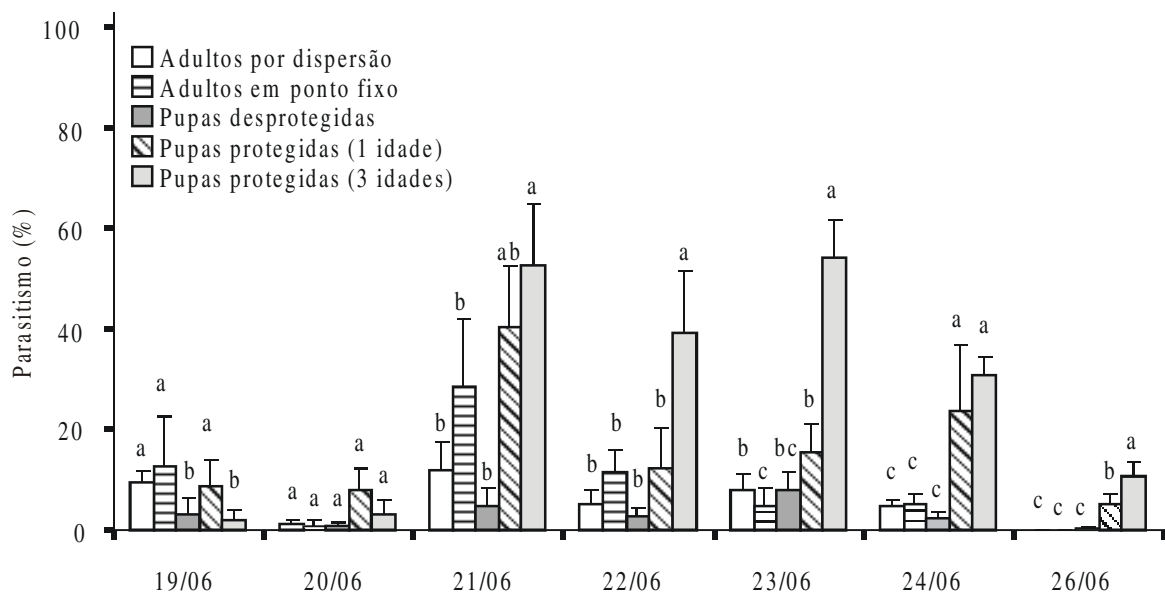


Figura 1. Porcentagem média ( $\pm$  erro-padrão) de parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi* (linh. "Copersucar"), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante sete dias, em junho de 1998. Var. SP80-1816 (cana-planta), sete meses de idade. Piracicaba, SP, 1998. Transformação dos dados: dias 22, 23 e 24 - raiz ( $x+10$ ); dias 20 e 26 - log ( $x+1$ ). Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelos testes de Tukey (dias 20 a 26) ou Student-Newman-Keuls (dia 19) ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Número total de ovos de *D. saccharalis* e relação parasitóide:ovo obtidos nas parcelas experimentais das diferentes técnicas testadas, nos três ensaios. Piracicaba, SP, 1998.

Técnica de liberação	Número de ovos obtidos <sup>1</sup>						Relação parasitóide:ovo		
	1º ensaio		2º ensaio		3º ensaio		1º ensaio <sup>2</sup>	2º ensaio <sup>3</sup>	3º ensaio <sup>4</sup>
	400 m <sup>2</sup>	hectare	400 m <sup>2</sup>	hectare	400 m <sup>2</sup>	hectare			
Adultos por dispersão	23.559	588.975	10.256	256.400	18.022	450.550	1,49	2,44	1,78
Adultos em ponto fixo	23.475	586.875	7.291	182.275	17.470	436.750	1,49	3,43	1,83
Pupas desprotegidas	21.695	542.375	8.390	209.750	20.699	517.475	1,61	2,98	1,55
Pupas protegidas, uma idade	20.889	522.225	13.548	338.700	15.893	397.325	1,67	1,85	2,01
Pupas protegidas, três idades	23.344	583.600	12.040	301.000	22.580	564.500	1,50	2,08	1,18
Médias	22.592	564.810	10.305	257.625	18.933	473.320	1,55	2,56	1,67

<sup>1</sup>Valores acrescidos do número médio de ovos colocados nas paredes das gaiolas

<sup>2</sup>Liberação de 35.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400 m<sup>2</sup>) (emergência de ± 90%)

<sup>3</sup>Liberação de 25.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400 m<sup>2</sup>) (emergência de ± 82%)

<sup>4</sup>Liberação de 32.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400 m<sup>2</sup>) (emergência de ± 88%)

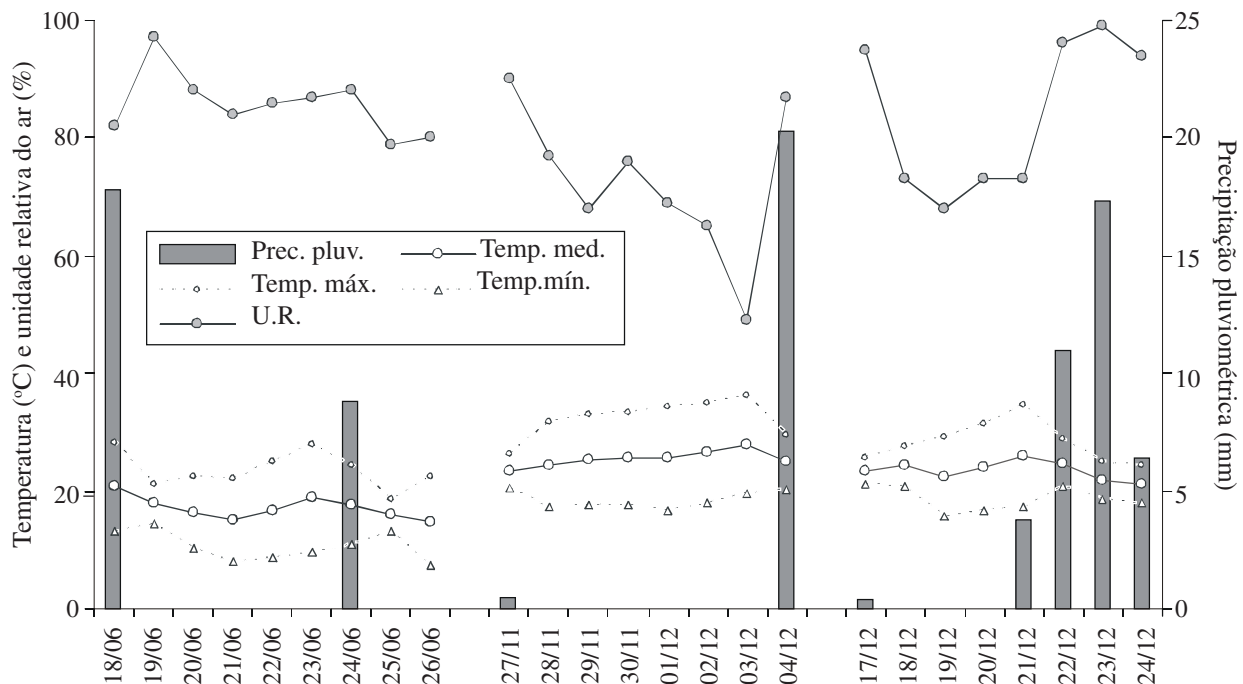


Figura 2. Temperaturas mínima, máxima e média (°C), precipitação pluviométrica (mm) e umidade relativa do ar (%) no período em que foram conduzidos os experimentos de liberação de *T. galloi*, nos meses de junho, novembro e dezembro de 1998, em Piracicaba, SP.

todas as técnicas de liberação (Fig. 1).

O baixo parasitismo observado nos dois primeiros dias foi diferente dos resultados obtidos por Lopes & Parra (1991) e Cônsoli & Parra (1996), em laboratório, pois esses autores encontraram os maiores valores de parasitismo neste período. Isso pode ser explicado pela ocorrência de chuva (17,8 mm) algumas horas após a liberação dos parasitóides, e pela queda da temperatura, no segundo dia ( $\pm 17^{\circ}\text{C}$ ), o que provavelmente reduziu a atividade dos inimigos naturais (Fig. 2). A ocorrência de chuva, logo após a liberação dos parasitóides, e a predação eliminaram cerca de 80% das pupas que estavam aderidas ao

cartão desprotegido, refletindo na diminuição da eficiência, conforme comentado por Smith (1994).

A partir do terceiro dia da instalação do ensaio, as temperaturas máximas registradas foram crescentes, ocorrendo maior atividade dos adultos de *T. galloi*, assim como observado para outras espécies por Biever (1972), e o parasitismo aumentou para todas as técnicas, sendo significativamente maior para aquela resultante de pupas protegidas (Fig. 1). A partir daí, o parasitismo foi diminuindo em todas as parcelas, com exceção daquela em que se testou liberação de pupas protegidas, com três idades diferentes,

que devido à sua característica de liberar adultos gradativamente no ambiente, garantiu a constância no parasitismo até o último dia (Fig. 1). De forma análoga, e em menor escala, a proteção das pupas, de uma idade, também permitiu que os adultos permanecessem mais tempo no campo. De modo geral, o decréscimo no parasitismo, a partir do terceiro dia, coincide com os resultados obtidos por Lopes & Parra (1991) e Cônsoli & Parra (1996).

As baixas temperaturas que ocorreram até o terceiro dia após a liberação (Fig. 2) atrasaram a emergência dos parasitóides na técnica de pupas de três idades, que só ocorreu no final do quarto dia (21/06). Esse fato garantiu aos últimos parasitóides recém-emergidos um período mais favorável, com dias mais quentes, sem chuvas e com alta umidade relativa do ar (Fig. 2), fatores que contribuíram para que esta técnica diferisse das demais, até o oitavo dia após a liberação (Fig. 1).

Não existiram diferenças significativas na distribuição do parasitismo na área, entre as diferentes técnicas de liberação de *T. galloi* (Fig. 3).

Resultados diferentes dos anteriores foram obtidos no

segundo experimento, de novembro, não existindo, desta vez, diferenças estatísticas significativas entre as porcentagens médias de parasitismo obtidas através das cinco técnicas de liberação (Fig. 4). A quantidade média de ovos foi de 10.305/400 m<sup>2</sup>, valor equivalente a 257.625 ovos/ha. A relação parasitóide:ovo foi, em média, de 2,55:1 (Tabela 2), superior ao primeiro ensaio, com elevadas temperaturas no período (Fig. 2).

Pôde-se observar que, numericamente, o parasitismo foi crescente até o terceiro dia, diminuindo lentamente a partir daí para todas as técnicas (Fig. 4). A obtenção de ovos de *D. saccharalis* nesse período foi dificultada pela baixa umidade relativa do ar e altas temperaturas (Fig. 2), causando a morte de muitas mariposas e, conseqüentemente, perdas de pontos de infestação nas parcelas. Isto comprometeu as avaliações de parasitismo do quinto (poucos pontos) e sexto (nenhum ponto) dias, pois a falta de ovos, aliada à predação dos mesmos, causou parasitismo nulo na última data.

A emergência dos parasitóides na técnica de pupas protegidas, com três idades, se concentrou nos dois primeiros dias, devido às altas temperaturas registradas, sendo que o primeiro lote começou a emergir no momento da liberação

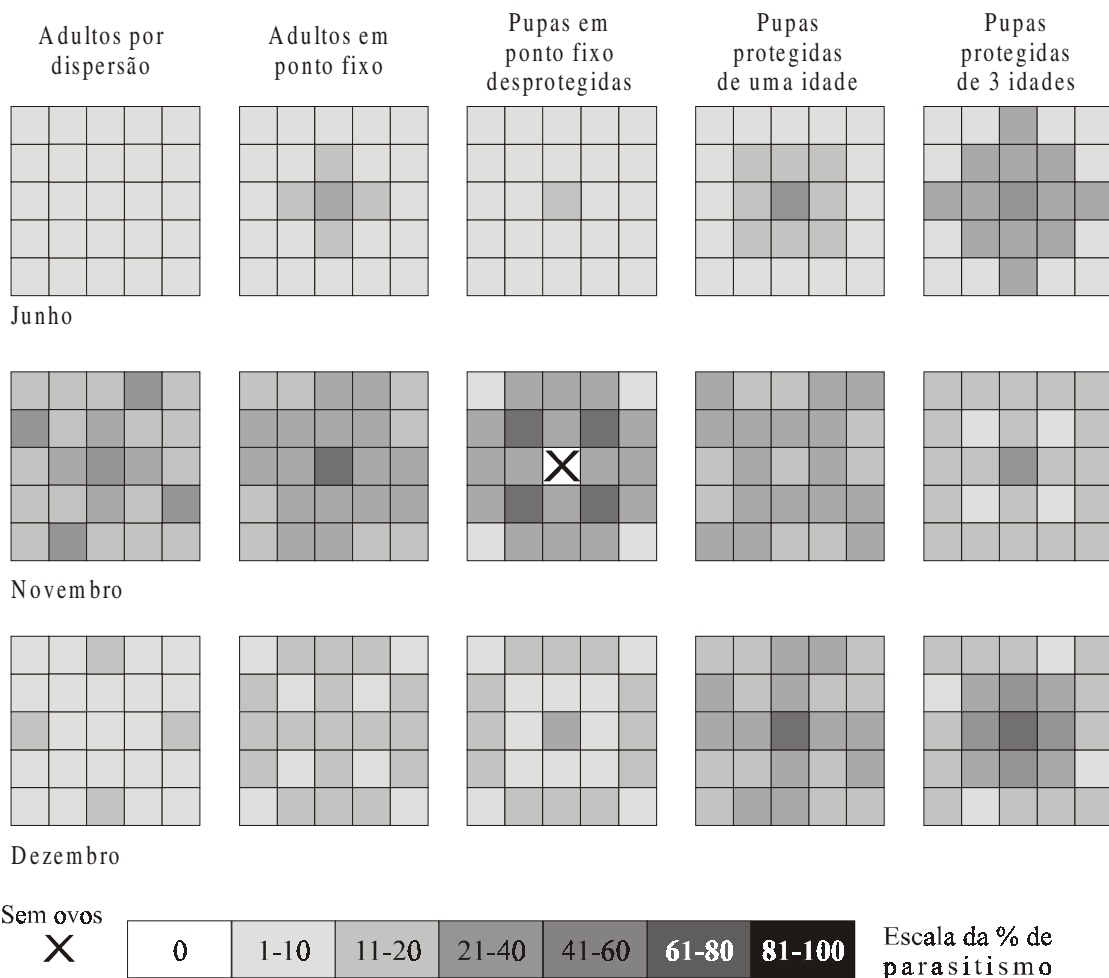


Figura 3. Porcentagem média diária de parasitismo por *T. galloi* (com base em escala proposta), nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, durante uma semana, nos ensaios de junho, novembro e dezembro. Piracicaba, SP, 1998. As médias obtidas não diferiram entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).



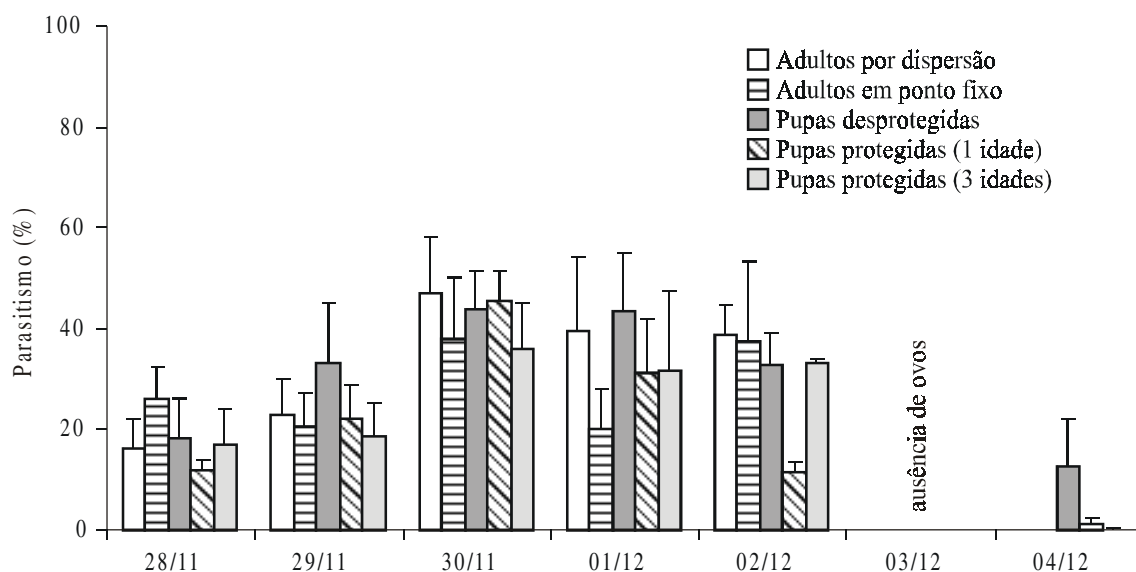


Figura 4. Porcentagem média ( $\pm$  erro-padrão) de parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante sete dias, em novembro de 1998. Var. SP79-2233 (cana-soca), oito meses de idade. Piracicaba, SP, 1998. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos pelos testes de Tukey (dias 29 a 2) ou Student-Newman-Keuls (dias 28 e 4) ( $P \leq 0,05$ ).

(27/11), o segundo pela manhã de 28/11 e o terceiro 12h após o anterior. Esse fator contribuiu para que não houvesse diferença no tempo de atuação do parasitóide entre esta técnica e as demais, diferente do que havia ocorrido no experimento de junho (1<sup>o</sup> ensaio). A emergência de *T. galloi* no cartão com pupas desprotegidas ocorreu durante o primeiro dia após a liberação, não existindo, desta forma, o efeito da predação e das chuvas, as quais foram escassas, se comparadas com o experimento anterior (Fig. 2).

Embora, numericamente, o parasitismo tenha sido melhor distribuído pela área na técnica de pupas desprotegidas, não houve diferenças estatísticas significativas entre os métodos de liberação (Fig. 3).

No terceiro experimento, em dezembro, ocorreram diferenças significativas na porcentagem de parasitismo entre as cinco técnicas de liberação (Fig. 5). A quantidade média de ovos foi de 18.833/400 m<sup>2</sup>, o equivalente a 473.320 ovos/ha, e a relação parasitóide:ovo foi, em média, de 1,67:1

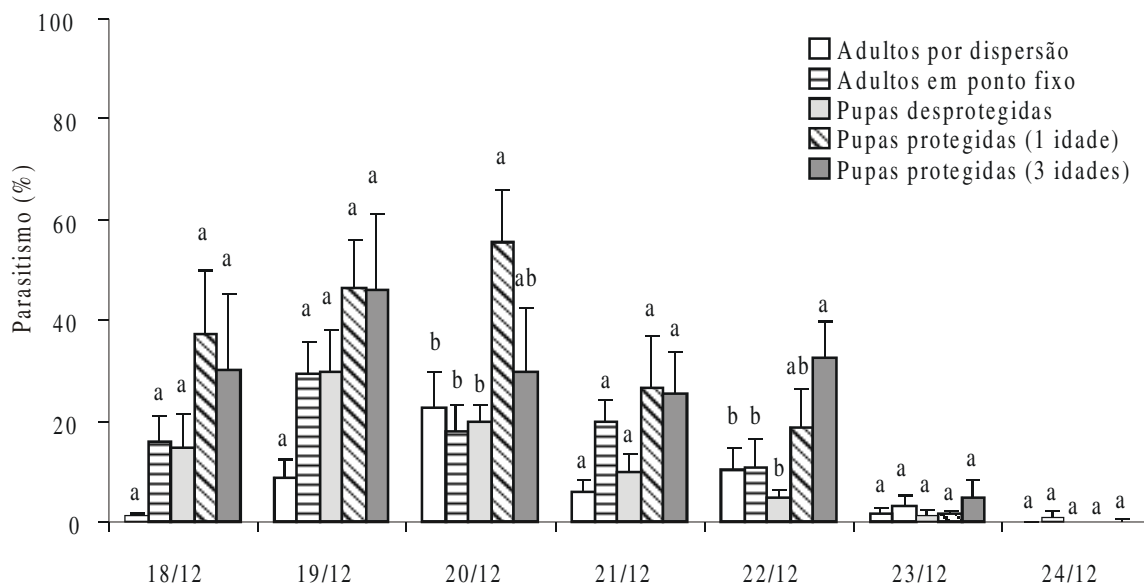


Figura 5. Porcentagem média ( $\pm$  erro-padrão) de parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi* (linh. “Sidrolândia”), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante sete dias, em dezembro de 1998. Var. SP79-2233 (cana-soca), nove meses de idade. Piracicaba, SP, 1998. Dados transformados: dias 22 a 24 -  $1/\text{raiz}(x+1)$ ; dia 18 -  $\log(x+1)$ . Barras seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

(Tabela 2). Houve uma grande variação climática no período de estudo, à semelhança do primeiro ensaio (Fig. 2), sendo, porém, a temperatura média mais alta.

A porcentagem média de parasitismo foi crescente até o terceiro dia após a liberação dos parasitóides e não houve diferenças significativas entre as técnicas nos dois primeiros dias (Fig. 5). No terceiro dia, o parasitismo obtido pela técnica de liberação de pupas protegidas, de uma idade, foi o maior registrado no ensaio e diferiu significativamente dos demais. No quinto dia, as maiores porcentagens de parasitismo foram obtidas pelas técnicas de pupas protegidas, sendo que a de três idades diferentes foi significativamente superior às demais formas de liberação (Fig. 5).

A emergência dos parasitóides atrasou, na técnica de pupas com três idades diferentes, observando-se adultos emergindo no dia da liberação, no dia seguinte (18/12) e no início do quarto dia (20/12). Apesar de o parasitismo obtido nesta técnica ter sido superior ao das demais, o atraso na emergência não prolongou o tempo de atuação dos parasitóides, como observado no experimento de junho (1º ensaio) (Figs. 1 e 5), provavelmente devido às chuvas que ocorreram a partir do quarto dia da liberação dos adultos (Fig. 2).

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

A umidade relativa do ar esteve abaixo de 80% durante quase todo o experimento (Fig. 2). Entretanto, essa condição não afetou a obtenção de ovos da mariposa, como no ensaio anterior, pois o solo se encontrava muito úmido, consequência de muitas chuvas registradas na semana anterior (precipitação pluviométrica acumulada de 106,1 mm), criando um microclima ideal para a oviposição.

A proteção das pupas, de três idades, proporcionou maior parasitismo nos pontos de infestação mais próximos do local de liberação dos parasitóides; entretanto, não foram constatadas diferenças significativas entre as técnicas (teste de Tukey,  $P \leq 0,05$ ) (Fig. 3).

Em todos os experimentos, não houve parasitismo natural nas parcelas experimentais e, portanto, os dados referentes à quantidade de ovos obtidos e porcentagem de parasitismo não foram incluídos nas tabelas e figuras correspondentes.

Analisando os resultados observados nos três experimentos, pôde-se constatar que quando o clima foi favorável ao parasitismo de ovos por *T. galloi*, a técnica de liberação utilizada não interferiu na eficiência de controle, tempo de atuação e distribuição do parasitóide. Isso indica que o clima é um fator muito importante para o sucesso de uma técnica de liberação, principalmente a temperatura e a precipitação pluviométrica, conforme já registrado para outras espécies do gênero *Trichogramma* (Smith 1996).

A umidade relativa do ar não interferiu na porcentagem

de parasitismo e nem no tempo de atuação do parasitóide, concordando com Boldt (1974), o contrário ocorrendo para a oviposição de *D. saccharalis*, que foi comprometida. Provavelmente, o estágio fenológico das plantas seja mais importante para a eficiência de parasitismo do que a própria umidade relativa do ar, pois plantas bem desenvolvidas, provavelmente, mantenham um microclima mais favorável para a atuação do parasitóide.

A porcentagem de parasitismo registrada nos experimentos, de maneira geral, foi muito baixa. O cálculo do número de parasitóides a ser liberado, para se atingir a relação ideal parasitóide-ovo, foi feito estimando-se o número total de ovos colocados durante sete dias. Entretanto, considerando-se que essa quantidade total de ovos foi oferecida diariamente, durante toda a semana, às fêmeas de *T. galloi*, de forma parcelada, a relação parasitóide:ovo 24h após a liberação, para o primeiro, segundo e terceiro ensaios, passa a ser de 10,85:1, 15,30:1 e 11,69:1, respectivamente. É possível que o excesso de fêmeas no ambiente tenha provocado a redução na capacidade de parasitismo das mesmas, como observado por McCravy & Berisford (1998), para *Trichogramma* spp. É claro que essa relação para o primeiro dia não é válida para a liberação de pupas de três idades.

Esse fato não prejudicou a comparação entre as técnicas de liberação, pois todas apresentaram relações parasitóide:ovo muito próximas, mas pode ter dado a falsa idéia de que *T. galloi* não é eficiente como agente de controle biológico. Além disso, o parasitismo foi avaliado diariamente após exposição dos ovos ao parasitismo por 24h, metodologia esta diferente das utilizadas em outros ensaios no mundo, que deixavam os ovos expostos por mais tempo, realizando-se menor número de avaliações (Botelho *et al.* 1995, Botelho *et al.* 1999).

Independente da técnica de liberação utilizada e da eficiência no controle de ovos de *D. saccharalis*, *T. galloi* permaneceu no campo, após sua liberação, durante seis dias. As técnicas que protegiam as pupas garantiram maior tempo de atuação dos parasitóides em campo no inverno, atingindo oito dias após a liberação no 1º ensaio, com parasitismo diário ao redor de 10% (Fig. 1).

O presente estudo testando diferentes técnicas de liberação de *T. galloi* em cana-de-açúcar, para o controle de *D. saccharalis*, mostraram que a eficiência no parasitismo em campo varia em função da técnica adotada. A dispersão dos adultos proporcionou a mesma eficiência do que a liberação dos adultos em ponto fixo, analisando-se os parâmetros porcentagem de parasitismo, tempo de permanência e distribuição na área (Figs. 1, 3, 4 e 5), resultados estes coincidentes com os relatos de Smith & Wallace (1990).

Não foram constatadas diferenças significativas entre a utilização de adultos e de pupas desprotegidas (Figs. 1, 4, e 5). Isso indica que a liberação de adultos recém-emergidos no ambiente não aumenta a eficiência da liberação, e ao contrário, pode ser prejudicial, pois o transporte deste material até o campo deve ser realizado com muito cuidado, devido à grande sensibilidade dos adultos ao calor excessivo.

Por outro lado, a proteção de pupas mostrou ser uma tática importante, levando a um maior parasitismo do que as demais técnicas. Essa tática proporcionou maior segurança quanto às possíveis variações térmicas ou

ocorrência de chuvas após as liberações, pois forneceu aos parasitóides um abrigo contra as condições climáticas adversas e, provavelmente, contra a predação.

A utilização de pupas protegidas, com diferentes idades, apresentou, de maneira geral, os mesmos resultados do que aqueles obtidos com pupas de uma idade, não evidenciando, nesse estudo, melhora alguma no tempo de atuação do parasitóide em campo, como era de se esperar.

A distribuição do parasitismo na área não foi afetada pela técnica de liberação utilizada. A maior concentração do parasitismo nas áreas próximas ao ponto de liberação, na técnica de pupas protegidas, de três idades, ocorreu devido à emergência de parasitóides durante vários dias neste local.

Algumas das diferenças observadas entre os três experimentos podem também estar ligadas às diferentes linhagens de *T. galloi* utilizadas, bem como às variedades de cana-de-açúcar, que foram diferentes e se encontravam em estádios fenológicos distintos.

### Literatura Citada

- Biever, K.D. 1972.** Effect of temperatures on the rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. *Environ. Entomol.* 1: 194-197.
- Bigler, F., B.P. Suverkropp & F. Cerutti. 1997.** Host searching by *Trichogramma* and its implications for quality control and release techniques, p. 240-253. In D.A. Andow, D.W. Ragsdale & R.F. Nyvall (eds.), *Ecological interactions and biological control*. Boulder, Westview Press, 333p.
- Boldt, P.E. 1974.** Temperature, humidity, and host: effect on rate of search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67: 706-708.
- Botelho, P.S.M., J.R.P. Parra, E.A. Magrini, M.L. Haddad & L.C.L. Resende. 1995.** Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Sci. Agric.* 52: 65-69.
- Botelho, P.M.S., J.R.P. Parra, J.F. das Chagas Neto & C.P.B. Oliveira. 1999.** Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. *An. Soc. Entomol. Brasil* 28: 491-496.
- Cônsoli, F.L. & J.R.P. Parra. 1996.** Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 89: 828-834.
- Hensley, S.D. & A.H. Hammond. 1968.** Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.* 61: 1742-1743.
- King, E.G. & G.G. Hartley. 1985.** *Diatraea saccharalis*, p. 265-270. In P. Singh & R.F. Moore (eds.), *Handbook of insect rearing*. New York, Elsevier, 329p.
- Lopes, J.R.S. & J.R.P. Parra. 1991.** Efeito da idade de ovos do hospedeiro natural e alternativo no desenvolvimento e parasitismo de duas espécies de *Trichogramma*. *Rev. Agric.* 66: 221-244.
- Lopes, J.R.S., J.R.P. Parra, J. Justi Jr. & H.N. Oliveira. 1989.** Metodologia para infestação artificial de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em cana-de-açúcar visando estudos com *Trichogramma* spp. *An. ESALQ* 46: 375-390.
- McCraevy, K.W. & C.W. Berisford. 1998.** Parasitism by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to nantucket pine tip moth (Lepidoptera: Tortricidae) egg density and location. *Environ. Entomol.* 27: 355-359.
- Parra, J.R.P. 1996.** Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. 3.ed. Piracicaba, FEALQ, 137p.
- Parra, J.R.P. 1997.** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p. 121-150. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Parra, J.R.P. & O. Sales Jr. 1994.** Biology of *Trichogramma galloi* Zucchi reared on natural and factitious hosts under different temperatures and relative humidities. *Les Colloques de l'INRA* 73: 95-99.
- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, S.B. Alves & E.A. Magrini. 1993.** Controle biológico da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis*: projeto piloto para produção de *Baculovirus anticarsia*, visando ao seu controle. Piracicaba, PCLQ, 8p. (Boletim Técnico, 3).
- Smith, S.M. 1994.** Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control lepidopterous pests, p.113-144. In E. Wajnberg & S.A. Hassan (eds.), *Biological control with egg parasitoids*, Wallingford, CAB International, 286p.
- Smith, S.M. 1996.** Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annu. Rev. Entomol.* 41: 375-406.
- Smith, S.M. & D.R. Wallace. 1990.** Ground systems for releasing *Trichogramma minutum* Riley in plantation forests. *Mem. Entomol. Soc. Can.* 153: 31-37.