

## Aspectos comportamentais do parasitoide *Cotesia flavipes* produzido em laboratório no litoral norte paraibano

Behavioral aspects of the parasite *Cotesia flavipes* produced in a laboratory on the north coast of Paraíba

Aspectos del comportamiento del parásito *Cotesia flavipes* producido en un laboratorio en la costa norte de Paraíba

Recebido: 04/02/2021 | Revisado: 07/02/2021 | Aceito: 17/02/2021 | Publicado: 24/02/2021

### **Roberto Balbino da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4105-7858>  
Universidade Federal da Paraíba, Brasil  
E-mail: balbinorobert@hotmail.com

### **Italo de Souza Aquino**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7948-8760>  
Universidade Federal da Paraíba, Brasil  
E-mail: italo.aquino@terra.com.br

### **Péricles de Farias Borges**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3585-1342>  
Universidade Federal da Paraíba, Brasil  
E-mail: pericles@cca.ufpb.br

### **Alex da Silva Barbosa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7343-6134>  
Universidade Federal da Paraíba, Brasil  
E-mail: aldasibarbosa@cchsa.ufpb.br

### **Geovergue Rodrigues de Medeiros**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6544-1518>  
Instituto Nacional do Semiárido, Brasil  
E-mail: geovergue.medeiros@insa.gov.br

### **Thiago de Sousa Melo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1862-9571>  
Universidade Federal da Paraíba, Brasil  
E-mail: tsm2@academico.ufpb.br

### **Resumo**

Dentre os múltiplos aspectos que perpassam pelo controle biológico e sustentável na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), este estudo privilegia os aspectos comportamentais de *Cotesia flavipes* produzidas em laboratório no litoral norte paraibano, mais especificamente no município de Mamanguape, com o objetivo de avaliar o comportamento da produção em laboratório para melhor desempenho em campo. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Produção Massal de Controle Biológico (LPMCB) da Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN) e realizados em delineamento inteiramente casualizado, em salas climatizadas com temperaturas de 21, 25 e 29 °C, umidade relativa do ar variando de 70±10% e fotofase de 12 horas. Foram utilizadas 34 lagartas (repetição) para cada temperatura, avaliando-se as seguintes variáveis biológicas: durações de ovo-larva; duração de pupa; adultos; quantidade de casulos por lagarta, viabilidade de pupas; razão sexual nas três temperaturas e a eficiência entre manipuladores masculino e feminino. Os resultados obtidos no presente estudo enaltecem que os aspectos comportamentais de parasitoides produzidos em laboratório apresentam diferenças entre as temperaturas controladas. Infere-se que a amostra de parasitoide apresenta padrões aceitáveis para os parâmetros analisados.

**Palavras-chave:** Aspectos comportamentais; Cana-de-açúcar; Controle biológico; Produção massal.

### **Abstract**

Among the multiple aspects that permeate the biological and sustainable control in the sugarcane (*Saccharum officinarum*) culture, this study focus on the behavioral aspects of the laboratory-produced *Cotesia flavipes* in the north coast of Paraíba, more precisely in the city of Mamanguape, with the purpose to evaluate the laboratory produced behavior for better field performance. The experiments were carried out at the Mass Production of Biological Control Laboratory (MPBCL) of the Paraíba Sugarcane Growers Association (PSGA) and performed in a completely randomized design, in rooms with a controlled Temperature of 21, 25 and 29 °C, relative air humidity ranging from 70±10% and 12 hours photophase. 34 Caterpillars (repetition) were used for each temperature, evaluating the following biological variables: egg-larva duration; pupae duration; adults; number of cocoons per caterpillar; pupae viability; sex

ratio at the three temperatures and efficiency among male and female manipulators. The results obtained in the research emphasize that the behavioral aspects of laboratory-produced parasitoids present difference among the controlled temperatures. It is inferred that the parasitoid sample presents acceptable standards for the analyzed parameters.

**Keywords:** Behavioral aspects; Sugarcane; Biological control; Massal production.

### Resumen

Entre los múltiples aspectos que pasan por el control biológico y sustentable en el cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), este estudio privilegia los aspectos conductuales de *Cotesia flavipes* producidos en laboratorio en la costa norte de Paraíba, más específicamente en el municipio de Mamanguape, con el objetivo de evaluar la comportamiento de la producción de laboratorio para un mejor rendimiento de campo. Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Producción Masiva de Control Biológico (LPMCB) de la Asociación de Plantadores de Caña de Azúcar de Paraíba (ASPLAN) y se llevaron a cabo en un diseño completamente al azar, en salas climatizadas con temperaturas de 21, 25 y 29 °C, humedad relativa que van desde el 70±10% y la fotofase de 12 horas. Se utilizaron 34 orugas (repetición) para cada temperatura, evaluando las siguientes variables biológicas: duración huevo-larva; duración de la pupa; adultos; cantidad de capullos por oruga, viabilidad de la pupa; proporción de sexos en las tres temperaturas y la eficiencia entre manipuladores masculinos y femeninos. Los resultados obtenidos en el presente estudio destacan que los aspectos conductuales de los parasitoides producidos en el laboratorio difieren entre temperaturas controladas. Se infiere que la muestra de parasitoides presenta estándares aceptables para los parámetros analizados.

**Palabras clave:** Aspectos conductuales; Caña de azúcar; Control biológico; Producción en masa.

## 1. Introdução

No cenário internacional, o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), com uma produção estimada em 620.832 milhões de toneladas na safra 2018/2019 (UNICA, 2019). As regiões norte e nordeste do país possui uma produção de cana-de-açúcar de aproximadamente 47.707 milhões de toneladas, representando cerca de 8% de toda a produção nacional (UNICA, 2019). No Nordeste, a Paraíba é destaque na produção de cana-de-açúcar, estando em terceiro lugar, com Alagoas e Pernambuco ocupando as posições de primeiro e segundo lugares, respectivamente (CONAB, 2019). Na safra 2018/2019, a Paraíba processou 5.675.107,870 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, sendo destinadas 118 mil toneladas à produção de açúcar, e para etanol com 382 mil m<sup>3</sup> (IBGE, 2019).

A cana-de-açúcar é fonte de alimento para mais de 80 espécies de insetos, cuja *Diatraea saccharalis* é a principal praga à cultura (Pinto, et al., 2006). Porém, das 21 espécies de *Diatraea* no continente americano, apenas *D. saccharalis* e *D. flavipennela* (Box, 1931) possuem importância econômica, sendo essa última com predominância na região Nordeste e no estado do Rio de Janeiro (Mendonça et al., 1996).

Quanto ao controle biológico da *D. saccharalis*, já se sabe que este método é uma promissora alternativa para substituir o controle químico contra a broca. De fato, a utilização de *C. flavipes* é inerente aos programas de redução da densidade populacional de algumas espécies de lepidópteros-praga, particularmente da família Crambidae (Polaszek & Walker, 1991; Parra, 2002; Cruz, 2007). No âmbito internacional, o agronegócio tem a responsabilidade de preservar o meio ambiente e, através dos avanços tecnológicos pela entomologia brasileira, tem possibilitado a multiplicação do parasitoide *C. flavipes* desde 1974, cujo estado de Alagoas foi pioneiro no cenário nacional (Macedo et al., 1983).

Pesquisas sobre a utilização de parasitoides no controle biológico da *D. saccharalis* têm considerável relevância devido a grande extensão de área no cultivo da cana-de-açúcar no Brasil. Dos quase 11 milhões de hectares plantados, o estado da Paraíba se destaca com aproximadamente 119 mil hectares (IBGE, 2019).

Em geral, os laboratórios produtores de *C. flavipes* não seguem um protocolo de controle de qualidade para criação massal, cujos parâmetros avaliados para mensurar a qualidade dos insetos produzidos são restritos à mobilidade dos adultos (capacidade de voo), razão sexual e coloração das massas das pupas produzidas (Vacari et al., 2012). A variabilidade genética das populações é importante em programas de controle biológico. Porém, este conhecimento é predominantemente teórico, tendo poucos trabalhos realizados em nível de campo (Smaniotto, 2016).

Para Wajnberg (2009), atributos comportamentais de variação genética intraespecífica interferem diretamente na eficácia do controle biológico, demonstrando a importância da variabilidade genética para agentes no controle biológico. A eficácia da atuação do parasitoide diz respeito à capacidade de localizar e atacar o hospedeiro, objetivando que a maioria dos hospedeiros seja parasitada (Benedini, 2006). Essa variabilidade genética é afetada em função da produção dos parasitoides em laboratório de forma massal para liberação em campo, representando um obstáculo à manutenção da qualidade na criação (Prezotti et al., 2004).

Os estudos acerca do controle de qualidade de *C. flavipes* costumam ser realizados em insetários das usinas de cana-de-açúcar, baseando-se em vigor e aspectos das massas (casulos), razão sexual e agressividade do inseto adulto (Prezotti et al., 2002). Os testes conduzidos Hivizi et al. (2009) para avaliação da qualidade de *C. flavipes*, privilegiam parasitismo e fecundidade, emergência e razão sexual, longevidade de adulto e sobrevivência em diferentes temperaturas.

A partir desse prisma delineado da cultura de cana-de-açúcar e das iniciativas científicas de controle biológico de pragas, essa pesquisa objetiva avaliar aspectos comportamentais e ciclo de vida de *Cotesia flavipes* produzidas em laboratório com vistas ao controle biológico da *Diatraea saccharalis*.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Área experimental

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Produção Massal de Controle Biológico (LPMCB), da Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN), no litoral norte da Paraíba, no município de Mamanguape.

Para efeito de pesquisa, a mensuração das massas – conjunto de pupas em casulos agrupados por fios de seda de *Cotesia flavipes* criada em lagartas de *Diatraea saccharalis* de uma criação comercial – diz respeito ao uso da dieta artificial recomendada por Hensley e Hammond (1968), com modificações propostas por Parra e Mishfedt (1992), além de diretrizes adotadas pela ASPLAN.

### 2.2 Influência da temperatura na biologia e no ciclo de vida de *Cotesia flavipes*

Os indivíduos de população de *C. flavipes* foram obtidos a partir da criação comercial de lagartas de *D. saccharalis* em potes plásticos (6,5 cm de diâmetro e 8 cm de altura), fechados com papel filtro, com orifício na tampa para a saída individual dos parasitoides para a realização do parasitismo nas lagartas de *D. saccharalis* (colocadas próximas ao orifício). Após 8 horas da emergência de *C. flavipes* e a partir do 4º (quarto) instar de desenvolvimento, as lagartas de *D. saccharalis* foram oferecidas para o parasitismo e, em seguida, colocadas individualmente em caixas entomológicas (6,5 cm de diâmetro e 2 cm de altura), contendo dieta de realimentação para o desenvolvimento de *C. flavipes*.

Os experimentos foram realizados de modo casualizado, em salas climatizadas com temperatura de 21, 25 e 29 °C, umidade relativa do ar variando de 70±10% e fotofase de 12 horas. Foram utilizadas 34 lagartas (repetição) para cada temperatura. Em cada temperatura foram avaliadas as seguintes variáveis biológicas: duração de ovo-larva; duração de pupa; adultos; quantidade de casulos por lagarta; viabilidade de pupas; e a razão sexual. Ao iniciarem a fase de pupa (24 horas), as larvas de *C. flavipes* foram transferidas para potes plásticos (100 mL) com tampas, para seu completo desenvolvimento, permanecendo até a morte.

Em cada fase (ovo-larva, pupa e adultos) foram realizadas avaliações diárias. Após a morte, foram contabilizadas a razão sexual e a viabilidade de pupa. A separação por sexo foi baseada em características morfológicas das antenas, sendo menores nas fêmeas (Wilkinson, 1928). A coloração diferencia as pupas que deram origem a adultos, pois a emergência apresenta coloração mais escura em comparação às pupas que deram origem a adultos. Em relação à emergência de *C. flavipes* por massa, os lotes da linha de produção foram separados aleatoriamente, cuja amostra é compatível com os resultados obtidos para fêmeas

e machos no ciclo de vida. Decorridos aproximadamente 12 dias, os lotes foram transferidos à sala de revisão para coletas de massa com pinças, em copos plásticos com tampa de 100 mL.

As massas foram colocadas em tubo de fundo chato (8 cm de altura e 3 cm de largura), fechado com papel filtro e cola, considerando um tubo com uma massa (repetição), sendo 34 repetições para cada tratamento. Esse procedimento foi realizado em salas climatizadas com as temperaturas controladas em 21, 25 e 29 °C. Após as emergências das *C. flavipes*, as mesmas permaneceram nestas condições até a morte e início das análises. Após a morte dos insetos foi possível mensurar o total de casulos por massa (viabilidade) e os insetos emergidos. A diferenciação de pupas que deram origem a adultos ocorreu em função da abertura feita pelo parasitoide no casulo e sua coloração – clara (com emergência) e escura (sem a emergência de adultos).

### 2.3 Longevidade de *Cotesia flavipes* adultos

Para determinar a longevidade de adultos de *C. flavipes* foram coletadas as massas nos lotes da linha de produção, individualizados em potes plásticos (100 ml), colocados em salas climatizadas até a emergência dos adultos. Em seguida, esses insetos foram submetidos a um ambiente com temperaturas de 21, 25 e 29 °C, com umidade relativa do ar em 70±10% e fotofase de 12 horas. Isto porque cada temperatura representa um tratamento com 34 repetições (massa/pote).

As avaliações ocorreram em intervalos de 8 e 16 horas, respectivamente, com tempos na duração dos experimentos em 24, 32, 48, 56, 72 e 80 horas, sendo realizadas revisões às 7:00h e às 16:00h para avaliar a sobrevivência dos insetos em cada temperatura.

### 2.4 Razão sexual e quantidade de *Cotesia flavipes* por copo

Seguindo os procedimentos para a obtenção da “massa”, os experimentos foram realizados de janeiro a junho de 2019, analisando-se mensalmente seis copos plásticos (100 mL) contendo 25 “massas” cada, sendo seis repetições para cada tratamento (mês), acomodados entre 5 e 7 dias em salas climatizadas com temperatura de 25 °C, até a emergência completa dos adultos.

Em seguida, foi utilizado etanol 90° C embebido em algodão e colocados na tampa, através de um orifício para forçar a morte dos insetos. As fêmeas e os machos foram separados para contabilizar a quantidade de insetos por copo em cada repetição, utilizando uma bandeja plástica (40 cm x 20 cm) e pinças para durante o procedimento de contagem dos parasitoides.

### 2.5 Armazenamento de *Cotesia flavipes* adultos em baixas temperaturas

Foram testados adultos de *C. flavipes*, após oito horas de emergidos, para assegurar a cópula, em temperatura de 3 a 6 °C. Foram utilizados sete copos com 10 massas cada um, armazenados em geladeira de marca Consul® 480 litros. Para avaliar a capacidade de parasitar de *C. flavipes*, utilizou-se os tempos de armazenamento em geladeira por 16, 24, 40, 48, 64, 72 e 80 horas.

Em seguida, foi retirado um copo contendo adultos de *C. flavipes* para determinada hora da análise, mantidos em sala climatizada em 21 °C por 30 minutos. Posteriormente, esses parasitoides foram transferidos para sala de inoculação climatizada (26 °C). O parasitismo foi procedido da seguinte forma: as *C. flavipes* saíram pela abertura de um orifício na tampa do copo para parasitar a lagarta de *D. saccharalis* – uma por lagarta.

As lagartas parasitadas foram mantidas em sala climatizada (28 °C) até a formação das massas, agrupadas em seis lagartas por placa acrílica, com dieta de realimentação, totalizando sete repetições por cada tratamento. Após 24 horas da formação das massas, as mesmas foram retiradas com pinça e colocadas em copos plásticos até seu desenvolvimento completo.

Em relação à avaliação da capacidade de parasitar, contabilizaram-se as lagartas que deram origem a massa em relação às que se transformaram em pupa. Por sua vez, para o tempo de armazenagem de adultos, manteve-se uma testemunha, com

adultos de *C. flavipes* acomodados em sala climatizada (26 °C) e, oito horas após emergência, foram oferecidas a lagarta de *D. saccharalis*, nas mesmas condições após o armazenamento dos copos em geladeira.

## **2.6 Eficiência de armazenamento de *Cotesia flavipes* na geladeira em temperatura de 3 °C, com descanso antes do parasitismo**

Para avaliar a capacidade de parasitar, depois de armazenadas em geladeira por 16, 24, 40, 48, 64, 72 e 80 horas, os ensaios para analisar a sobrevivência, capacidade de parasitar e eficiência de adultos de *C. flavipes* seguiram os tempos de descanso fora da geladeira com 8 e 16 horas (os adultos dos copos retirados da geladeira pela manhã eram submetidos a parasitar a lagarta de *D. saccharalis* à tarde do mesmo dia); já os copos retirados à tarde, os adultos foram submetidos a parasitar na manhã seguinte.

Um copo da geladeira era retirado em cada tempo de avaliação (16, 24, 40, 48, 64, 72 e 80 horas), com os adultos mantidos por 8 ou 16 horas em temperatura ambiente (26 °C). Em seguida, analisados visualmente para identificar se estavam vivos e, posteriormente, submetidos a parasitar a lagarta de *D. saccharalis*.

Após o parasitismo, as lagartas ficaram em placas acrílicas (8 cm de diâmetro por 2 cm de altura), em sala climatizada (28 °C), por um período de aproximadamente 14 dias para verificação da eficiência, sendo usada a dieta artificial de Hensley e Hammond (1968), modificada por Parra e Mishfedt (1992) e alterada por diretrizes da ASPLAN.

## **2.7 Eficiência de inoculação entre gêneros de *Cotesia flavipes***

Para verificar possíveis ocorrências de variações de eficiência na inoculação entre os manipuladores na produção comercial do parasitoide *C. flavipes*, uma lagarta foi oferecida para cada fêmea de *C. flavipes*, sendo avaliados os manipuladores de ambos os sexos (masculino/feminino) no período de 15 meses – maio 2018 a julho 2019.

A avaliação da eficiência nos lotes com 3.600 lagartas inoculadas por *C. flavipes* ocorreu em caixa entomológicas, com grupos de seis, à base da dieta de realimentação (pedaço de 1 cm<sup>3</sup> por caixa), transferidos para sala de lagartas, inoculadas com temperatura de 28 °C e permanecendo por até 14 dias para realizar a revisão.

As lagartas que deram origem as massas foram contabilizadas em *lagartas mortas* e *pupa*, obtendo-se a eficiência ao final de cada revisão de lote, através da divisão do total de lagartas (que deram origem à massa) pelo total de lagartas inoculadas. A média final de cada mês foi utilizada como sendo uma repetição de ambos os manipuladores.

## **2.8 Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) e Bartlett (Snedecor & Cochran, 1989), quanto à normalidade e à homogeneidade de variâncias, respectivamente. Os dados de longevidade de *C. flavipes* armazenadas em geladeira e do seu ciclo de vida foram submetidos a uma análise descritiva. Para os dados de longevidade foram utilizadas as percentagens de sobrevivência, enquanto o número de dias de cada estágio do ciclo de vida do animal foi usado para obter os dados de ciclo de vida.

Os demais dados coletados foram submetidos à análise estatística mediante a análise de variância e, em casos com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de *Student-Newman-Keuls*, com 5% de probabilidade. Para todos os testes, utilizou-se programa estatístico *Cloud Radio Access Networks* (CRAN), versão 2019.

### 3. Resultados

#### 3.1 Influência da temperatura na biologia e no ciclo de vida de *Cotesia flavipes*

Os dados referentes à influência da temperatura na biologia da *C. flavipes* nos três tratamentos e nas cinco variáveis pesquisadas estão dispostos na Tabela 1.

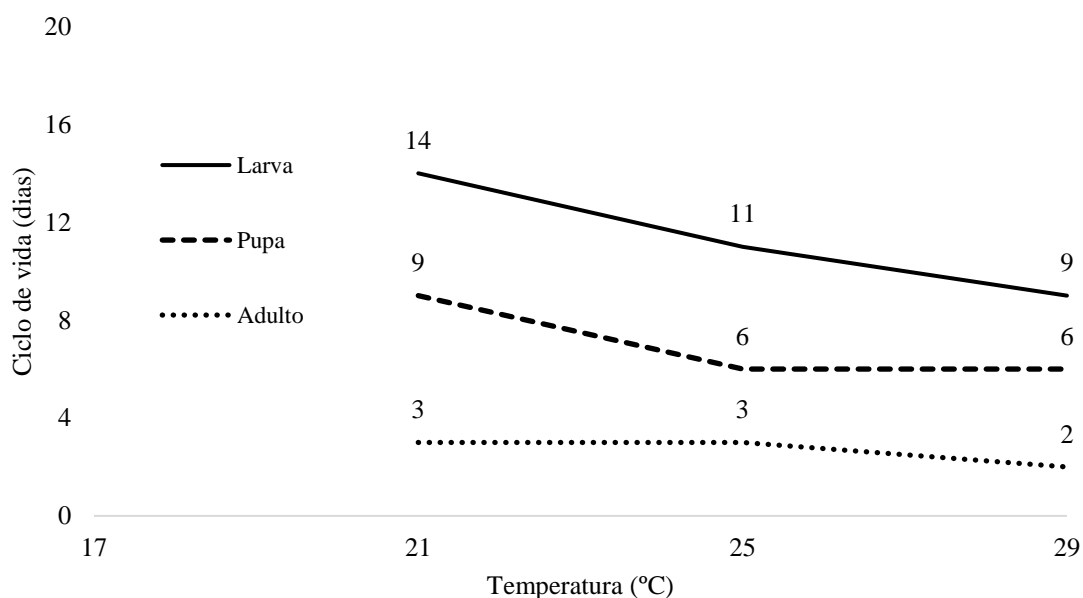
**Tabela 1.** Influência da temperatura na biologia da *Cotesia flavipes*.

Temperatura (°C)	Variáveis ± Erro Padrão				
	Casulos	Emergidos	Não Emergidos	Fêmeas	Machos
21	83,12±5,63 <sup>a</sup>	74,09±5,78 <sup>a</sup>	9,03±1,43 <sup>a</sup>	54,97±6,09 <sup>a</sup>	19,12±3,91 <sup>b</sup>
25	85,62±5,18 <sup>a</sup>	78,88±5,11 <sup>a</sup>	6,74±0,82 <sup>a</sup>	58,59±5,74 <sup>a</sup>	20,29±4,00 <sup>b</sup>
29	93,32±5,58 <sup>a</sup>	90,29±5,78 <sup>a</sup>	3,12±0,59 <sup>b</sup>	58,03±6,37 <sup>a</sup>	32,26±4,36 <sup>a</sup>
CV%	36,52	40,03	93,30	61,02	99,17
<i>p-value</i>	0,350	0,095	0,004	0,797	0,033

<sup>ab</sup>= Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Student-Newlman-Keuls; CV%= Coeficiente de variação. (Tratamento 1= 21 °C; 2 = 25 °C; e 3 = 29 °C). *p*=probabilidade. (Temperatura = Tratamento). Fonte: Autores.

Em relação à influência da temperatura na biologia de *C. flavipes*, as variáveis foram analisadas em quatro categorias: (i) total de casulos por inseto, (ii) total de emergência por massa de casulo, (iii) total de casulo que os adultos não emergiram e (iv) fêmea e macho, através de três temperaturas distintas: 21, 25 e 29 °C. Em todas as médias foram calculados seus respectivos erros padrões.

**Figura 1.** Ciclo de vida de *Cotesia flavipes* em temperaturas distintas.



Fonte: Autores.

Na temperatura de 21 °C, apenas 10,86% dos casulos não eclodiram. Dentre os parasitoides eclodidos, a maioria foi fêmea (74,19%). Quanto à temperatura de 25 °C, de uma população de 85,62 casulos, em torno de 78,88 eclodiram (92,12%), enquanto 6,74 não eclodiram (7,88%). Dentre os parasitoides que eclodiram, a maioria foi fêmea (74,28%) e a minoria macho (25,72%). No tocante à temperatura de 29 °C, dentre os 93,32 casulos, a eficiência de eclosão foi de 96,75% (90,29 casulos), ou seja, apenas 3,25% não eclodiram (3,12 casulos). Dentre os parasitoides que eclodiram, um total de 58,03 foram fêmeas (64,27%), enquanto



32,26 são machos (35,73%). Observa-se, portanto, que a temperatura exerce significativa influência no ciclo de vida de *C. flavipes* (Figura 1).

### 3.2 Longevidade de adulto de *Cotesia flavipes*

Na temperatura de 21 °C, quanto à sobrevivência dos insetos, verifica-se que até 72 horas, a maioria da amostra permanece viva (64,71%), sendo que das 24 às 56 horas toda a população de parasitoide estava viva (100%). Mas, a partir de 80 horas de experimento, ainda na temperatura de 21 °C, o percentual de adultos sobreviventes decaiu para 35,29% (Tabela 2). A temperatura de 25 °C representa o resultado intermediário com sobrevivências dos adultos de 100% até 56 horas, reduzindo para 41,18% após 72 horas e, em seguida, com 80 horas de longevidade, não há nenhum adulto vivo (Tabela 2). Por fim, a uma temperatura de 29 °C, todos os insetos estavam vivos até 32 horas e apresentaram uma queda acentuada de sobreviventes a partir das 48 horas com 15,65%, às 56 horas com 2,94% e com 72 e 80 horas, a mortalidade de 100% de todos os parasitoides adultos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Percentual (%) de adultos de *Cotesia flavipes* vivos em função de temperatura e tempo.

Temperatura (°C)	Tempo em horas (h)					
	24	32	48	56	72	80
21	100,00	100,00	100,00	100,00	64,71	35,29
25	100,00	100,00	100,00	100,00	41,18	0,00
29	100,00	100,00	17,65	2,94%	0,00	0,00

Fonte: Autores.

Dentre as três temperaturas pesquisadas (Tabela 2), em relação à longevidade de adulto *C. flavipes*, a população de parasitoides adultos apresenta os melhores índices aos 21 °C e, por outro lado, a maior taxa de mortalidade corresponde à temperatura de 29 °C.

### 3.3 Razão sexual e quantidade de *Cotesia flavipes* por copo (embalagem)

De janeiro a junho de 2019 efetuou-se ensaios com a população de *C. flavipes* para especificar a razão sexual e mensurar o quantitativo de parasitoide por copo. O resultado obtido no mês de março apresenta a menor população durante todo o período da pesquisa. A explicação para a redução da amostra remete à possível contaminação de alguns ingredientes da dieta. Isso porque, no mês de março, a amostra permanece abaixo de 1.500 insetos (1.399,33 parasitoides).

Por outro lado, nos demais meses da pesquisa, o universo é superior a 1.500 adultos de *C. flavipes*: janeiro, 1.805,67 (1.249,83 fêmeas; 555,67 machos); junho, 1.735,17 (1.155,67 fêmeas; 578,33 machos); fevereiro, 1.656,83 (1.169,00 fêmeas; 488,00 machos); abril, 1.722,00 (1.184,67 fêmeas; 537,33 machos); e maio, 1.610,33 (1.130,83 fêmeas; 471,83 machos) [Tabela 3].

**Tabela 3.** Média mensal de *Cotesia flavipes* por embalagem (copo) e a razão sexual.

Período	Variáveis ± Erro Padrão				
	Copo	Fêmea	Macho	% Macho	% Fêmea
Janeiro	1805,67±85,65 <sup>a</sup>	1249,83±108,26 <sup>a</sup>	555,67±37,36 <sup>ab</sup>	31,29±2,77 <sup>a</sup>	68,71±2,77 <sup>a</sup>
Fevereiro	1656,83±106,12 <sup>a</sup>	1169,00±92,59 <sup>a</sup>	488,00±44,92 <sup>ab</sup>	29,60±2,54 <sup>a</sup>	70,40±2,54 <sup>a</sup>
Março	1399,33±110,24 <sup>a</sup>	1024,17±69,46 <sup>a</sup>	375,17±65,38 <sup>b</sup>	26,32±2,98 <sup>a</sup>	73,68±2,98 <sup>a</sup>
Abril	1722,00±90,44 <sup>a</sup>	1184,67±75,45 <sup>a</sup>	537,33±43,58 <sup>ab</sup>	31,25±1,92 <sup>a</sup>	68,75±1,92 <sup>a</sup>
Mai	1610,33±109,97 <sup>a</sup>	1130,83±119,44 <sup>a</sup>	471,83±39,14 <sup>ab</sup>	29,93±3,38 <sup>a</sup>	70,07±3,38 <sup>a</sup>
Junho	1735,17±111,14 <sup>a</sup>	1155,67±100,30 <sup>a</sup>	578,33±26,57 <sup>a</sup>	33,70±1,73 <sup>a</sup>	66,30±1,73 <sup>a</sup>
CV%	15,21	20,37	21,70	21,12	9,20
<i>p-value</i>	0,121	0,697	0,036	0,51	0,51

<sup>ab</sup>= Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Student-Newlman-Keuls; CV%= Coeficiente de variação. (Período = Tratamento). Fonte: Autores.

Observa-se que a maioria dos parasitoides *C. flavipes* é fêmea (Tabela 3), aproximadamente 70% da amostra, sendo inferior em janeiro (68,71%), abril (68,57%) e junho (66,30%); enquanto em fevereiro (70,40%), março (73,68%) e maio (70,07%) apresentou índices superiores a 70%.

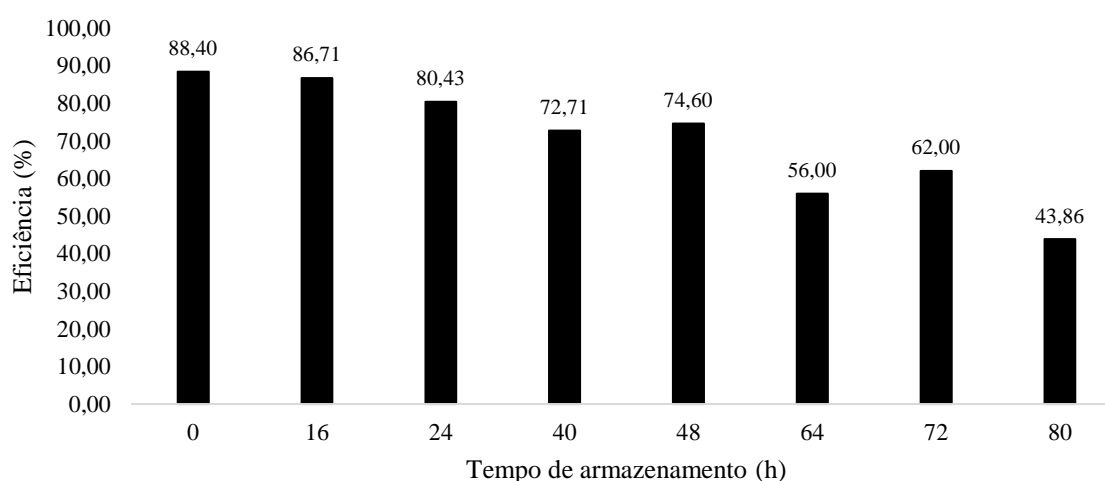
### 3.4 Armazenamento de adultos de *Cotesia flavipes* em baixas temperaturas

Para se obter o índice de eficiência de inoculação do parasitoide *C. flavipes*, após ficar armazenado em geladeira, sem descanso, com temperatura ambiente, no decorrer das 80 horas, verificou-se que o melhor resultado obtido com o armazenamento foi em 16 horas (86,71%), próximo aos valores encontrados para testemunha.

Até 48 horas, a amostra permaneceu com eficiência acima do valor de referência (70%), através da razão de massa obtida em função do total de lagartas inoculadas: 16 horas (86,71%), 24 horas (80,43%), 40 horas (72,71%) e 48 horas (74,60%); por outro lado, manteve-se abaixo de 70% com 64 horas (56%) e 72 horas (62%).

Os percentuais de eficiência de inoculação com adulto de *C. flavipes* armazenados em baixas temperaturas (3 °C), tiveram oito intervalos de tempo distintos (0, 16, 24, 40, 48, 64, 72 e 80 horas) (Figura 2).

**Figura 2.** Eficiência de *Cotesia flavipes* adulto armazenado em geladeira (CV=5,92; *p*=0,0001).



Fonte: Autores.

Com o passar das horas, verifica-se que o percentual de eficiência diminui, com exceção de dois intervalos de tempo: 48 horas (74,60%) e 72 horas (62,00%), apresentando uma pequena elevação em relação às 40 horas (72,71%) e às 64 horas (56,00%).

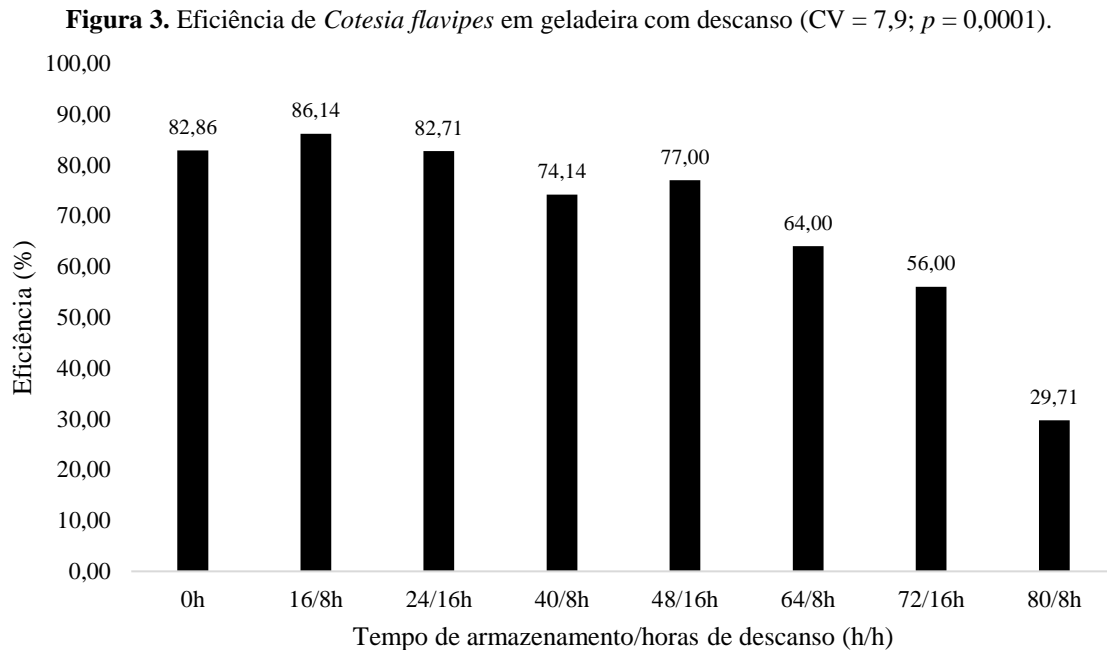


Cabe destacar que, em decorrência do valor de referência ser estipulado em 70%, torna-se inviável manter os insetos vivos por mais de 48 horas para inoculação em larva de *D. saccharalis* no laboratório ou liberação em campo, mesmo que armazenados em geladeira.

### 3.5 Eficiência no armazenamento de *Cotesia flavipes* em geladeira, com descanso antes do parasitismo

Em relação à eficiência de armazenamento da parasitoide *C. flavipes* na geladeira, com descanso antes do parasitismo, a mensuração dos dados da pesquisa ocorre em oito intervalos de tempo. Os resultados obtidos em 0, 16, 24, 40 e 48 horas apontam que o índice de eficiência está acima de 70% (valor de referência), enquanto em 64, 72 e 80 horas a eficiência do armazenamento está abaixo de 70%.

No armazenamento em geladeira, a eficiência com descanso de *C. flavipes* está classificada como sendo superior a 70% em: “a” (16/8 horas), “ab” (0 hora), “b” (24/16 horas) e “c” (40/8 horas – 48/16 horas); e, inferior a 70% em: “d” (64/8 horas), “e” (72/16 horas) e “f” (80/8 horas) (>70%); até 24 horas, a eficiência atinge os índices de parasitismo em torno dos 80% (Figura 3).



Fonte: Autores.

De modo incomum, o maior índice de eficiência está registrado com 16 horas (86,14%), enquanto a testemunha (0 hora) tem eficiência de 82,86 % (Figura 3); e, com 48 horas a eficiência é de 77,00%, estando acima dos 74,14% registrados com 40 horas. Ou seja, recomenda-se o armazenamento de adultos *C. flavipes* em baixas temperaturas por até 48 horas e com descanso de até 16 horas, sem perder sua capacidade de parasitar larvas de *Diatraea spp.*

### 3.6 Eficiência de inoculação entre gêneros

A eficiência de inoculação entre os manipuladores de *C. flavipes* apresenta índices variados. As manipuladoras (sexo feminino) manifestam melhores resultados, mantendo-se em torno de 72%, com ápice em 75,90%. Dentre os manipuladores (sexo masculino), por sua vez, a eficiência de inoculação está próxima de 70%, com valor máximo de 73,30% (Figura 4).

**Figura 4.** Média percentual da eficiência de inoculação por gênero dos trabalhadores.



Fonte: Autores.

Observa-se que a média percentual da eficiência de inoculação em função do sexo do inoculador não difere significativamente, com variação em torno de 1,84% entre os gêneros: masculino (70,10%) e feminino (71,94%).

#### 4. Discussão

No Brasil, o controle biológico tem sido objeto de estudo e de testes científicos que evidenciam sua eficiência no campo. Em relação ao plantio da cana-de-açúcar, algumas espécies de parasitoides são produzidas em laboratório e comercializadas entre os plantadores de cana. Na literatura há indicações sobre os diferentes aspectos comportamentais de *C. flavipes* produzidas em laboratório por diferentes biofábricas as quais apresentam variações na qualidade de suas populações.

Nos resultados obtidos neste estudo, os aspectos comportamentais de parasitoides produzidos em laboratório apresentaram diferenças em suas populações quando submetidas a diferentes temperaturas.

Quanto à influência da temperatura no ciclo de vida de *C. flavipes*, os experimentos foram testados em temperaturas de 21, 25 e 29 °C; umidade relativa do ar variando de 70±10%; fotofase de 12 horas; utilizando-se 34 lagartas (repetição) para cada temperatura. Avaliou-se os seguintes parâmetros biológicos: durações de ovo-larva; duração de pupa; adultos; quantidade de casulos por lagarta; viabilidade de pupas; e a razão sexual.

O melhor desempenho obtido foi na temperatura de 25 °C, com eficiência de eclosão em 92,12%. Tal evidência corrobora com os achados de Pinto (2010), ao constatar que no parasitoide *C. flavipes*, o número de descendentes oscila com a temperatura, obtendo-se mais indivíduos adultos a uma temperatura de 25 °C. De igual modo, esses resultados assemelham-se à observação de Angilletta e Angilletta (2009), ao constatarem que a temperatura pode afetar a vida do inseto em relação a: distribuição, colonização, sobrevivência, abundância e comportamento. E essas observações são válidas a muitos aspectos ecológicos e no desenvolvimento de parasitoides (Walther et al., 2002).

Analisando os dados de emergência por massa, quando comparada à temperatura de 21 °C, observa-se que a faixa de temperatura de 25 a 29 °C proporcionou uma maior porcentagem de emergência, sendo ideal à viabilidade de pupas. Tais resultados assemelham-se aos obtidos por Smaniotto (2016), ao observar que a emergência por massa em temperaturas de 25 a 28 °C e aos resultados de Irlich et al. (2009) para temperaturas de 25 a 29 °C.

Em relação ao quantitativo de machos e fêmeas, verificou-se a predominância de fêmeas nos três tratamentos, sendo mais acentuada sua prevalência nas temperaturas de 21 e 25 °C. Observou-se que com a temperatura em 29 °C a variação entre machos e fêmeas diminuiu. Verifica-se, portanto, que a temperatura interfere na quantidade de machos e fêmeas entre os parasitoides, representando uma variável relevante ao controle biológico. Segundo a literatura, um número maior de fêmeas

emergidas favorece a eficiência do controle e qualidade (Favero, 2009; Heimpel & Lundgren, 2000), uma vez que o macho não realiza o parasitismo (Pandey & Tripathi, 2008; Zanuncio et al., 2008). De fato, o aumento da temperatura interfere diretamente no tempo de vida da *C. flavipes*, pois em todas as fases (larva, pupa e adulto) há diminuição no número de dias do ciclo de vida, sendo mais acentuada dentre as larvas. Esta oscilação acontece devido as taxas metabólicas das populações de parasitoides, uma vez que o metabolismo é suscetível a alterações da temperatura do ambiente em que o inseto se desenvolve (Irlich et al., 2009).

Por sua vez, em relação à longevidade de adultos da amostra pesquisada, a temperatura influencia na longevidade e no percentual de animais vivos, cuja população de parasitoides adultos apresentou os melhores índices aos 21 °C. Por outro lado, a maior taxa de mortalidade corresponde à temperatura de 29 °C. Desse modo, observa-se uma semelhança com os dados da fase de pupa observados por Vacari et al. (2012) e por Boiça Jr et al. (1997), ao constatarem que o aumento da temperatura diminui o ciclo de vida. Adicionalmente, vale ressaltar que a temperatura exerce forte influência na capacidade de busca e na sobrevivência de *C. flavipes*, evitando-se liberações nos horários mais quentes do dia (Botelho & Macedo 2002).

Quanto à razão sexual e quantidade de *C. flavipes* por copo, os resultados obtidos evidenciam uma predominância de fêmea (aproximadamente 70% dos parasitoides), sendo inferior nos meses de janeiro (68,71%), abril (68,57%) e junho (66,30%). Enquanto em fevereiro (70,40%), março (73,68%) e maio (70,07%) os resultados obtidos permaneceram acima dos 70%. Esses resultados foram melhores índices que os obtidos por Carvalho et al. (2009), que verificaram uma relação sexual de 0,65 (65%) para fêmeas.

Cabe destacar que no mês de março ocorreu uma baixa na quantidade de insetos em função da alimentação das lagartas, pois o farelo da dieta estava contaminado, representando a menor população do estudo (1.399,33 parasitoides por copo). Por outro lado, nos restantes dos meses da pesquisa, obteve-se um universo superior a 1.500 insetos. Esse dado corrobora com Araújo (1987), ao inferir que foram encontrados, em média, 1.500 parasitoides por copo. Nesse sentido, no tocante à produção massal de *C. flavipes*, observa-se a necessidade de liberação assim que emergem os adultos, devido a sua curta longevidade. É importante ressaltar que as pupas podem ser armazenadas antes da emergência dos adultos e, desta forma, abre-se um leque de oportunidades para estudos sobre tempo, temperatura e viabilidade dessas pupas armazenadas para aprimorar a criação massal desses parasitoides.

No armazenamento em geladeira com temperatura de 3 °C, os resultados dessa pesquisa evidenciam que até 48h as amostras permanecem acima do valor de referência (70% de eficiência): 16 horas, 86,71%; 24 horas, 80,43%; 40 horas, 72,71%; e 48 horas, 74,60%. Por outro lado, mantiveram-se abaixo de 70% com 64 horas (56%), 72 horas (62%) e 80 horas (43,86%). Tais resultados assemelham-se ao estudo de Carvalho et al. (2008), ao concluírem que até cinco dias é possível armazenar pupas recém-formadas do parasitoide em baixa temperatura, sem ocorrer diminuição do percentual de eficiência.

Em relação a eficiência de armazenamento do parasitoide *C. flavipes* na geladeira, com descanso em temperatura ambiente antes do parasitismo, os resultados apontam que em 0 hora (testemunha), 16, 24, 40 e 48 horas o índice está acima de 70% (valor de referência). Entretanto, em 64, 72 e 80 horas a eficiência do armazenamento está abaixo de 70%. A maior redução da eficiência ocorreu entre 72 e 80 horas, oscilando de 56% para 29,71%. Portanto, em até 48h os resultados obtidos apontam que a qualidade do parasitoide e de seus descendentes não é afetada, aproximando-se das evidências relatadas por Carvalho et al. (2008), ao concluíram que a eficiência de armazenamento até 72 horas não altera a qualidade da *C. flavipes*.

Comparando os manipuladores e sua eficiência de inoculação, entre gênero masculino e feminino, a pesquisa corrobora com os dados obtidos por Botelho e Macedo (2002) e Campos-Farinha et al.(2000), ao constarem que a mão de obra mais eficiente é do sexo feminino. Mesmo considerando os manipuladores do sexo feminino com uma melhor média (71,94%), acima dos resultados com os manipuladores do sexo masculino (70,1%), não há diferença estatística da eficiência entre os dois gêneros.

## 5. Conclusão

Este estudo permite concluir que:

1. A temperatura tem influência na biologia da *Cotesia flavipes*;
2. A longevidade de adultos de *C. flavipes* é maior quando submetidos a uma temperatura de 21°C;
3. A quantidade de insetos  $\geq 1.500$  por copo resulta em uma razão sexual de fêmeas em  $\geq 70\%$ ;
4. O armazenamento de adultos de *C. flavipes* em baixas temperaturas, sem descanso antes do parasitismo, torna a eficiência de inoculação inviável a partir de 48 horas, com a eficiência de parasitismo  $< 70\%$ ;
5. O armazenamento de adultos de *C. flavipes* em baixas temperaturas, com descanso de 16 horas antes do parasitismo, é recomendado para um intervalo de tempo de até 48 horas, tendo índice de eficiência  $> 70\%$  de parasitismo;
6. A eficiência de inoculação entre manipuladores em laboratório é ligeiramente superior para o sexo feminino (1,84%).

Estudos adicionais sobre o comportamento de voo da *Cotesia flavipes* liberadas em campo são promissores para o melhor entendimento do seu raio de ação, especialmente em condições climáticas distintas em cada época do ano.

## Agradecimentos

A todos os colaboradores que fazem o Laboratório de Produção Massal de Controle Biológico (LPMCB), da Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN).

## Referências

- Angilletta Jr, M. J., & Angilletta, M. J. (2009). *Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis*. Oxford University Press. <https://asu.pure.elsevier.com/en/publications/thermal-adaptation-a-theoretical-and-empirical-synthesis>.
- Araujo, J. D. (1987). *Guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitóides em laboratório*. IAA/PLANALSUCAR.
- Benedini, M. S. (2006). Controle biológico de pragas na cana-de-açúcar. In: Marques, M. O.; Mutton, M. A.; Azania, A. A. P. M.; Tasso Jr., L. C.; Nogueira, G. A.; Vale, D. W. (Eds.). *Tópicos em tecnologia sucroalcooleira*. Jaboticabal: Multipress, 101-120.
- Boiça Jr, A. L., Lara, F. M., & Bellodi, M. P. (1997). Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26(3), 537-542.
- Botelho, P., & Macedo, N. (2002). *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* (F): 409-447 (en) Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, A. B. S.; Bento, J. M. S. (ed.) *Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores*.
- Campos-Farinha, A. E. C.; Chaud-Netto, J.; & Gobbi, N. (2000). Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). IV. Discriminação entre lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), tempo de desenvolvimento e razão sexual dos parasitoides. *Arquivos do Instituto Biológico*, 67(2), 229-234. [http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V67\\_2/15.pdf](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V67_2/15.pdf).
- Carvalho, C. M., de Azevedo, H. M., Neto, J. D., de Melo, E. P., da Silva, C. T., & Gomes Filho, R. R. (2008). Resposta dos parâmetros tecnológicos da terceira folha de cana-de-açúcar submetida a diferentes níveis de irrigação. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 3(4), 337-342.
- Carvalho, C. M., de Azevedo, H. M., Neto, J. D., Carlos, H. D. A., da Silva, C. T., & Gomes Filho, R. R. (2009). Rendimento de açúcar e álcool da cana-de-açúcar submetida a diferentes níveis de irrigação. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 4(1), 72-77. [https://www.researchgate.net/publication/237023230\\_Rendimento\\_de\\_acucar\\_e\\_alcool\\_da\\_cana-de-acucar\\_submetida\\_a\\_diferentes\\_niveis\\_de\\_irrigacao](https://www.researchgate.net/publication/237023230_Rendimento_de_acucar_e_alcool_da_cana-de-acucar_submetida_a_diferentes_niveis_de_irrigacao).
- Cruz, I. (2007). A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil. *Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)*. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/476711>.
- Fávero, K. (2009). *Biologia e técnicas de criação de Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).
- Heimpel, G. E., & Lundgren, J. G. (2000). Sex ratios of commercially reared biological control agents. *Biological Control*, 19(1), 77-93. 10.1006/bcon.2000.0849.
- Hensley, S. D., & Hammond Jr, A. M. (1968). Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 61(6), 1742-1743. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/61.6.1742>.
- Hivizi, C. L., Bueno, V. H. P., Silva, A. C., & Carvalho, L. M. (2009). Controle de qualidade do parasitoide *Cotesia flavipes*. *Controle Biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade*, 371-380.

- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2019). Culturas temporárias e permanentes. *Produção Agrícola Municipal*. 46(1), 1-22. [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam\\_2019\\_v46\\_br\\_notas\\_tecnicas.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2019_v46_br_notas_tecnicas.pdf).
- Irllich, U. M., Terblanche, J. S., Blackburn, T. M., & Chown, S. L. (2009). Insect rate-temperature relationships: environmental variation and the metabolic theory of ecology. *The American Naturalist*, 174(6), 819-835. <http://www.jstor.org/stable/10.1086/6479042009>.
- Macedo, N., Botelho, P. S. M., Degaspari, N., Almeida, L. C., Araújo, J. R. & Magrini, E. A. (1983). *Controle biológico da broca da cana-de-açúcar: Manual de Instrução*. IAA/PLANALSUCAR.
- Mendonça, A., Moreno, J., Risco, S., & Rocha, I. (1996). Broca comum da cana-de-açúcar, Cap. 2. *Pragas da cana-de-açúcar. Maceió: Insetos & Cia*, 49-130.
- Pandey, A. K., & Tripathi, C. P. M. (2008). Effect of temperature on the development, fecundity, progeny sex ratio and life-table of *Campoletis chloridae*, an endolarval parasitoid of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *BioControl*, 53(3), 461. 10.1007/s10526-007-9083-32008.
- Parra, J. R. P. (2002). *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. Editora Manole Ltda.
- Parra, J. R. P., & Mihsfeldt, L. H. (1992). Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. *Advances in insect rearing for research and pest management*, 195-209.
- Pinto, A. S. (2010). Controle biológico da broca da cana-de-açúcar. *G.BIO: revista de controle biológico*, Edição especial. 24-28.
- Pinto, A. S., Garcia, J. F., & Botelho, P. S. M. (2006). *Controle de pragas da cana-de-açúcar*. Sertãozinho: Biocontrol. (Boletim técnico).
- Polaszek, A., & Walker, A. K. (1991). The *Cotesia flavipes* species-complex: parasitoids of cereal stem borers in the tropics. *Redia*, 74(3, Appendix), 335-341.
- Prezotti, L., Parra, J. R. P., Macedo, N., & Botelho, P. S. M. (2002). *Controle biológico no Brasil: Parasitóides e predadores*. Manole.
- Prezotti, L., Parra, J. R. P., Vencovsky, R., Coelho, A. S., & Cruz, I. (2004). Effect of the size of the founder population on the quality of sexual populations of *Trichogramma pretiosum*, in laboratory. *Biological Control*, 30(2), 174-180.
- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality: complete samples. *Biometrika*, 52(3/4), 591-611.
- Smaniotto, G. (2016). *Giovani. Variabilidade de parâmetros biológicos e genéticos de Cotesia flavipes (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) no Brasil. Embrapa Clima Temperado-Tese/dissertação (ALICE)*.
- Snedecor, G. W., & Cochran, W. G. (1989). *Statistical methods*, 8thEdn. Ames: Iowa State Univ. Press Iowa, 54, 71-82.
- União Da Agroindústria Canavieira De São Paulo – UNICA. *A indústria da cana-de-açúcar: Etanol, açúcar e bioeletricidade*. 2019. <http://www.portalunica.com.br/>.
- Vacari, A. M., Genovez, G. S., Laurentis, V. L., & Bortoli, S. A. (2012). Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. *Bragantia*, 71(1): 355-361.
- Wajnberg, E. (2009). Genetics of the behavioral ecology of egg parasitoids. In *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma* (pp. 149-165). Springer, Dordrecht.
- Walther, G. R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J., & Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, 416(6879), 389-395.
- Wilkinson, D. S. (1928). A Revision of the Indo-Australian Species of the Genus *Apanteles* (Hym. Bracon.) - Part I. *Bulletin of Entomological Research*, 19(1), 79-105.
- Zanuncio, J. C., Pereira, F. F., Jacques, G. C., Tavares, M. T., & Serrão, J. E. (2008). *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). *The Coleopterists Bulletin*, 62(1), 64-66.