

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS

Allan Mello de Macedo

**Efeitos da interação e da movimentação de parasitoides especialista e generalista
no controle da broca da cana**

São Carlos – SP

2022

Allan Mello de Macedo

**Efeitos da interação e da movimentação de parasitoides especialista e generalista
no controle da broca da cana**

**Dissertação apresentada ao Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de
São Carlos como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais
junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e
Recursos Naturais.**

Área de Concentração: Ecologia e Recursos Naturais

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Reigada Montoya

São Carlos – SP

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Allan Mello de Macedo, realizada em 14/09/2022.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Carolina Reigada Montoya (UFSCar)

Prof. Dr. Alexandre José Ferreira Diniz (USP)

Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy (USP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

AGRADECIMENTOS

Meus primeiros agradecimentos vão a minha orientadora, Carolina, que com muita paciência e dedicação me orientou por todo o mestrado, sempre conseguindo apontar qual direção seguir em meio as minhas confusões ao mesmo tempo que me ensinava diversos assuntos e a ser um melhor pesquisador.

Ao órgão de fomento CAPES por me financiar e dar suporte necessário por todo o período do meu mestrado.

A UFSCar, ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais por todo o meu crescimento acadêmico desde o início de minha graduação até hoje.

Aos membros da minha banca de qualificação, Dr. Peret, Dra. Angélica, Dr. Alexandre, Dra. Júlia e Dr. Eduardo, pelas contribuições no meu trabalho.

Aos membros da minha Banca de defesa Dr. Alexandre, Dr. Wesley, Dr. Peret e Dra. Angélica e Dra. Júlia.

A minha família e amigos, principalmente para o Enzo e Igor e Carol, que escutaram meus choros durante todos esses anos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. Capítulo 1

| | |
|--|----|
| Fig. 1. Pupas de <i>D. saccharalis</i> em Placa Petri..... | 34 |
| Fig. 2. Curvas do Ajuste da Resposta Funcional..... | 45 |
| Fig. 3. Persistência dos Parasitoides (<i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i>) em diferentes simulações..... | 46 |
| Fig. 4. Persistência de <i>T. howardi</i> e <i>C. flavipes</i> nos cenários C ₂ A e C ₂ B..... | 47 |
| Fig. 5. Ocupação Média da Paisagem por <i>D. saccharalis</i> | 48 |
| Fig. 6. Ocupação Média da Paisagem pelos parasitoides (<i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i>) | 49 |
| Fig. 7. Taxa Média de Ocupação de <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> nos cenários C ₂ A e C ₂ B..... | 51 |
| Fig. 8. Densidade Populacional de <i>D. saccharalis</i> em diferentes cenários..... | 52 |
| Fig. 9. Densidade Populacional de parasitoides (<i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i>) em diferentes cenários..... | 53 |
| Fig. 10. Densidade Populacional de <i>T. howardi</i> e <i>C. flavipes</i> nos cenários C ₂ A e C ₂ B..... | 54 |

2. Capítulo 2

| | |
|--|----|
| Fig. 1. Diferentes combinações de quantidade (proporção) e distribuição espacial dos Hospedeiros Alvos e Alternativos no início das simulações..... | 85 |
| Fig. 2. Persistência média de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação completa da paisagem pelos hospedeiros e em ocupação completa da paisagem apenas de <i>D. saccharalis</i> | 87 |
| Fig. 3. Persistência média de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 88 |

| | |
|--|-----|
| Fig. 4. Persistência média de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 89 |
| Fig. 5. Tamanho populacional médio de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação completa da paisagem pelos hospedeiros e em ocupação completa da paisagem apenas de <i>D. saccharalis</i> | 90 |
| Fig. 6. Tamanho populacional médio de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 91 |
| Fig. 7. Tamanho populacional médio de <i>Diatraea saccharalis</i> , Hospedeiros alternativos, <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 92 |
| Fig. 8. Média de patches da paisagem ocupados pelos parasitoides <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação completa da paisagem pelos hospedeiros e em ocupação completa da paisagem apenas de <i>D. saccharalis</i> | 93 |
| Fig. 9. Média de patches da paisagem ocupados pelos parasitoides <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 94 |
| Fig. 10. Média de patches da paisagem ocupados pelos parasitoides <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> ao longo do tempo em ocupação de hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 95 |
| Fig. S1. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 107 |
| Fig. S2. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 108 |
| Fig. S3. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos nas bordas da plantação..... | 109 |

| | |
|--|-----|
| Fig. S4. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 110 |
| Fig. S5. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 111 |
| Fig. S6. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos em blocos na plantação..... | 112 |
| Fig. S7. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> com ausência dos hospedeiros alternativos..... | 113 |
| Fig. S8. Gráfico representativo da ocupação da paisagem por <i>Cotesia flavipes</i> , <i>Tetrastichus howardi</i> , <i>Diatraea saccharalis</i> e hospedeiros alternativos com os hospedeiros ocupando a paisagem completa..... | 114 |

LISTA DE TABELAS

1. Capítulo 1

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Lista de Parâmetros usados no modelo..... | 36 |
| Tabela 2. Parâmetros Estimados pelo ajuste da Resposta Funcional Tipo II.... | 44 |
| Tabela S1. Ocupação Média de <i>D. saccharalis</i> | 70 |
| Tabela S2. Ocupação Média de Parasitoides (<i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i>)..... | 71 |
| Tabela S3. Tamanho Populacional Médio de <i>D. saccharalis</i> | 72 |
| Tabela S4. Tamanho Populacional Médio de Parasitoides (<i>C. flavipes</i> + <i>T. howardi</i>)..... | 73 |

2. Capítulo 2

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Lista de Parâmetros usados no modelo..... | 80 |
|--|----|

Efeitos da interação e da movimentação de parasitoides especialista e generalista no controle da broca da cana

RESUMO

Devido à dependência de um organismo hospedeiro para sua reprodução, o comportamento forrageador e o sucesso reprodutivo dos parasitoides são estritamente relacionados a seus hospedeiros, o que os tornam importantes agentes em programas de controle biológico quando seus hospedeiros são considerados pragas. A liberação de parasitoides e a movimentação das espécies nas áreas agrícolas, entretanto, pode levar ao estabelecimento de complexas interações destes com a comunidade de herbívoros e inimigos naturais presentes na paisagem agrícola. Neste contexto, resultados imprevisíveis podem ocorrer quando parasitoides generalistas e especialistas passam a competir por um hospedeiro comum, a praga alvo do programa de controle biológico. A frequência e a abundância de hospedeiros alternativos dos parasitoides generalistas passam a ter importante papel na modulação da competição com parasitoides especialistas, definindo o balanço entre custos e benefícios advindo da troca (*Switching*) de hospedeiros ao optarem pelo ataque ao um hospedeiro comum, afetando assim o sucesso do controle biológico. Este estudo teve como objetivo analisar os efeitos da competição entre parasitoides especialistas e generalistas para o controle biológico de *Diatraea saccharalis*, a broca-da-cana, através de modelagem matemática. Para isto, parâmetros biológicos da interação de *Cotesia flavipes*, parasitoide especialista e *Tetrastichus howardi*, espécie parasitoide generalista, com *Diatraea saccharalis* foram utilizados, visando responder às seguintes questões: (i) A liberação de parasitoides especialistas e generalistas associados é efetiva para o controle da praga? (ii) O local de liberação das espécies parasitoides no cultivo influencia a efetividade do controle da praga pelas espécies? (iii) Considerando os custos da troca de hospedeiro e da interação competitiva interespecífica, qual é o efeito da variação da densidade de hospedeiros alternativos que torna o parasitismo a um hospedeiro comum vantajosa para a população de parasitoides generalistas e conseqüentemente para sua utilização em programas de controle biológico? (iv) a localização dos hospedeiros alvo (praga) e alternativos na paisagem agrícola interfere na permanência dos parasitoides generalistas na cultura alvo e conseqüentemente na efetividade do controle biológico?

Palavras-chave: *Diatraea saccharalis*, dinâmica populacional, modelo matemático, controle biológico.

Effects of interaction and movement of specialist and generalist parasitoids on sugarcane borer control

ABSTRACT

The dependence of parasitoids on hosts for reproduction, and the fact of their foraging behavior and reproductive success be strictly related to their hosts, making them important agents in biological pest control programs. However, the release of parasitoids and their movement in crop areas can lead to the establishment of complex interactions of these with the community of herbivores and natural enemies present in the agricultural landscape. In this context, unpredictable results can occur when generalist and specialist parasitoid species compete for a common host, the target pest to be controlled. The frequency and abundance of alternative hosts of generalist parasitoids play an important role in modulating the competition with specialist parasitoids, defining the balance between costs and benefits arising from the switching of hosts when it chooses to attack a common host, directly affecting the success of biological control. Through mathematical modeling, this study aimed to analyze the effects of competition between specialist and generalist parasitoids for *Diatraea saccharalis*, the sugarcane borer. For this, biological parameters obtained from interaction among *Cotesia flavipes*, specialist parasitoid, *Tetrastichus howardi*, generalist parasitoid species, and *D. saccharalis* were used, aiming to answer the following questions: (i) Is the associate release of specialist and generalist parasitoid species effective for the pest control? (ii) Does the parasitoid release site in the crop area influence species' effectiveness of pest control? (iii) Considering the costs of host switching and interspecific competition interaction, what is the effect of the alternative host variations on making parasitism to a common host advantageous for the generalist parasitoid population and consequently for its use in biological control programs? (iv) Do the location of the target host (i.e., pest) and alternative hosts in the agricultural landscape interfere with the generalist parasitoid's permanence in the target crop and, consequently, with the biological control effectiveness?

Key words: *Diatraea saccharalis*, Population dynamics, mathematical modeling, biological control.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 Introdução Geral | 12 |
| 2 Justificativa..... | 13 |
| 3 Objetivos..... | 13 |
| 3.1 Capítulo 1..... | 14 |
| 3.2 Capítulo 2..... | 15 |
| 4 Revisão Bibliográfica | 15 |
| 4.1 Cana-de-Açúcar | 15 |
| 4.2 <i>Diatraea saccharalis</i> - broca-da-cana | 16 |
| 4.3 Manejo Integrado de Pragas (MIP)..... | 17 |
| 4.4 Parasitoides | 19 |
| 4.4.1 <i>Cotesia flavipes</i> | 20 |
| 4.4.2 <i>Tetrastichus howardi</i> | 20 |
| 4.5 Uso de Múltiplos Parasitoides em programas de controle biológico | 21 |
| 5 Referências Bibliográficas..... | 21 |
| Capítulo 1 - Efetividade do multiparasitismo e estratégias de liberação de parasitoides para programas de controle biológico da broca-da-cana, <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) | 29 |
| Resumo | 29 |
| Abstract..... | 30 |
| 1 Introdução..... | 31 |
| 2 Materiais e Métodos | 33 |
| 2.1 Obtenção da resposta funcional das espécies parasitoides estudadas..... | 33 |
| 2.1.1 Análise estatística – Resposta Funcional | 35 |
| 2.2 Modelo Matemático..... | 36 |
| 2.2.1 Dinâmica populacional intra- <i>patch</i> | 37 |
| 2.2.2 Dinâmica de dispersão das espécies na paisagem..... | 38 |
| 2.2.3 Cenários simulados – Estudo das estratégias de liberação e uso das espécies parasitoides no controle biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> | 41 |
| 2.3 Análise Estatística..... | 43 |
| 3 Resultados..... | 44 |
| 3.1 Resposta Funcional de <i>Cotesia flavipes</i> e <i>Tetrastichus howardi</i> | 44 |
| 3.2 Persistência dos parasitoides após a liberação inundativa | 45 |
| 3.3 Ocupação da paisagem pela praga e seus agentes de controle | 48 |

| | | |
|---|--|------------|
| 3.4 | Variação na densidade populacional das espécies após a liberação inundativa dos parasitoides | 51 |
| 4 | Discussão | 55 |
| 5 | Conclusão | 60 |
| 6 | Referências Bibliográficas..... | 61 |
| | Anexo | 70 |
| Capítulo 2 - Efeitos da abundância e da distribuição de hospedeiros alternativos sobre a competição entre parasitoides especialista e generalista no controle biológico da broca-da-cana, <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) | | 74 |
| | Resumo | 74 |
| | Abstract..... | 75 |
| 1 | Introdução..... | 76 |
| 2 | Materiais e Métodos | 78 |
| 2.1 | Modelo Matemático..... | 79 |
| 2.2.1 | Dinâmica populacional intra- <i>patch</i> | 80 |
| 2.2.2 | Dinâmica de dispersão das espécies na paisagem..... | 81 |
| 2.2.3. | Padrão espacial para a distribuição das espécies hospedeiras na área de plantio | 84 |
| 3 | Resultados..... | 86 |
| 3.1 | Persistência dos Parasitoides | 86 |
| 3.2 | População dos Parasitoides | 89 |
| 3.3 | Taxa de ocupação dos <i>patches</i> da paisagem pelas espécies parasitoides | 92 |
| 4 | Discussão | 95 |
| 5 | Conclusão | 100 |
| 6 | Referências Bibliográficas..... | 100 |
| | Anexo | 107 |
| Conclusão Geral..... | | 115 |

Efeitos da interação e da movimentação de parasitoides especialista e generalista no controle da broca da cana

1. INTRODUÇÃO GERAL

Parasitoides são insetos extremamente abundantes e diversos em comunidades terrestres (Godfray 1994) e se diferenciam em sua biologia pelo fato de colocar seus ovos em outros artrópodes, os hospedeiros, que são utilizados como única fonte de alimento dos estágios imaturos e que, ao final do desenvolvimento larval do parasitoide são mortos (Eggleton & Gaston 1990). Devido à dependência de hospedeiros para sua reprodução, o comportamento forrageador e o sucesso reprodutivo dos parasitoides são estritamente relacionados a seus hospedeiros, tornando-os reguladores naturais de diversos insetos herbívoros (Godfray 1994). Esta regulação populacional os torna importantes agentes de controle em programas de Controle Biológico de populações de pragas de cultivos de importância econômica (Eilenberg et al. 2001, Parra 2014, Paranhos et al. 2019).

A interação hospedeiro-parasitoide tem sido foco de muitos estudos que visam entender a efetividade do uso destes na regulação de insetos pragas (Eilenberg et al. 2001, Pereira et al. 2018, Sanchez et al. 2018). Entretanto, na maioria destes estudos assume-se que parasitoides são especialistas, ou seja, interagem de maneira sincrônica e exclusiva com a espécie hospedeira. Estes estudos também não consideram interações entre parasitoides liberados e as demais espécies presentes na comunidade associada ao cultivo alvo do programa de Controle Biológico (Godfray & Waage 1991).

Parasitoides que variam as taxas de parasitismo em resposta a mudanças na riqueza e abundância de seus hospedeiros são definidos como generalistas (Godfray 1994). Estudos comparando parasitoides especialistas e generalistas mostram que o comportamento de forrageio e conseqüentemente as taxas de parasitismo dos parasitoides sobre uma espécie hospedeira podem ser bastante diferentes, isto porque a frequência e abundância de espécies hospedeiras em áreas nas quais os parasitoides estão presentes atuam como agentes de seleção, influenciando as traços comportamentais associados à seleção de um hospedeiro (infectabilidade do parasitoide) e o desenvolvimento da resposta imunológica frente a incompatibilidade das respostas fisiológicas dos estágios imaturos dos parasitoides ao se alimentar da espécie hospedeira, que definirá a virulência dos parasitoides (Stireman et al. 2006, Antolin et al. 2006, Abrahamson & Blair 2008,

Zepeda-Paulo et al. 2013). Sendo assim, é esperado que parasitoides especialistas respondam de maneira mais restrita a estímulos específicos de seu hospedeiro, bem como do habitat no qual seu hospedeiro vive, enquanto espécies generalistas respondam a estímulos mais primários e comuns a diferentes espécies hospedeiras (Capan & Benrey 2004), o que pode resultar em diferenças nas forças de interação e regulação da população dos hospedeiros.

A eficiência do controle biológico depende, entre outros fatores, das interações estabelecidas entre populações de pragas e seus inimigos naturais. Sendo assim, as diferentes trajetórias evolutivas das espécies parasitoides e a composição da comunidade de insetos herbívoros associados ao cultivo agrícola influenciarão, de maneira direta e indireta, a efetividade do controle e regulação populacional da praga. Ainda neste contexto, a comunidade de inimigos naturais associadas a praga alvo também pode afetar o sucesso do controle biológico. Por exemplo, quando parasitoides agentes do controle e parasitoides já presentes na área de liberação apresentam comportamentos de forrageio diferentes, parasitoides especialistas e generalistas poderão competir pela mesma espécie praga, resultando em dinâmica populacional de hospedeiros e parasitoides totalmente independentes (Hassel & May 1986), prejudicando a avaliação e manejo da praga na paisagem agrícola.

A interação competitiva de espécies parasitoides generalistas e especialistas ocorre frequentemente quando a densidade populacional de espécies hospedeiras a qual o parasitoide generalista está associado é baixa. Neste caso, é comum que o parasitoide busque por hospedeiros alternativos, exibindo um comportamento de troca de hospedeiros conhecido por "*Switching*", garantindo sua reprodução (Murdoch 1969). A troca de hospedeiros, entretanto, pode trazer custos, ao reduzir o fitness do parasitoide (Jones et al. 2015) e ao promover competição com outras espécies associadas ao hospedeiro comum (Cusumano et al. 2016). Este custo, por outro lado, pode ser compensado quando outras espécies hospedeiras se tornam raras ou desaparecem, uma vez que possibilita a persistência da espécie no local. Esta interação competitiva pode surgir quando parasitoides especialistas e generalistas são liberados como agentes de controle biológico, afetando o desempenho destes agentes na regulação da população praga (Gripenberg et al. 2011, Broadley et al. 2019). No caso em que os parasitoides liberados são generalistas, a troca de hospedeiros (*Switching*) também pode ter grande influência na efetividade do controle quando, por exemplo, o agente de controle deixa de

parasitar a espécie hospedeira alvo e passa a interagir com outras espécies hospedeiras não alvo (que pode não ser uma espécie considerada praga para o cultivo em questão) (Talamas et al. 2015, Herlihy et al. 2016, Pacheco et al. 2018).

A ocorrência de competição entre parasitoides liberados também pode estar sob influência da movimentação das espécies na paisagem agrícola. A paisagem agrícola de maneira geral é caracterizada por mosaicos espaço-temporais de culturas onde as pragas podem sobreviver e persistir, explorando diferentes áreas caracterizadas por diferentes épocas de plantio, numa dinâmica metapopulacional (Hanski 1999). Na paisagem agrícola, populações de pragas e inimigos naturais em determinados locais podem colonizar áreas vizinhas, possibilitando a persistência e promovendo interações entre espécies nas comunidades associadas às culturas. A movimentação entre áreas vizinhas possibilita o estabelecimento de novas relações tróficas e a integração de novas espécies à comunidade local, (Thompson 1999), possibilitando assim, o encontro de populações parasitoides caracterizadas por diferentes comportamentos de forrageio.

2. JUSTIFICATIVA

Sabendo que diferentes estratégias de forrageio (i.e., comportamento especialista e generalista) e a movimentação de espécies parasitoides podem afetar a ocorrência de surtos de pragas, este estudo teve como foco o cultivo da cana, o qual tem como principal praga a broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e seu principal agente de controle, *Cotesia flavipes* (Cameron 1891) (Hymenoptera: Braconidae), espécie parasitoide especialista e o potencial agente de controle, o parasitoide generalista, *Tetrastichus howardi* (Olliff 1893) (Hymenoptera: Eulophidae). A liberação de *C. flavipes* com a complementação da liberação de *T. howardi* para o controle da broca-da-cana representa um sistema real que possibilita a avaliação da efetividade do uso de parasitoides com diferentes comportamentos para o planejamento, implementação e otimização de programas de controle biológico de pragas.

3. OBJETIVOS GERAIS

Este estudo teve como objetivo responder as seguintes questões:

- A liberação de parasitoides especialistas e generalistas associados é efetiva para o controle da praga?
- O local de liberação das espécies parasitoides no cultivo influencia a efetividade do controle da praga pelas espécies?
- Considerando os custos da troca de hospedeiro e da interação competitiva interespecífica, qual é o efeito da variação da densidade de hospedeiros alternativos que torna o parasitismo a um hospedeiro comum vantajosa para a população de parasitoides generalistas e conseqüentemente para sua utilização em programas de controle biológico?
- A localização dos hospedeiros alvo (praga) e alternativos na paisagem agrícola interfere na permanência dos parasitoides generalistas na cultura alvo e conseqüentemente na efetividade do controle biológico?

Para isto, este trabalho foi dividido em dois capítulos:

Capítulo 1: Efetividade do multiparasitismo e estratégias de liberação de parasitoides para programas de controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae).

Este capítulo teve como objetivos avaliar, através do uso de modelo matemático e simulações computacionais com parametrização biológica baseada em experimentação: (i) a efetividade do uso associado de liberações das duas espécies parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi* e, (ii) o efeito do local de liberação das espécies na paisagem agrícola para o controle broca-da-cana.

Hipóteses:

- A competição interespecífica pelo recurso comum (praga), resultante do uso da liberação associada de *C. flavipes* e *T. howardi* no canavial para controle de *D. saccharalis* afeta negativamente a efetividade do parasitoide especialista;
- A efetividade do uso das duas espécies parasitoides em conjunto será maior do que a efetividade do controle biológico utilizando apenas o parasitoide especialista *C. flavipes*.

Capítulo 2: Efeitos da abundância e da distribuição de hospedeiros alternativos sobre a competição entre parasitoides especialista e generalista no controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Este capítulo teve como objetivo entender, através do uso de modelo matemático e simulações computacionais: (i) os efeitos da competição entre um parasitoide especialista e um parasitoide generalista quando além do hospedeiro alvo (praga), hospedeiros alternativos do parasitoide generalista também estão presentes na paisagem e (ii) como a distribuição das espécies hospedeiras afeta a competição dos parasitoides e consequentemente seus potenciais para controlar a praga.

Hipóteses:

- A presença de hospedeiros alternativos na paisagem agrícola dissipa os efeitos da competição entre *T. howardi* e *C. flavipes* pela praga, hospedeiro comum;
- A distribuição e abundância das espécies hospedeiras na paisagem agrícola afetam as taxas de encontro entre as espécies parasitoides e, consequentemente, a força da interação competitiva entre elas;
- A distribuição e abundância das espécies hospedeiras, praga e alternativa, afeta a efetividade do controle biológico da praga, *D. saccharalis*.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Cana-de-Açúcar

Com uma produção de 22% do açúcar produzido mundialmente, o Brasil é destaque na produção mundial de cana-de-açúcar, na qual o setor sucroenergético representou cerca de 9,9% das exportações brasileiras na safra de 2020/21 (Nachiluk 2021). Em 2021, a área ocupada pela cana-de-açúcar correspondia a 10,65% da área agrícola no Brasil (IBGE 2022). Somente no estado de São Paulo, considerado o líder na produção de cana-de-açúcar e responsável por 49,53% da produção nacional, a área plantada representou 49,83% da área total de cana-de-açúcar no Brasil (IBGE 2022).

A cana-de-açúcar é considerado uma cultura semi-perene, ou seja, possui uma longa duração, de 5 a 7 anos, sem necessidade de replantio entre as colheitas. A duração da plantação depende de diversos fatores, tais como o manejo da área plantada e da plantação, variedade da planta, condições climáticas e manejo fitossanitário (Silva et al.

2017). O primeiro corte da cana normalmente ocorre no período compreendido entre maio e novembro, quando a planta tem idade entre 10 e 14 meses, o que permite que a própria cana-de-açúcar rebrote, sem a necessidade de um novo plantio (Silva et al. 2017).

Em 5 anos, uma plantação de cana consegue passar por aproximadamente 5 ciclos de colheita com a qualidade e capacidade da cana em ser transformada em álcool e açúcar, ou Açúcar Total Recuperável (ATR) alto. Embora o ATR diminua a cada colheita subsequente, a safra brasileira de 2022/23 produziu cerca de 84.936.312 toneladas de ATR (CONAB 2022). Todavia a produtividade anual da cana é afetada por fatores climáticos, como falta ou excesso de chuvas e geadas, e fatores biológicos, como a presença de doenças ou pragas, com destaque para *Diatraea saccharalis* (Fabricius 1794) (Lepidoptera: Crambidae), a broca-da-cana (Oliveira et al. 2012).

4.2. *Diatraea saccharalis* – broca-da-cana

A broca-da-cana é um inseto holometábolo com seu ciclo de vida se iniciando na forma de ovo que é depositado em massas de 5 a 50 ovos na face dorsal das folhas da cana-de-açúcar pela fêmea adulta (Filho & Lima 2001, Gallo et al. 2002). Após a eclosão a larva que se desloca até a base da folha, se alimentando do parênquima das folhas, e após o primeiro instar larval, inicia o processo de escavação do colmo da planta, criando galerias (Gallo et al. 2002, Oliveira et al. 2012). A fase larval de *D. saccharalis* geralmente dura cerca de 40 dias, entretanto, a lagarta pode permanecer por até 6 meses dentro do colmo em resposta as condições climáticas (Gallo et al. 2002). No fim do estágio larval, o indivíduo torna-se pupa dentro do colmo, seguido pelos adultos emergindo da pupa e saindo das galerias dentro do colmo da planta (Gallo et al. 2002). Os adultos possuem um período de vida de aproximadamente 7 dias em condições laboratoriais (Costa et al. 2010) e o ciclo biológico completo dura cerca 60 dias, variando com as condições climáticas. Assim, *D. saccharalis* pode ter cerca de 4 a 5 gerações no período de um ano (Gallo et al. 2002).

O estágio larval de *D. saccharalis* é o estágio de vida do inseto que mais causa prejuízos a plantação de cana-de-açúcar, resultando em uma perda da biomassa e redução na produção de açúcar e álcool (Rossato et al. 2013) através de redução da biomassa, morte da gema apical e aumento da suscetibilidade da planta a doenças causadas por microrganismos oportunistas, que entram no colmo através dos orifícios abertos pelo

lepidóptero (Gallo et al. 2002, Pinto et al. 2006, Gallo et al. 2022). Uma intensidade de infestação de 1% nos colmos pela lagarta resulta em perda de cerca de 0,49% de açúcar, 0,28% de álcool e 1,50% na produtividade da cana (Dinardo-Miranda et al. 2011).

Paisagens agrícolas, de maneira geral, são caracterizadas por mosaicos espaço-temporais de culturas nos quais as pragas podem sobreviver e persistir, explorando diferentes áreas caracterizadas por diferentes épocas de plantio, numa dinâmica metapopulacional (Hanski 1999), o que pode resultar em ocorrências de reinfestação da plantação pela praga após a colheita da cana-de-açúcar, se fazendo necessário o uso contínuo de métodos de controle de praga, como o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Parra et al. 2020).

4.3. Manejo Integrado de Pragas (MIP)

O MIP consiste no manejo de uma única praga, ou múltiplas pragas, através do uso de diferentes métodos (uso de defensivos agrícolas, uso de controle biológico, uso de métodos preventivos, controle comportamental, entre outros) baseado no custo/benefício, levando em conta o impacto ambiental, social e a produção (Kogan 1998). O MIP define diferentes níveis de densidade da praga, específico por espécie de praga e cultura, em que diferentes ações podem ser tomadas (Kogan 1998), sendo, por exemplo, algum deles: (i) o Nível de Controle (NC) ou Nível de Ação, que é a densidade limite da população da praga, na qual se deve iniciar o uso de métodos de controle para manter a densidade da praga a baixo desse limiar (Pedigo et al. 1986, Kouga 1998), e (ii) o Nível de Dano Econômico que é definido por uma densidade de praga, superior ao NC, em que se iniciam os danos econômicos significativos às plantas (Stern et al. 1959, Kouga 1998).

O Controle Biológico de Pragas é um dos métodos incluído no MIP, e consiste no uso de um inimigo natural (predador, parasita ou parasitoide) para o controle da praga (Parra et al. 2002). O uso de um organismo para controlar a densidade de praga é uma técnica antiga, tendo os primeiros registros no século III a.C. quando os chineses utilizaram uma espécie de formiga, *Oecophylla smaragdina* Fabr., para predação de lepidópteros desfolhadores e coleópteros de citros (Clausen 1956, van den Bosch et al. 1982). No Brasil o primeiro programa de controle biológico foi estabelecido em 1916 com a introdução de um parasitoide, *Prospaltella berlesei* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) no controle da cochonilha-branca-da-amoreira (Costa & Perioto 2017).

Desde então muitos outros programas foram introduzidos, e o interesse pelo uso de agentes biológicos tem crescido, principalmente após a publicação do livro *Primavera Silenciosa*, em 1962, escrito por Rachel Carson, no qual ela chamava a atenção para o uso inadequado de produtos químicos para controle de pragas, chamando a atenção da comunidade científica para o uso de métodos ambientalmente menos agressivos para o controle de pragas, o Controle Biológico, que hoje é incluído dentro do Manejo Integrado de Pragas (Parra et al. 2002).

Dentro do Controle Biológico há quatro procedimentos diferentes (Parra et al. 2020), sendo eles:

- ✓ **Introdução ou Liberação Clássica:** consiste na liberação de um agente biológico importado, visando seu estabelecimento na área aplicada para o controle de uma praga exótica. Recentemente, entretanto, a utilização de predadores e parasitoides nativos também tem sido usada com frequência (Cock et al. 2010, Parra et al. 2020). Neste tipo de Controle Biológico, os inimigos naturais são multiplicados e liberados em baixas quantidades, configurando uma liberação inoculativa devido às restrições a técnicas de criação massal desses organismos (Parra et al. 2020);
- ✓ **Conservação, Método Conservativo ou Natural:** este método tem o objetivo de manter a conservação e, se possível, aumentar o número de organismos benéficos na natureza. As técnicas dentro deste procedimento envolvem a correta utilização de defensores agrícolas em épocas corretas, preservação do habitat natural, oferecimento de fontes de alimentação para os inimigos naturais, entre outras. Os inimigos naturais assim preservados são os responsáveis pela manutenção e equilíbrio da praga (Parra et al. 2020);
- ✓ **Multiplicação, Controle Biológico Aplicado ou Aumentativo:** método que inclui liberações de grandes quantidades de inimigos naturais, criados de maneira massal em laboratórios. Este método visa a rápida diminuição de praga para seu nível de equilíbrio. Este método é bastante utilizado devido a ação rápida, análoga a ação do uso de um defensor agrícola, e não se espera o efeito dos inimigos naturais que permanecerão na plantação após a liberação (Parra et al. 2020);
- ✓ **Manejo Externo:** procedimento mais recente no qual o inimigo natural é liberado fora do local de cultivo, onde há focos da praga, como pomares abandonados ou qualquer área onde a praga está presente e não há aplicação de medidas de controle (Diniz et al. 2020, Parra et al. 2020).

Dentre os diferentes métodos de Controle Biológico há três estratégias para a liberação dos inimigos naturais, sendo elas: Liberação Inoculativa, Liberação Inundativa e Liberação Inoculativa Estacional. A liberação Inoculativa é usada em sistemas com baixa variabilidade temporal e é típica do Controle Biológico Clássico. Esta liberação é tipicamente realizada em culturas perenes e semi-perenes. O objetivo deste tipo de liberação é introduzir o inimigo natural no sistema e permitir que ele cresça e controle a praga (Parra et al. 2020). A liberação Inundativa é usada frequentemente em culturas anuais, nas quais é liberado uma grande quantidade de inimigos naturais com o objetivo de diminuir rapidamente a população da praga, sendo análogo ao uso de defensores agrícolas (Parra et al. 2020). A Liberação Inoculativa Estacional é uma mistura dos outros métodos de liberação, ou seja, é liberada uma grande quantidade de inimigos naturais e se espera que eles controlem a praga no momento da liberação e continuem presentes controlando a população da praga. A Liberação Inoculativa Estacional geralmente é feita em casas-de-vegetação (van Lenteren 2000, Parra et al. 2020).

O controle biológico leva em consideração a liberação de um inimigo natural, como a liberação de um parasito, predadores e parasitoides (Parra et al. 2020).

4.4. Parasitoides

Parasitoides são organismos que utilizam um organismo hospedeiro para o desenvolvimento de seu estágio imaturo. O hospedeiro é obrigatoriamente morto e o adulto, que emerge do hospedeiro, possui vida livre (Godfray 1994, Parra et al. 2020). Os parasitoides são classificados pelo estágio de vida no qual atacam seus hospedeiros, ou seja, durante as fases de ovo, larva ou ninfa e adulto, e pela forma como explora seu hospedeiro: cenobiontes, quando permitem que o hospedeiro continue parcialmente seu desenvolvimento se alimentando e crescendo após o parasitismo e idiobiontes, quando paralisam o hospedeiro para o desenvolvimento de suas larvas. Os parasitoides também podem ser classificados pelo local no qual seus imaturos se desenvolvem em: endoparasitoides, quando se desenvolvem dentro do hospedeiro ou ectoparasitoides, quando se desenvolvem fora do corpo dos hospedeiros e, também, pela quantidade de ovos postos no hospedeiro pela fêmea, ou seja, parasitoides gregários, quando de um hospedeiro emergem mais de um adulto ou solitários, quando apenas um adulto emerge do hospedeiro (Godfray 1994, Parra et al. 2020).

A interação hospedeiro-parasitoide tem sido foco de muitos estudos que visam entender a efetividade do uso de parasitoides na regulação de insetos pragas (Eilenberg et al. 2001).

4.4.1. *Cotesia flavipes*

O programa de controle biológico utilizando o endoparasitoide larval *C. flavipes* foi iniciado no Brasil na década de 1970 e desde então tem sido considerado como um caso de sucesso no controle de *D. saccharalis* (Téran 1975, Oliveira et al. 2012, Parra et al. 2020). O uso de *C. flavipes* no controle da broca-da-cana resultou na redução no uso de 951 mil litros de defensivos agrícola entre os anos de 1980 e 2005 (Bueno 2010), fato que potencializa as vantagens da utilização do controle biológico no combate às pragas, assim como a especificidade em relação às espécies-alvo de insetos (Oliveira & Ávila 2010).

Após 10 anos da introdução de *C. flavipes* no Brasil, 943 milhões de adultos desta espécie parasitoide estavam sendo liberados por ano (Copersucar 1992). Em 2018 a quantidade utilizada aumentou para 21 bilhões/ano (Pinto 2020). Entretanto, a eficácia do controle não se mostrou igual a eficácia observada nas introduções iniciais devido a qualidade do material produzido (Lima 2011, Carvalho 2017, Santos 2018) e a negligência na liberação do parasitoide (Oliveira et al. 2012).

4.4.2 *Tetrastichus howardi*

Tetrastichus howardi é um endoparasitoide generalista capaz de atacar diferentes espécies de lepidópteros (Barbosa et al. 2015, Lucchetta 2016, Oliveira et al. 2016, Fernandes 2018, Rodrigues et al. 2019). O ataque de *T. howardi* a *D. saccharalis* ocorre nas suas fases de lagarta, pupa e adultos da broca-da-cana, com preferência para a fase de pupa (Cruz et al. 2011, Vargas et al. 2015, Pereira et al. 2015, Rodrigues et al. 2019). Esta espécie é considerada generalista, pois também pode usar como hospedeiros outros insetos pertencentes a diferentes ordens, como Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (Moore & Kfir 1995, González et al. 2007, Prasad et al. 2007, Oliveira 2013).

4.5. Uso de Múltiplos Parasitoides em programas de controle biológico

A diversidade de espécies associadas a uma espécie de praga tem aumentado o interesse no uso simultâneo de espécies de parasitoides para o controle biológico de pragas (Amarasekare 2000). O uso de múltiplos parasitoides tem sido promissor para controlar estágios de vida diferentes de uma mesma praga ou quando uma segunda espécie parasitoide tem características que complementam a deficiência da outra espécie, trazendo maior efetividade no controle das pragas. Por exemplo, para contornar a redução da efetividade de *C. flavipes* em plantações de cana, uma prática comum tem sido a liberação do parasitoide *Trichogramma galloi*, Zucchi, 1988 (Hymenoptera, Trichogrammatidae), um parasitoide de ovo, seguida da liberação de *C. flavipes*. Essa interação tem uma efetividade de mais de 60% na redução da infestação da broca-da-cana (Botelho et al. 1999).

O uso de diferentes espécies parasitoides como agentes de controle biológico traz vantagens quando as espécies ocupam diferentes nichos de forrageamento (Cancino et al. 2014). Por outro lado, a estratégia pode ser desvantajosa quando as espécies estabelecem relações antagônicas e passam a competir pelo recurso comum (Vet et al. 1984, Denoth et al. 2002., Wang & Messing 2004a, b). Neste contexto, o uso de *C. flavipes* e *T. howardi* pode favorecer a diminuição populacional de *D. saccharalis* na plantação de cana-de-açúcar quando *T. howardi* parasita as pupas da praga que escapam do parasitismo de *C. flavipes* durante a fase de lagarta (Costa 2013, Rodrigues et al. 2019), e quando as espécies parasitoides não interferem nas taxas de parasitismo uma da outra.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahamson W. G, Blair C. P (2008). Sequential radiation through host-race formation: herbivore diversity leads to diversity in natural enemies. In: Tilmon K, editor. Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects. Berkeley (California): University of California Press. pp. 188–202.

Amarasekare, P. (2000). Coexistence of competing parasitoids on a patchily distributed host: local vs. Spatial mechanisms. *Ecology*, v. 81, n. 5, p. 1286-1296.

Antolin, M. F., Bjorksten, T. A., Vaughn, T. (2006). Host-related fitness trade-offs in a presumed generalist parasitoid, *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Ecological Entomology*, v. 31, n. 3, p. 242-254.

Botelho, P. S. M. et al. (1999). Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 28(3), 491-496.

Broadley, H. J. et al. (2019). Recruitment of native parasitic wasps to populations of the invasive winter moth in the northeastern United States. *Biological Invasions*, v. 21, n. 9, p. 2871-2890.

Bueno, V. H. P. (2010). Controle biológico na região Sudeste. *G.BIO: revista de controle biológico*, Piracicaba, p. 4-6, abr. Edição especial.

Cancino, J. et al. (2014). Parasitism by *Coptera haywardi* and *Diachasmimorpha longicaudata* on *Anastrepha* flies with different fruits under laboratory and field cage conditions. *BioControl*, v. 59, n. 3, p. 287–295.

Carvalho, V. F. P. (2017). Qualidade de *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) produzida por biofábricas do estado de São Paulo. 66p. (Dissertação) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP.

Clausen, C.P. (1956). Biological control of insect pests in the continental United States. Washington, USDA, 151p. (Tech. Bull. 1139)

Cock, M. J et al. (2010). Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? *BioControl*, 55(2), 199-218.

CONAB (2021). Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar: v. 7 - Safra 2022/23, n. 1 – Primeiro levantamento, Brasília, p.1-57.

Copersucar. (1992). Entomology: Biological Control of the borer. In: Copersucar Annual Report 1991/1992. Piracicaba: CTC 27-28.

Costa, D. M. et al. (2010). Biologia da broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Lepidoptera: Crambidae) em dieta artificial. *Ciência et Praxis*, 3(05), 13-16.

Costa, D. P. (2013). Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

Costa, V. A., Perioto, N. W. (2017). Tecnologia sustentável: insetos parasitoides. O Estado de São Paulo: Instituto Biológico. Disponível em: <http://repositoriobiologico.com.br/jspui/handle/123456789/323> Acesso em Agosto de 2022.

Cusumano, A., Peri, E., Colazza, S. (2016). Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Current opinion in insect science*, v. 14, p. 12-16.

Denoth, M., Frid, L., Myers, J. H. (2002). Multiple agents in biological control: Improving the odds? *Biological Control*, v. 24, n. 1, p. 20–30.

Dinardo-Miranda, L. L., Fracasso, J. V., Perecin, D. (2011). Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. *Bragantia*, v. 70, n. 3, p. 577-585.

Diniz, A. J. F., et al. (2020). The enemy is outside: Releasing the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in external sources of HLB inocula to control the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Neotropical Entomology*, 49(2), 250-257.

Eggleton, P., Gaston, K. J. (1990). "Parasitoid" species and assemblages: convenient definitions or misleading compromises? *Oikos*, p. 417-421.

Eilengerg J. et al (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, v.46, p. 387-400.

Filho, M. & Lima, J. O. G. (2001). Massas de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar: número de ovos e porcentagem de

parasitismo por *Trichogramma spp.* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições naturais. *Neotropical Entomology*, 30, 483-488.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira, N. S.; Carvalho, R. P. L.; Batista, G. C.; Filho, E. B.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramin, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. (2002). *Entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ. 920p.

Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. United States: Princeton University Press.

González, J. F. Á. et al (2007). Interacción entre *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) y *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoides de *Diatraea saccharalis* (Fab.) En Cuba. Parte I. *Centro Agrícola*, v. 34, n. 3, p. 69-73.

Gripenberg, S. et al. (2011) A novel parasitoid and a declining butterfly: cause or coincidence? *Ecological Entomology*, v. 36, n. 3, p. 271-281.

Hanski, I. (1999). Habitat Connectivity, Habitat Continuity, and Metapopulations in Dynamic Landscapes. *Oikos*, vol. 87, no. 2, 1999, pp. 209–19. <https://doi.org/10.2307/3546736>

Herlihy, M. V., Talamas, E. J., Weber, D. C. (2016). Attack And success of native and exotic parasitoids on eggs of *Halyomorpha halys* in three Maryland habitats. *PLoS One*, v. 11, n. 3.

IBGE (2022) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 25: 127. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 29 de Março de 2022.

Jones, T. S. et al. (2015). Host switching in a generalist parasitoid: contrasting transient and transgenerational costs associated with novel and original host species. *Ecology and Evolution*, v. 5, n. 2, p. 459-465.

Kogan, M. (1998). Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual review of entomology*, v. 43, 243.

Lima, A. A. (2011). Comparação de dietas artificiais para criação de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) e avaliação da qualidade de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em criações massais. 96p. (Dissertação) Instituto Biológico.

Moore, D., Kfir, R. (1995). Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae). *Entomophaga*, v. 40, n. 1, p. 69-76.

Murdoch, W. W. (1969). Switching in general predators: experiments on predator specificity and stability of prey populations. *Ecological monographs*, v. 39, n. 4, p. 335-354.

Nachiluk, k. (2021) Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana. *Análises e Indicadores do Agronegócio*, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. p. 1-5. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/tertexto.php?Codtexto=15925>>. Acesso em: 29 de Março de 2022.

Oliveira, F. G (2013). Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae). 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Faculdades de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

Oliveira, H. N. et al. (2012) Recomendações para obter um controle biológico mais eficaz da broca-da-cana-de-açúcar. *Comunicado Técnico (181)*. Dourados: Agropecuária Oeste. 8p.

Oliveira, H. N.; Ávila, C. J (2010). Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. *G.BIO: revista de controle biológico*, Piracicaba, p. 11-13. Edição especial.

Pacheco, H. M. et al. (2018). Food web associations and effect of trophic resources and environmental factors on parasitoids expanding their host range into non-native hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 166, n. 4, p. 277-288.

Paranhos, B. J.; Nava, D. E.; Malavasi, A. (2019). Biological control of fruit flies in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 54. doi: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.26037>

Parra, J. R. P. (2014). Biological control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*, v. 71, n. 5, p. 420-429.

Parra, J. R. P. et al. (2020) Conceitos e evolução do Controle Biológico IN: Parra, J. R. P. et al. (2020). *Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira*. Brazil: FEALQ. Pp. 17-38.

Parra, J. R. P., Botelho, P. S. M., Correa-Ferreira, B. S., Bento, J. M. S. (2002). Controle biológico: terminologia. IN: Parra, J. R. P. et al. (2002). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Brazil: FEALQ. Pp. 1-13.

PEDIGO, L.P. et al. (1986). Economic injury levels in theory and practice. Annual Review of Entomology, v. 31, p. 341-368.

Pereira, F. F. et al (2015). Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Florida Entomologist, v. 98, n. 1, p. 377-380.

Pereira, R. R., Neves, D. V. C., Campos, J. N., Júnior, P. S., Hunt, T. E., & Picanço, M. C. (2018). Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. Bulletin of entomological research, v. 108, n. 6, p. 831-842.

Pinto, A. S. (2020) O Caso de *Cotesia flavipes* na cana-de-açúcar no Brasil. IN: Parra, J. R. P. et al. (2020). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Piracicaba: FEALQ. Pp. 159-202.

Pinto, A.S. et al. (2006). A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. IN: Parra, J. R. P. et al. (2006). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Piracicaba: FEALQ. Pp. 15-20.

Prasad, K. S. et al. (2007). Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Olliff.), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). Indian Journal of Sericulture, 46(1), 89-91.

Rodrigues, A., Pereira, F. F., Barbosa, P. R., Silva-Torres, C. S., & Torres, J. B. (2021). Parasitism behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on larvae and pupae of sugarcane borers. Journal of Insect Behavior, 34(3), 71-81. doi: <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>

Rossato, J. A. et al (2013). Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. Agronomy Journal, v. 105, n. 3, p. 643-648.

Sanchez, C. et al. (2018). Comparison of predator-parasitoid-prey interaction models for different host plant qualities. Community Ecology, v. 19, n. 2, p. 125-132.

Santos, R. F. D. (2018). Qualidade do parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) produzido por biofábricas de diferentes regiões do Brasil.

Tese (Doutorado) - - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/157433>

Silva, S. D., Nava, D. E., Montero, C. R. S., Sturza, V. S. (2017). Sistema de produção de cana-de-açúcar para agricultura familiar. Alternativas Para a Diversificação Da Agricultura Familiar de Base Ecológica, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, pp. 47-55

Stern, V.M. et al. (1959). The integrated control concept. *Hilgardia*, v. 29, p.81-101.

Stireman, J. et al. (2006). Cascading host-associated genetic differentiation in parasitoids of phytophagous insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 273, n. 1586, p. 523-530.

Talamas, E. J. et al. (2015). *Trissolcus japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera, Scelionidae) emerges in North America. *Journal of Hymenoptera Research*, v. 43, p. 119.

Téran, F. O. (1975). O Controle Biológico da broca-da-cana-de-açúcar nas usinas cooperadas. In: Seminário Copersucar da Agroindústria Açucareira, 3, Águas de Lindóia. Anais Águas de Lindóia.

Thompson, J. N. (1999). Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. *the american naturalist*, v. 153, n. S5, p. S1-S14.

van den Bosch, R., P.S. et al. (1982). An introduction to biological control. New York, Plenum Press, 247p.

van Lenteren, J. C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? *Crop protection*, 19(6), 375-384.

Vargas, G. et al (2015). Sugarcane stem borers of the Colombian Cauca River Valley: current pest status, biology, and control. *Florida entomologist*, v. 98, n. 2, p. 728-735.

Vet, L. E. M.; Meyer, M.; Bakker, K.; Alphen, J. J. M. V. A. N. (1984). Intra-and interspecific host discrimination in *Asobara* (Hymenoptera) larval endo-parasitoids of *Drosophilidae*: comparison between closely related and less closely related species. *Animal Behaviour*, v. 32, n. 2, p. 871–874.

Wang, X. G. & Messing, R. H. (2004a). Potential interactions between pupal and egg or larval-pupal parasitoids of tephritid fruit flies. *Environmental Entomology*, v. 33, p. 1313–1320.

Wang, X. G. & Messing, R. H. (2004b) The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. *Biological Control*, v. 31, p. 227–236.

Yang, J. et al. (2018). Interspecific competition between *Fopius arisanus* and *Psytalia incisi* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, v. 121, n. 1, p. 183–189.

Zepeda-Paulo, F. A. et al. (2013). Adaptive evolution of a generalist parasitoid: implications for the effectiveness of biological control agents. *Evolutionary Applications*, v. 6, n. 6, p. 983-999.

CAPÍTULO 1 – Efetividade do multiparasitismo e estratégias de liberação de parasitoides para programas de controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo

O Brasil é um dos principais produtores de cana-de-açúcar mundial, entretanto, a produção sucroalcooleira tem sido impactada pelo ataque da broca-da-cana, resultando na diminuição da qualidade e quantidade do produto. O endoparasitoide *Cotesia flavipes* tem sido usado com sucesso no controle da população da praga no estágio de lagartas e recentemente, outra espécie parasitoide, *Tetrastichus howardi*, também tem sido considerada como agente de controle biológico potencial de pupas da broca-da-cana. Neste contexto, a liberação simultânea das espécies nas plantações de cana tem sido sugerida, devido ao fato de as espécies serem capazes de parasitar a praga em diferentes estágios de vida. Este trabalho teve como objetivo avaliar, através modelo matemático e simulações computacionais, e tendo como base dados biológicos e protocolos adotados em liberações em campo, a efetividade do controle biológico realizado através do uso de liberações de *C. flavipes* isolada ou em associação com *T. howardi*, realizadas na borda ou no interior da área de um hectare de talhões de cana, em uma paisagem composta por uma área de 10 hectares de área plantada. Os resultados mostraram que em todos os cenários simulados as liberações de parasitoides foram capazes de controlar a praga no período de uma colheita de cana-de-açúcar. Entretanto, embora os efeitos da competição entre as espécies parasitoides tenham sido observados, a avaliação da densidade e ocupação das populações da praga na área de cultivo após as liberações de parasitoides mostraram que a liberação das espécies em associação, além de ter sido eficiente no primeiro ciclo da cana, também apresentou maior eficiência no controle da praga nos ciclos subsequentes da cultura.

Palavras- chave: *Cotesia flavipes*, *Tetrastichus howardi*, competição interespecífica, modelo matemático.

Effectiveness of multiparasitism and parasitoid release strategies for Sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) biological control programs

Abstract

Brazil is one of the main producers of sugarcane in the world, however, sugarcane production has been impacted by the attack of the sugarcane borer, resulting in a decrease in both, the quality, and quantity of the product. The endoparasitoid *Cotesia flavipes* has been successfully used to control the pest's population in the caterpillar stage and, recently, another parasitoid species, *Tetrastichus howardi*, has also been considered as a potential biological control agent for sugarcane borer pupae. In this context, the simultaneous release of the species in the sugarcane crops has been suggested since the species can parasitize the pest at different life stages. This study aimed to evaluate, through a mathematical model and computer simulations, based on biological data and protocols adopted in field releases, the effectiveness of biological control carried out using *C. flavipes* releases isolated or in association with *T. howardi*, carried out on the edge or inside the area of one hectare of sugarcane stands, in a landscape comprising an area of 10 hectares of the planted area. The results showed that in all simulated scenarios, parasitoid releases were able to control the pest in the period of a sugarcane harvest. However, although the effects of competition between parasitoid species have been observed, the evaluation of the density and occupation of pest population in the crop area after parasitoid releases showed that the species release in association was not only efficient in the first cycle of sugarcane, but also showed greater efficiency in controlling the pest in subsequent crop cycles.

Keywords: *Cotesia flavipes*, *Tetrastichus howardi*, interspecific competition, mathematical model.

Efetividade do multiparasitismo e estratégias de liberação de parasitoides para programas de controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

1. Introdução

O Brasil tem se destacado como principal produtor de cana-de-açúcar do mundo, sendo responsável pela produção de 22% do açúcar produzido mundialmente, na qual o complexo sucroenergético representou cerca de 9,9% das exportações brasileiras na safra de 2020/21 (Nachiluk, 2021). Em 2021, a área ocupada pela cana-de-açúcar representava 10,65% da área plantada no Brasil (IBGE 2022). Somente no estado de São Paulo, considerado o líder na produção de cana-de-açúcar e responsável por 49,53% da produção nacional, a área plantada correspondeu a 49,83% da área total de cana-de-açúcar no Brasil (IBGE 2022).

Em áreas de plantio de cana, a broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1974) (Lepidoptera: Crambidae) é considerada uma praga importante, por causar perda de biomassa e redução na produção de açúcar e álcool (Rossato et al. 2013). Estudos mostram que a cada 1% de intensidade de infestação da praga há perda de 0,49% de açúcar, 0,28% de álcool e 1,50% na produtividade dos colmos da cana (Dinardo-Miranda et al. 2011). O uso do controle químico de *D. saccharalis*, entretanto, não é considerado eficiente pois a maior parte do desenvolvimento da lagarta acontece no interior do colmo da cana, local não acessível a ação dos defensivos agrícolas. Deste modo, o controle biológico da broca-da-cana, através do uso do endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). Estudos mostram que por meio do uso de *C. flavipes* no controle da broca-da-cana houve redução no uso de 951 mil litros de defensivos agrícola entre os anos de 1980 e 2005 (Bueno 2010), fato que potencializa as vantagens da utilização do controle biológico no combate de pragas, assim como a especificidade em relação às espécies-alvo de insetos (Oliveira & Ávila 2010).

Recentemente, *Tetrastichus howardi* (Olliff 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), um endoparasitoide gregário, que pode se desenvolver em lagartas e preferencialmente em pupas de *D. saccharalis*, também tem se mostrado promissor no combate a broca-da-cana (Pereira et al. 2015, Vargas et al. 2015). Esta espécie, é considerada generalista, pois

também pode usar como hospedeiros outros insetos pertencentes a diferentes ordens, como Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (Moore & Kfir 1995, González et al. 2007, Oliveira 2013). Em um estudo conduzido em laboratório (González et al. 2003) foi observado que uma fêmea de *T. howardi* ovopositou cerca de 30 ovos em uma única pupa de *D. saccharalis*, sugerindo importante potencial para supressão da população da praga em campo.

A diversidade de espécies associadas a uma espécie de praga tem aumentado o interesse no uso simultâneo de espécies de parasitoides para o controle biológico de pragas (Amarasekare 2000). O uso de múltiplos parasitoides tem sido promissor para controlar estágios de vida diferentes de uma mesma praga ou quando uma segunda espécie parasitoide tem características que complementam a deficiência da outra espécie, trazendo maior efetividade no controle das pragas.

O uso de diferentes espécies parasitoides como agentes de controle biológico traz vantagens quando as espécies ocupam diferentes nichos de forrageamento (Cancino et al. 2014, Yang et al. 2018, Montoya et al. 2019). Por outro lado, a estratégia pode ser desvantajosa quando as espécies estabelecem relações antagônicas e passam a competir pelo recurso comum (Vet et al. 1984, Denoth et al. 2002, Wang & Messing 2004 A, B, Yang et al. 2018). Neste contexto, o uso de *C. flavipes* e *T. howardi* pode favorecer a diminuição populacional de *D. saccharalis* na plantação de cana-de-açúcar quando *T. howardi* parasita as pupas da praga que escapam do parasitismo de *C. flavipes* durante a fase de lagarta (Costa 2013, Rodrigues et al. 2019), e quando as espécies parasitoides não interferem nas taxas de parasitismo uma da outra.

Este estudo teve como objetivo avaliar, através do uso de modelo matemático com estrutura espacial e simulações computacionais, a efetividade do uso de duas espécies parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi*, que utilizam como hospedeiro a broca-da-cana em dois estágios de vida diferentes, estágio de lagarta e de pupa, respectivamente. O potencial de redução da praga pelos parasitoides foram parametrizados através do estudo experimental da resposta funcional das espécies sobre diferentes densidades do hospedeiro. Desta forma, foi possível estimar as taxas de ataque e tempo de manuseio da praga pelas espécies parasitoides, que foram usados no modelo matemático para descrever a força de interação dos parasitoides com a praga. Através das simulações computacionais, a efetividade da ação dos parasitoides foram explorados em dois cenários: (i) liberação de somente *C. flavipes*, (ii) liberação simultânea de *C. flavipes* e *T.*

howardi. Também foi avaliado como diferentes métodos de liberação dos parasitoides: em 8 pontos/hectare aleatórios exclusivamente nas bordas ou aleatoriamente no interior a área de 1 hectare. Os resultados foram discutidos em termos do potencial de ação dos parasitoides liberados em associação na redução da densidade populacional, ocupação e distribuição da praga na área total de plantio de cana.

2. Materiais e Métodos

Neste estudo, foi desenvolvido um modelo matemático com estrutura espacial para avaliar, através de simulações computacionais, possíveis estratégias para o controle biológico da broca-da-cana, utilizando como agentes de controle os parasitoides *C. flavipes* e *T. howardi*. A parametrização do modelo foi feita com base em dados biológicos obtidos da literatura. Para diferenciar o potencial de cada espécie parasitoide em reduzir a população da praga, as equações de interação de cada espécie parasitoide com a praga foram caracterizadas pelos parâmetros biológicos taxa de ataque, que define a capacidade da fêmea parasitoide encontrar seus hospedeiros e tempo de manuseio, que define o tempo que a fêmea parasitoide leva para subjugar seu hospedeiro e realizar a oviposição durante o parasitismo. Para isto, os dados de resposta funcional, definida como o número médio de hospedeiros parasitados por uma única fêmea parasitoide em função da abundância de hospedeiros ao longo do tempo (Holling 1959, Hassell & Comins 1978), de cada espécie parasitoide, foram obtidos através de experimentação em laboratório, seguido do ajuste dados biológicos a equações para estimativa da resposta funcional. Dessa forma, as diferenças no potencial de parasitismo na redução da população da praga por ambas as espécies foram consideradas nas simulações.

2.1.Obtenção da resposta funcional das espécies parasitoides estudadas

A resposta funcional de *C. flavipes* e *T. howardi* foi avaliada em placas de Petri (15 cm de diâmetro × 2,5 cm de altura), considerando os seguintes tratamentos: (i) *C. flavipes* × lagartas de *D. saccharalis* e (ii) *T. howardi* × pupas de *D. saccharalis*. Foram disponibilizadas a uma fêmea parasitoide, seis densidades do hospedeiro: 1, 2, 5, 10, 20 e 25. Foram feitas 10 réplicas para cada densidade. Para simular experimentalmente a interação do hospedeiro com seus parasitoides, que ocorre naturalmente no interior do

colmo da cana de açúcar, cada hospedeiro foi individualizado em um canudo plástico transparente (7cm) contendo dieta artificial (1 cm) e uma fita adesiva cobrindo uma extremidade do canudo (Fig. 1).



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

O parasitismo foi permitido por 96 h (4 dias) e, após este período, os parasitoides foram removidos e as lagartas e/ou pupas individualizadas em tudo de vidro (8,5 × 2,5 cm) vedados com algodão e mantidas em sala climatizada (25±1°C, UR de 70±10% e fotófase de 14h) até emergência dos parasitoides ou do hospedeiro (Costa et al. 2014; Pereira et al. 2015). Os tubos contendo lagartas continham dieta para sua alimentação.

A resposta funcional pode assumir três formas básicas. O primeiro tipo (Tipo I) é provavelmente incomum na natureza, pois o número de hospedeiros parasitados pelo parasitoide em função da densidade do hospedeiro segue uma trajetória linear. O segundo tipo de resposta (Tipo II) é provavelmente o mais comum, pois o parasitoide atinge o ponto de saturação em termos de parasitismo após uma certa densidade do hospedeiro. A resposta Tipo III é caracterizada por um período inicial com baixa taxa de parasitismo, seguido por uma curva exponencial que termina com saturação, como na resposta Tipo II, o que sugere um padrão sigmoide de parasitismo do hospedeiro (Holling 1959; Hassell 1978). Como os hospedeiros parasitados não foram substituídos ao longo do tempo de experimentação, para os ajustes dos modelos de resposta funcional, foram usadas o

conjunto de equações propostas por Rogers (1972), que leva em conta a depleção do hospedeiro e sua não reposição ao longo do tempo. Assim, para a resposta funcional o Tipo II foi ajustado aos dados com a seguinte equação:

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

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

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

2.1.1. Análise estatística – Resposta Funcional

Para uma escolha efetiva entre a resposta funcional tipo II ou III, foi realizada uma regressão logística da proporção de hospedeiros parasitados em relação à densidade de hospedeiros. As respostas funcionais do tipo II foram indicadas por um termo de primeira ordem negativo significativo, enquanto um termo de primeira ordem positivo significativo seguido por um termo de segunda ordem negativo significativo indicou uma resposta funcional do tipo III (Trexler et al., 1988, Juliano, 2001; Pritchard, 2017). Como os ovos dos hospedeiros não foram substituídos, pois foram parasitados durante o período de observação, a equação do predador aleatório foi ajustada (Rogers, 1972), que leva em conta a depleção do hospedeiro e sua não reposição ao longo do tempo. O Tipo de resposta funcional (II ou III) foi comparado com uma resposta funcional linear (Tipo I) (Holling 1959) usando o Critério de Informação de Akaike (AIC). A análise e a resposta funcional

ajustada foram feitas usando um pacote para análise de resposta funcional em R (Frair, Pritchard, 2017).

2.2. Modelo Matemático

Um modelo matemático com estrutura espacial foi desenvolvido para descrever como a estratégia de liberação de parasitoides pode influenciar a dinâmica, a distribuição e a interação entre as duas espécies parasitoides, *C. flavipes* e *T. howardi* e o inseto praga, *D. saccharalis*. Dessa forma, através de simulações, analisamos diferentes cenários estratégicos para o uso das espécies parasitoides como agentes de controle da broca-da-cana, quantificando a eficácia das estratégias em termos de regulação populacional do inseto praga e, conseqüentemente, a efetividade da utilização das espécies, isoladamente ou em conjunto, em programas de controle biológico da broca-da-cana. Nas simulações também foram avaliadas a frequência na qual o nível de controle da praga (1.517 indivíduos/hectare) é atingido após uma única liberação de parasitoides para cada estratégia estudada.

No modelo, a paisagem agrícola é representada por um *grid* de duas dimensões, composto por 2.500 células, no qual cada célula representa uma unidade espacial, ou *patch* ($\approx 40\text{m}^2$), formando uma rede de 50×50 *patches*. Cada conjunto de 250 *patches* representa um hectare de área plantada de cana, resultando em um *grid* de área de plantio de cana de açúcar de dez hectares. Para a descrição da dinâmica de interação entre as espécies dentro de cada *patch*, foram usados parâmetros demográficos e biológicos obtidos da literatura e experimentação em laboratório (Tabela 1).

Tabela 1. Lista com breve descrição dos parâmetros usados no modelo e valores usados nas simulações.

| Parâmetros | Descrição | Valores |
|------------|--|--|
| λ | Taxa de Crescimento populacional | 1,03 (Botelho, 1985) |
| n^0 | Tolerância dos hospedeiros a conspecíficos | 100 indivíduos* |
| R | Distância máxima alcançada pelos hospedeiros e parasitoides dentre os vizinhos do <i>patch</i> natal | $R_n=3$ (28 <i>patches</i> vizinhos); $R_p=1$ (4 <i>patches</i> vizinhos); $R_q=1$ (4 <i>patches</i> vizinhos) |

| | | |
|----------------------|---|---|
| μ_N | Máxima taxa de dispersão dos hospedeiros | $\mu_N = 0,3^*$ |
| μ_P, μ_Q | Máxima taxa de dispersão dos parasitoides (<i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> , respectivamente) | $\mu_P = 0,9^*$; $\mu_Q = 0,9^*$ |
| α_P, α_Q | Eficiência de busca por hospedeiro de <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> , respectivamente. | $\alpha_P = 0,28 h^{-1}$; $\alpha_Q = 8,01 h^{-1}$ |
| N^0 | Quantidade de hospedeiros mínima para a permanência de parasitoides nos <i>patches</i> | 300 indivíduos* |
| f^0 | Tolerância dos parasitoides (ambas as espécies) a conspécificos | 100 indivíduos* |
| T_s | Tempo de procura dos parasitoides (ambas as espécies) por hospedeiros | 4 h |
| T_{n1}, T_{n2} | Tempo de manuseio de hospedeiros pelos parasitoides <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> | $T_{h1} = 1,46 h$; $T_{h2} = 3,07 h$ |
| γ_P, γ_Q | Quantidade média de <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> adultos que emergem do hospedeiro | $\gamma_P = 52.5$ (Wiedenmannetal. 1992); $\gamma_Q = 30$ (González et al. 2003) |

*Valores teóricos

2.2.1. Dinâmica populacional intra-patch

A competição interespecífica entre as espécies parasitoides ocorre de maneira indireta, em diferentes estágios da vida do hospedeiro, ou seja, uma das espécies parasitoides utilizam e esgota o recurso, hospedeiro, em um *patch* impedindo que a outra espécie parasitoides encontre hospedeiros naquele *patch*. Assim, *C. flavipes* ataca o hospedeiro durante o estágio larval, enquanto *T. howardi* ataca o hospedeiro durante o estágio de pupa. Dessa forma, devido à competição assíncrona e indireta, *T. howardi* pode parasitar apenas os hospedeiros que escaparam do parasitismo de *C. flavipes*. Ambos parasitoides são gregários com vários adultos podendo emergir de um único hospedeiro parasitado. A dinâmica populacional das espécies dentro dos *patches* é descrita pelas seguintes equações (May & Hassell 1981):

$$N_{i,t+1} = \lambda N_{i,t} f(P_{i,t}) f(Q_{i,t}) \quad (1.1)$$

$$P_{i,t+1} = \gamma_P N_{i,t} (1 - f(P_{i,t})) \quad (1.2)$$

$$Q_{i,t+1} = \gamma_Q N_{i,t} f(P_{i,t}) (1 - f(Q_{i,t})) \quad (1.3)$$

Onde $N_{i,t}$, $P_{i,t}$ e $Q_{i,t}$ são, respectivamente, as populações de *D. saccharalis*, *C. flavipes* e *T. howardi* no tempo t , no *patch* i ; λ é a taxa de crescimento da população hospedeiro na ausência do parasitismo e γ_P e γ_Q representam a quantidade de parasitoides adultos que emergem do hospedeiro parasitado por *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente. As funções $f(P_t)$ e $f(Q_t)$ representam as respostas funcionais tipo II (Holling 1959) de *C. flavipes* e *T. howardi*, ou seja, a fração de hospedeiros que escapam do ataque dos parasitoides. A definição da resposta tipo II de e resposta funcional se deu após a avaliação e análise da resposta funcional das espécies obtidas através do ajuste das equações de resposta funcional aos dados (seção 2.1.1):

$$f(P_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_P T_s P_{i,t}}{1 + \alpha_P T_{hP} N_{i,t}}} \quad (2.1)$$

$$f(Q_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_Q T_s Q_{i,t}}{1 + \alpha_Q T_{hQ} N_{i,t}}} \quad (2.2)$$

Onde T_s é o tempo total de interação entre a espécie parasitoide e seu hospedeiro; T_{hP} e T_{hQ} descrevem o tempo de manuseio do hospedeiro e α_P e α_Q as taxas de ataque de *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente. Os valores atribuídos a estes parâmetros usados foram obtidos através do ajuste das equações (2.1) e (2.2) aos dados obtidos no experimento descrito na seção 2.1.

2.2.2 Dinâmica de dispersão das espécies na paisagem

Nas simulações, as populações presentes em cada *patch* foram conectadas por dispersão dependente da densidade no *grid* que representa a paisagem agrícola, no qual foi assumido bordas reflexivas. Depois da interação nos *patches*, as mariposas adultas e os parasitoides que emergem dos hospedeiros parasitados podem permanecer ou deixar os *patches*, dependendo das condições locais, ou seja, da densidade de hospedeiros e parasitoides presentes no local.

A dispersão das espécies ocorre dentro de uma distância R do *patch* original, com uma área de dispersão correspondente a aproximadamente πR^2 . A fração de indivíduos

de cada espécie que deixa o *patch* de origem é dada segundo as equações (Reigada et al. 2014):

$$N_{i,t+1}^{out} = \frac{\mu_N N_{i,t+1}^2}{N_{i,t+1} + n^0} \quad (3.1)$$

$$P_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_P \frac{N^0}{N^0 + N_{i,t+1}} \frac{P_{i,t+1}^2}{P_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} > 0 \\ P_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} = 0 \end{cases} \quad (3.2)$$

$$Q_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_Q \frac{N^0}{N^0 + N_{i,t+1}} \frac{Q_{i,t+1}^2}{Q_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} > 0 \\ Q_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} = 0 \end{cases} \quad (3.3)$$

Onde $N_{i,t+1}^{out}$, $P_{i,t+1}^{out}$ e $Q_{i,t+1}^{out}$ representam, respectivamente, a população de *D. saccharalis*, *C. flavipes* e *T. howardi* que deixam o *patch* *i*. μ_N representa a taxa máxima de dispersão dos hospedeiros quando a densidade de conspecíficos é alta (dispersão dependente da densidade) e n^0 é a tolerância dos hospedeiros a seus conspecíficos. Assim, quando a densidade de hospedeiros no *patch* é baixa, maior é a fração de hospedeiros permanecem no *patch*. μ_P e μ_Q representam a fração máxima de *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente, que podem deixar o *patch* *i* quando há poucos hospedeiros ou quando a qualidade do *patch* não é ideal (alta proporção hospedeiro/parasitoides). Assim, N^0 é o número de hospedeiros necessários para a permanência dos parasitoides no *patch* e f^0 é a tolerância dos parasitoides a seus conspecíficos (densidade limite de parasitoides presentes no *patch*, na qual não há estímulo para dispersão). Nas simulações, a decisão das espécies parasitoides em permanecer ou deixar o local é influenciada pela densidade do recurso, a broca-da-cana, e pela densidade a seus conspecíficos, uma vez que cada espécie parasita o hospedeiro em diferentes estágios de vida.

As populações de hospedeiros ($N_{j,t+1}^{in}$) e parasitoides ($P_{j,t+1}^{in}$, $Q_{j,t+1}^{in}$) se dispersam para os *patches* vizinhos *j* ($j \neq i$), dentro da área de dispersão *R* através das equações:

$$N_{j,t+1}^{in} = \frac{0.05}{r_{i,j}} N_{i,t+1}^{out} \quad (3.4)$$

$$P_{i,t+1}^{in} = \frac{0.25}{r_{i,j}} P_{i,t+1}^{out} \quad (3.5)$$

$$Q_{j,t+1}^{in} = \frac{0.25}{r_{i,j}} Q_{i,t+1}^{out} \quad (3.6)$$

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

A determinação dos valores de $r_{i,j}$ das espécies foram baseados nos estudos de Dinardo-Miranda (2014), que mostrou que *C. flavipes* possui uma capacidade de dispersão em um raio de 15m, de Barbosa e colaboradores (2019), que demonstraram que *T. howardi* pode se dispersar em um raio de 20m, e de Caixeta (2010), que demonstrou que *D. saccharalis* pode dispersar a distancias de até 450m do ponto de origem ao longo do canavial. Dessa forma, os valores de $r_{i,j}$ utilizados garantem que os hospedeiros sejam distribuídos a um maior número de *patches* situados a maiores distancias do *patch* i (28 *patches*) dentro do raio de dispersão máxima R ($r_{i,j} \leq R$) comparados aos parasitoides, que ficam restritos a dispersão aos 4 *patches* mais próximos.

Após a fase de dispersão, todos os *patches* têm suas populações atualizadas:

$$N_{i,t+1} = N_{i,t+1} - N_{i,t+1}^{out} + \sum N_{j,t+1}^{in} \quad (4.1)$$

$$P_{i,t+1} = P_{i,t+1} - P_{i,t+1}^{out} + \sum P_{j,t+1}^{in} \quad (4.2)$$

$$Q_{i,t+1} = Q_{i,t+1} - Q_{i,t+1}^{out} + \sum Q_{j,t+1}^{in} \quad (4.3)$$

Onde a população do *patch* i é o resultado da dinâmica populacional do tempo t ($N_{i,t+1}$, $P_{i,t+1}$ e $Q_{i,t+1}$) subtraído a fração de indivíduos que deixam o *patch* i ($N_{i,t+1}^{out}$, $P_{i,t+1}^{out}$ e $Q_{i,t+1}^{out}$) somado com novos indivíduos que chegam dos *patches* vizinhos j ($N_{j,t+1}^{in}$, $P_{j,t+1}^{in}$ e $Q_{j,t+1}^{in}$).

O modelo matemático foi desenvolvido em linguagem de programação Python (Van Rossum & Drake 2009) com o auxílio da biblioteca Pickle (Van Rossum & Drake 2020). A biblioteca Matplotlib (Hunter 2007), Numpy (Harris et al. 2020), SciPy (Virtanen et al. 2020), pandas (McKinney et al. 2010) e o pacote *open-sourced* APLpy (Robitaille & Bresset, 2012, Robitaille 2019) foram utilizadas para os gráficos.

2.2.3 Cenários simulados – Estudo das estratégias de liberação e uso das espécies parasitoides no controle biológico de *D. saccharalis*

Para todas as simulações foram consideradas uma infestação inicial de 15% dos *patches* da área do canavial por *D. saccharalis*. Inicialmente, 15%, do total de 250 *patches*, dentro de cada hectare foram selecionados aleatoriamente dentro da área de cultivo da cana de açúcar e receberam uma população inicial de 41 indivíduos da praga. Cada área de um hectare da plantação teve inicialmente 37 *patches* ocupados pela broca-da-cana, resultando em aproximadamente 1.517 brocas por hectare (= 15.170 indivíduos da praga na área total da plantação). O número de *patches* sorteados foi subtraído do número de *patches* que posteriormente receberam parasitoides. Após a distribuição da praga na paisagem foi feita a liberação de cada espécie de parasitoides em oito *patches* do hectare. Como condição inicial, os *patches* nos quais foram liberados os parasitoides sempre continham 41 hospedeiros. Dessa forma quando um *patch* era sorteado para liberar os parasitoides e este *patch* não continha a praga ou continha praga + parasitoide, o sorteio era realizado novamente até o encontro de um novo *patch* com hospedeiros e sem parasitoides. Os parasitoides foram liberados em pontos com hospedeiros visando evitar perda inicial de parasitoides liberados pela falta de hospedeiros no local.

A infestação inicial de 15% dos *patches* da paisagem por Broca-da-Cana corresponde a uma infestação considerada baixa (entre 1.500 e 3.000 brocas por hectare), quando se inicia o controle biológico e o dano econômico começa a ser registrado (Pinto 2012). Assim, nas simulações foi possível avaliar o potencial de regulação regional da população da praga, de maneira a evitar ou reduzir a expansão das infestações na área de plantio e conseqüentemente maiores perdas na produção da cana-de-açúcar.

A liberação de ambas as espécies parasitoides num único *patch* resultou na extinção do parasitoide de ataque mais tardio ao hospedeiro (i.e., *T. howardi*) na primeira geração, em razão da competição pelo hospedeiro. Para evitar a extinção precoce de *T. howardi* quando ambas as espécies de parasitoides são liberadas em conjunto, foi criado o protocolo de liberação na qual as espécies de parasitoides foram liberadas em *patches* diferentes, duplicando o número de pontos de liberação para 16. Em razão desse aumento foram também avaliados mais dois cenários, considerados “controle” nas avaliações, nos quais cada espécie de parasitoide foi liberada isoladamente na plantação, mas com

tamanho populacional e número de pontos de liberação iguais aos do cenário de liberação das espécies parasitoides em conjunto, com a finalidade de comparar os efeitos da competição entre as espécies sob os mesmos protocolos de liberação. Dessa forma, foram avaliados quatro cenários diferentes para o controle biológico da broca-da-cana:

(C₁) liberação de somente *C. flavipes*;

(C₂) liberação de *C. flavipes* e *T. howardi*;

(C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (cenário controle 1) e

(C₄) liberação dupla de *T. howardi* (cenário controle 2).

Para cada cenário foram avaliadas duas estratégias para a liberação dos parasitoides: (A) liberação aleatória no interior da área do hectare e (B) liberação aleatória exclusivamente na borda do hectare.

Em todos os cenários simulados (C₁A, C₁B, C₂A, C₂B, C₃ A, C₃B, C₄A e C₄B), cada espécie parasitoide foi liberada em 8 pontos diferentes, sendo a quantidade de 750 *C. flavipes* ou 875 *T. howardi* por ponto, no hectare, seguindo procedimentos adotadas na literatura (Pinto 2019, Pinto & Trujillo 2019). Dessa forma, cada evento de liberação de parasitoides totalizou 6.000 *C. flavipes*/ha e 7.000 *T. howardi*/ha. Nos cenários C₁ foram liberados 6.000 *C. flavipes*/ha e em C₂ 13.000 parasitoides (6.000 *C. flavipes* + 7.000 *T. howardi*). Nos cenários considerados “grupo controle” para o cenário C₂, foram liberados: C₃ liberação dupla de *C. flavipes* (6.000 *C. flavipes* + 7.000 *C. flavipes*) e C₄ liberação dupla de *T. howardi* (6.000 *T. howardi* + 7.000 *T. howardi*) possibilitando avaliar se há efeitos da competição entre as espécies parasitoides e qual sua consequência sobre a regulação do tamanho populacional e expansão da praga na paisagem agrícola. Para as estratégias de liberação em que houve dupla liberação de parasitoides (C₂, C₃ e C₄), as liberações foram realizadas em *patches* diferentes, visando evitar a competição por hospedeiros no momento da liberação. Assim, nestes cenários os parasitoides foram liberados em 16 pontos de cada hectare da paisagem.

Para as simulações foram consideradas apenas um evento de liberação em t=0. A introdução de novos indivíduos externos à paisagem não foi considerada. A interação entre as espécies se deu ao longo de 30 gerações. Nas simulações, consideramos que cada geração corresponde a 60 dias (Botelho, 1985). Dessa forma, analisamos a dinâmica da praga e seus inimigos naturais por aproximadamente 5 anos. A densidade populacional e

a porcentagem de ocupação da paisagem foram avaliadas com maior detalhe em $t=5$, $t=15$ e $t=30$ gerações. A quinta geração ($t=5$) corresponde ao total de gerações da praga possível dentro do intervalo de tempo correspondente ao plantio até a primeira colheita da cana ($\cong 1$ ano). A décima quinta geração ($t=15$) corresponde ao total de gerações da praga possível dentro do intervalo de tempo correspondente ao plantio até a terceira colheita da cana ($\cong 3$ anos). A trigésima geração ($t=30$) corresponde ao total de gerações da praga possível dentro do intervalo de tempo correspondente a extensão do plantio da cana por vários anos ($\cong 5$ anos). As análises para mais de um ciclo da cana na paisagem simula uma prática comum no cultivo da cana, no qual o produtor aproveita a rebrota da mesma planta por mais de um ciclo de colheita, antes da remoção total da plantação para o replantio de novas plantas (média de 6 anos – Santiago & Rossetto 2022).

2.3. Análise Estatística – simulações

Os efeitos dos cenários e locais de liberação sobre o tamanho da população regional (no total de 10 hectares) de *D. saccharalis* foram analisados através da ANOVA Two-Way. Quando significativas, as médias populacionais foram comparadas através do Teste de Tukey. Na análise da ocupação da paisagem pelas espécies, os efeitos do cenário e locais de liberação foram avaliados através de ajuste de modelo linearmente generalizado (GLM) assumindo distribuição Binomial. Nos casos que houve superdispersão o modelo foi corrigido pela distribuição Quasi-Binomial. A escolha do melhor modelo estatístico aplicado na análise foi feita através de comparações entre os ajustes dos modelos completos e modelos com redução de variáveis usando teste de máxima verossimilhança para comparar as mudanças nas “deviances” antes e depois da remoção das variáveis. As interações entre variáveis foram consideradas somente quando significativas. A qualidade de ajuste das análises foi feita através do uso de gráficos “half-normal-plot” com envelopes simulados ao nível de 95% de significância (Moral et al. 2017). Para as análises foi utilizado o software estatístico R (R Core Team, 2020), com o auxílio do pacote HNP (Moral et al. 2017), EMMEANS (Lenth 2020), MULTCOMPVIEW (Graves et al. 2019), MULTCOMP (Hothorn et al. 2008).

3. Resultados

3.1. Resposta Funcional de *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi*

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

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

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

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

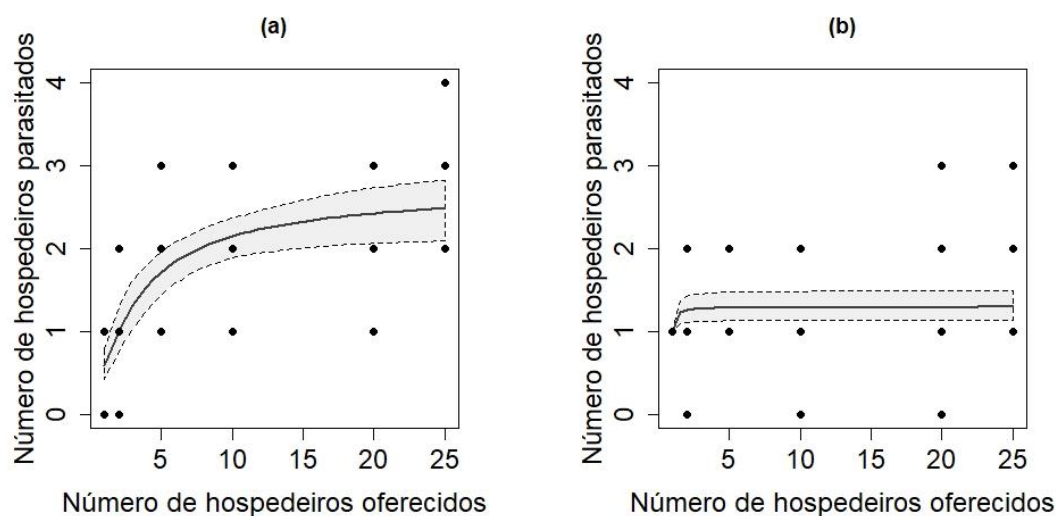


Fig.2. Curvas obtidas no ajuste de Resposta Funcional tipo II para (a) *Cotesia flavipes* e (b) *Tetrastichus howardi* sobre diferentes densidades de larvas e pupas de *Diatraea saccharalis*, respectivamente.

3.2. Persistência dos parasitoides após a liberação inundativa

Para cada cenário estudado, foi avaliada a taxa de persistência das espécies parasitoides ao longo de 30 gerações (correspondente a 6 ciclos de colheita da cana) no total de 50 simulações (Fig.3), ou seja, o número de simulações em que cada espécie estava presente na plantação por geração. Em todos os cenários e estratégias avaliados, após a liberação inundativa, os parasitoides persistiram na paisagem até o final do primeiro ciclo da cana ($t=5$ gerações) em 100% das simulações. No entanto, a persistência dos parasitoides nos próximos ciclos da cana decaiu, diferindo entre os cenários e estratégias simulados (Fig.3).

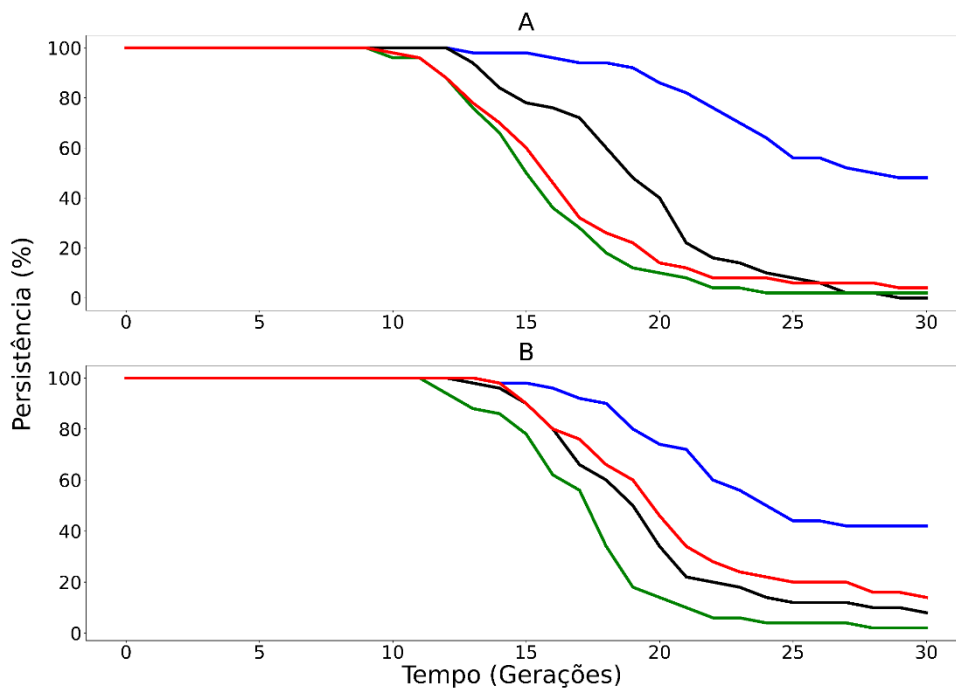


Fig. 3. Persistência (%) dos parasitoides *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* ao longo de 30 gerações em diferentes cenários simulados para avaliar o potencial destes agentes biológicos no controle de *Diatraea saccharalis* (total de 50 simulações). No painel, as letras representam o local de liberação dos parasitoides: (A) liberação no interior do hectare e (B) liberação exclusivamente na borda dos hectares da paisagem agrícola (composta por 10 hectares). Nos gráficos, as taxas de persistência das espécies parasitoides são representadas por: azul, liberação isolada de *C. flavipes* (C₁); preto, liberação associada de *C. flavipes* e *T. howardi* (C₂); verde, liberação dupla de *C. flavipes* (grupo controle 1 – C₃) e vermelho, liberação dupla de *T. howardi* (grupo controle 2- C₄). No cenário C₂, as espécies parasitoides foram liberadas em *patches* diferentes e nos cenários controle C₃ e C₄, os parasitoides seguiram a quantidade de indivíduos/ponto de liberação usada em C₂.

No cenário C₁, onde houve a liberação isolada de *C. flavipes*/ha, foram observadas as maiores taxas de persistência dos parasitoides na paisagem tanto quando as liberações foram realizadas na área total (A) quanto nas bordas (B) dos hectares da paisagem. Em ambas as estratégias, *C. flavipes* persistiu até o final das 30 gerações em média em 48% e 42% das simulações, respectivamente.

Nos demais cenários (C₂, C₃ e C₄), onde a quantidade de parasitoides liberados foi maior, as taxas de persistência foram menores comparadas as taxas de persistência obtidas no cenário C₁ e os parasitoides não persistiram, ou apresentaram baixas taxas de persistência ao final das 30 gerações, em ambas as estratégias (Fig.3. A e B). Dentre estes cenários, a liberação de *T. howardi* em associação com *C. flavipes* (C₂) promoveu maior tempo de permanência dos inimigos naturais ao longo do tempo de avaliação quando a

liberação inicial dos parasitoides foi feita na área total dos hectares (A). Os cenários com liberação de *T. howardi*, C₄ e C₂, resultaram em maior tempo de persistência quando a liberação inicial de parasitoides se deu nas bordas (B).

No cenário com liberação conjunta das duas espécies parasitoides (C₂), os inimigos naturais apresentaram diferentes tempos de persistências (Fig. 4), com a persistência das duas espécies sendo semelhantes até aproximadamente a 10ª geração, momento em que a persistência das espécies começa a divergir. *Tetrastichus howardi* apresentou maior tempo de persistência nas simulações (30 gerações), quando comparado com *C. flavipes* no cenário C₂A e C₂B (Fig.4).

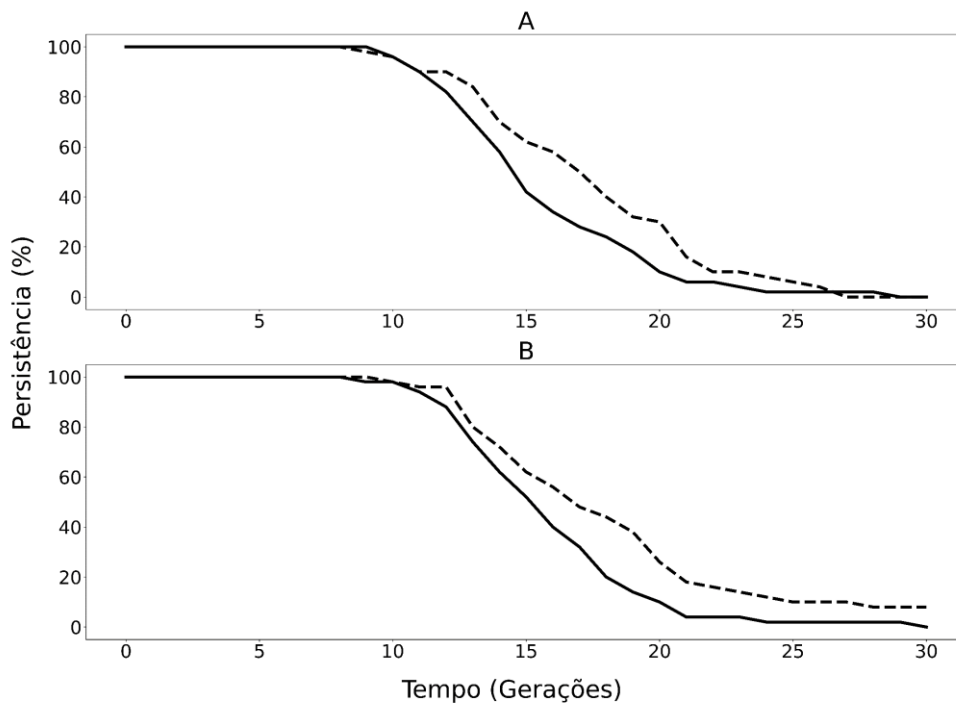


Fig. 4. Persistência (%) dos parasitoides *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* ao longo de 30 gerações nos cenários C₂A e C₂B simulados para avaliar o potencial destes agentes biológicos no controle de *Diatraea saccharalis* (total de 50 simulações). No painel, as letras representam o local de liberação dos parasitoides: liberação no interior da área dos hectares (A) e liberação exclusivamente na borda dos hectares (B) da paisagem agrícola (composta por 10 hectares). Nos gráficos, as taxas de persistência das espécies parasitoides em cada cenário simulado são representadas por: linha preta sólida para *C. flavipes* e linha preta tracejada para *T. howardi* no cenário de liberação de associação das duas espécies de parasitoides (C₂). No cenário C₂, as espécies parasitoides foram liberadas em *patches* diferentes e nos cenários controle C₃ e C₄, os parasitoides seguiram a quantidade de indivíduos/ponto de liberação usada em C₂.

3.3. Ocupação da paisagem pela praga e seus agentes de controle

Considerando a área total da paisagem de estudo (10 hectares), é possível observar que a liberação dos parasitoides, em todos os cenários e estratégias usadas, não foi capaz de conter a expansão da ocupação da praga na paisagem até o final das simulações (Fig. 5), ou seja, o número de *patches* da plantação em que a espécie estava presente.

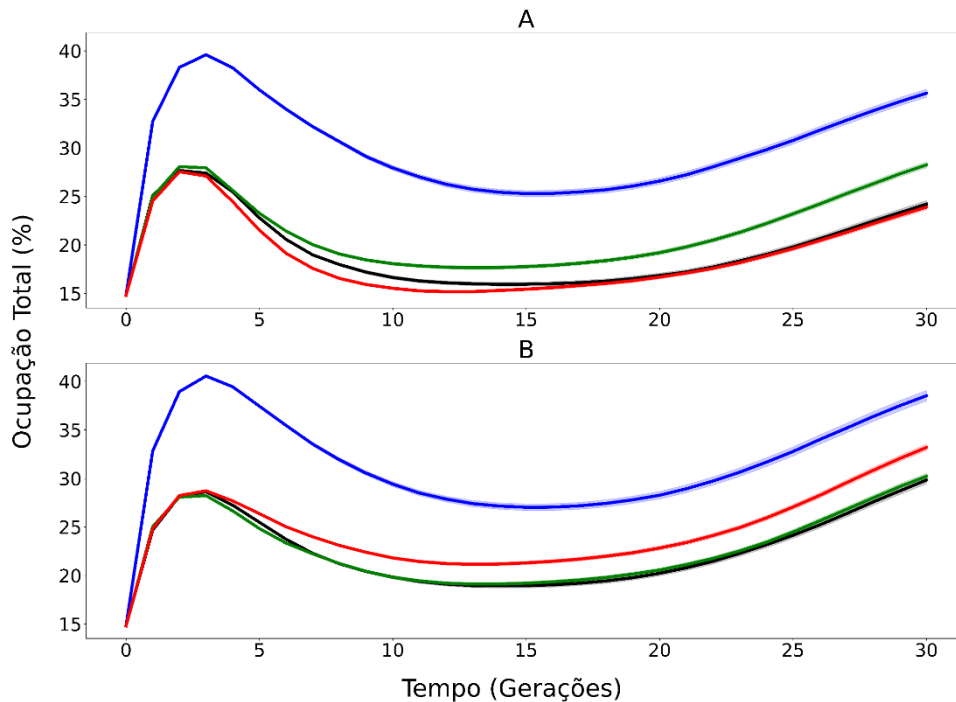


Fig. 5. Ocupação média da paisagem por *Diatraea saccharalis* em diferentes cenários simulados (total de 50 simulações): (C₁) liberação isolada de *Cotesia flavipes* (linha azul); (C₂) liberação de *C. flavipes* + *Tetrastichus howardi* (linha preta); (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (linha verde) e (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (linha vermelha). Em (A) liberação realizada no interior da área dos hectares e (B) liberação realizada exclusivamente nas bordas de cada hectare da paisagem.

A expansão populacional da praga na paisagem foi caracterizada por um rápido crescimento, atingindo um pico por volta da 3^a geração da praga. Após este pico, ainda dentro do primeiro ciclo da cana ($t < 5$ gerações), a distribuição da praga começou a decair, período correspondente a maior distribuição das populações de parasitoides na paisagem (Fig. 6). As maiores taxas de ocupação da paisagem pelos parasitoides se deu dentro do primeiro ciclo da cana ($t < 5$), após este período foi observado o gradual decréscimo da distribuição dos parasitoides na área (Fig.6), permitindo que a ocupação da área pela praga voltasse a crescer ao final do 3^o ciclo da cana ($t > 15$) (Fig.5).

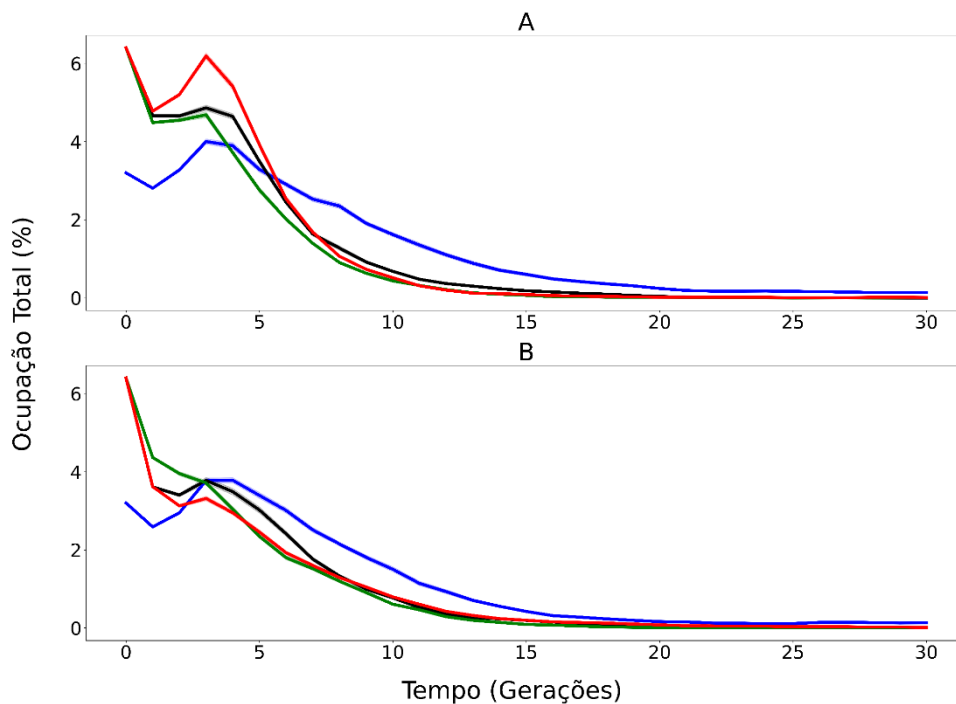


Fig. 6. Média ocupacional dos parasitoides para liberação isolada de *Cotesia flavipes* (C₁, linha azul), liberação de *C. flavipes* + *Tetrastichus howardi* (C₂, linha preta), liberação de 13.000 *C. flavipes* por hectare (C₃, linha verde) e liberação de 13.000 *T. howardi* por hectare (C₄, linha vermelha). No painel as letras representam o local de liberação dos parasitoides: liberação por toda área da plantação (A) e liberação exclusivamente na borda (B).

Embora tenha sido observado o mesmo padrão de dinâmica de ocupação da paisagem pelas espécies, a porcentagem de ocupação da praga e dos parasitoides diferiu nos diferentes cenários e estratégias simulados (Fig. 5, 6; Tabelas S1, S2- Anexo). No final do primeiro ciclo da cana ($t=5$), a população de *D. saccharalis* apresentou as maiores taxas de ocupação da paisagem agrícola quando *C. flavipes* foi liberada isoladamente em ambas as estratégias de liberação (C₁A=36% e C₁B=37,4%). Para a liberação de *C. flavipes* e *T. howardi* associados, a liberação realizada no interior da área dos hectares (C₂B=22,8%) resultou em menor taxa de ocupação da paisagem pela praga, comparada as simulações nas quais a liberação conjunta de parasitoides se deu na borda dos hectares (C₂A=25,5%) (Fig.5; Tabela S1- Anexo).

A comparação do cenário C₂ com os grupos controle C₃ e C₄ mostrou que, as liberações duplas de *C. flavipes* e *T. howardi* apresentaram melhores resultados na redução da ocupação da população de praga ao final do primeiro ciclo da cana ($t=5$),

quando as liberações foram realizadas na área total (A) dos hectares que compõe a paisagem. Quando a liberação foi feita nas bordas, somente no cenário C₃B a redução da ocupação foi menor quando comparado ao cenário C₂B (Tabela S1- Anexo). Entretanto, o efeito das liberações conjuntas das espécies parasitoides (C₂) sobre a redução da população da praga a longo prazo (ciclos subsequentes da cana) se igualou aos cenários controle C₄ e C₃ para as liberações na área total e nas bordas, respectivamente (Fig.5; Tab. S1- Anexo).

Ao contrário da praga, as taxas de ocupação da paisagem pelos parasitoides foi baixa, não ultrapassando 4%. (Tab. S2 – Anexo). Ao final do primeiro ciclo da cana (t=5), a estratégia de liberação (A ou B) de *C. flavipes* (C₁) não afetou de maneira significativa a sua distribuição na paisagem, entretanto, o efeito da estratégia adotada se deu nos ciclos subsequentes (t>5). A longo prazo, a liberação realizada no interior da área dos hectares retardou a perda de parasitoides na paisagem (Tab. S2 –Anexo). Ao final do primeiro ciclo da cana (t=5), não foi observada diferença significativa nas taxas de ocupação dos cenários C₁ e C₂, entretanto, a partir do segundo ciclo da cana, a ocupação de parasitoides na paisagem foi maior no cenário de liberação isolada de *C. flavipes* (C₁), comparada aos demais cenários.

De maneira geral, nos cenários com liberação de maior número de parasitoides (C₂ e controles C₃ e C₄), as maiores taxas de ocupação da paisagem pelos parasitoides ao longo do tempo se deu no cenário C₂, em ambas as estratégias de liberação (A e B). Quando liberados em associação (C₂), a ocupação da paisagem por *T. howardi* decresceu mais lentamente comparado a *C. flavipes* até o final das simulações (Fig.7).

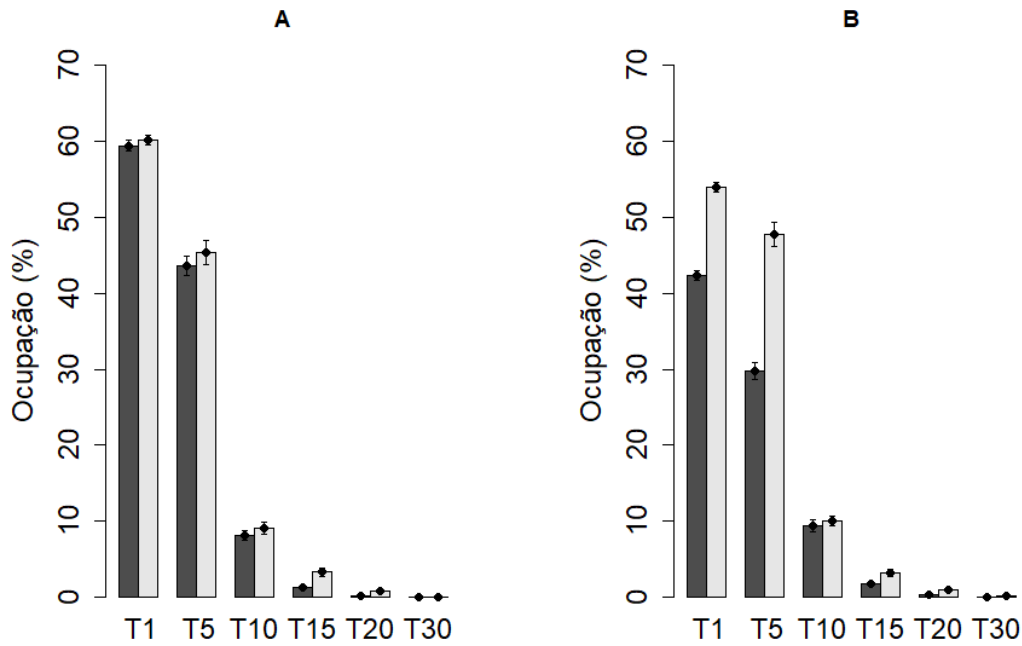


Fig.7. Taxa média de ocupação (\pm erro padrão) da paisagem por *Cotesia flavipes* (cinza escuro) e *Tetrastichus howardi* (cinza claro) nas simulações para liberação aleatórias das espécies parasitoides associadas realizadas no interior da área (A) e nas bordas (B) de cada hectare que compõe a paisagem agrícola ao longo de 30 gerações da praga (correspondente a 6 ciclos da cana). As médias correspondem ao total de 50 simulações. Nos gráficos os eixos das ordenadas representam a ocupação de cada espécie parasitoide em porcentagem e os eixos das abscissas representam o tempo geracional.

3.4. Variação na densidade populacional das espécies após a liberação inundativa dos parasitoides

Embora tenha sido observado o aumento da ocupação da praga na paisagem, a população de *D. saccharalis* se manteve abaixo do nível de controle após a liberação dos parasitoides em todos cenários e estratégias de liberações simulados. Somente no cenário C₁B o tamanho populacional total da praga voltou a atingir o limiar do nível de controle na 30^a geração, correspondente ao tempo final das simulações (Fig.8).

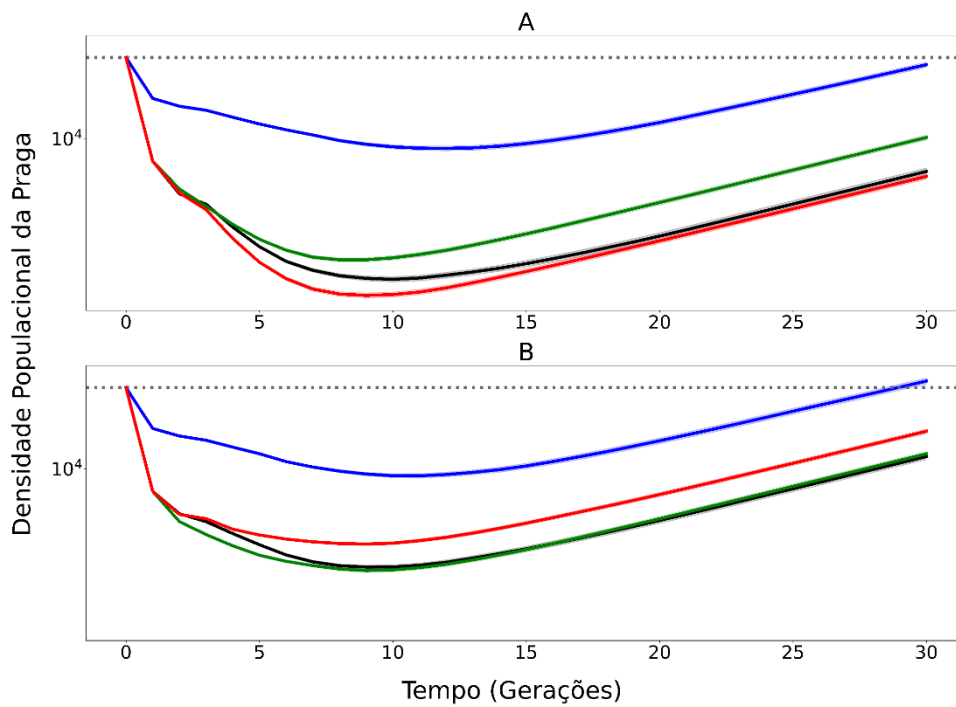


Fig. 8. Densidade populacional média de *Diatraea saccharalis* em diferentes cenários simulados (total de 50 simulações): (C₁) liberação isolada de *Cotesia flavipes* (linha azul); (C₂) liberação de *C. flavipes* + *Tetrastichus howardi* (linha preta); (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (linha verde) e (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (linha vermelha). O Nível de Controle, definido por 15.170 no total de 10 hectares (1.517 parasitoides/ha) é representado pela linha pontilhada cinza. Em (A) liberação realizada no interior da área dos hectares e (B) liberação realizada exclusivamente nas bordas de cada hectare da paisagem.

Após a liberação dos parasitoides, o tamanho da população da praga sofreu declínio até a oitava geração. Entretanto, ainda dentro do segundo ciclo da cana ($t > 8$), a população da praga passa a crescer até o fim do período estudado. Isto se deve ao decréscimo da ocupação (Fig. 6) e densidade de parasitoides na paisagem (Fig. 9).

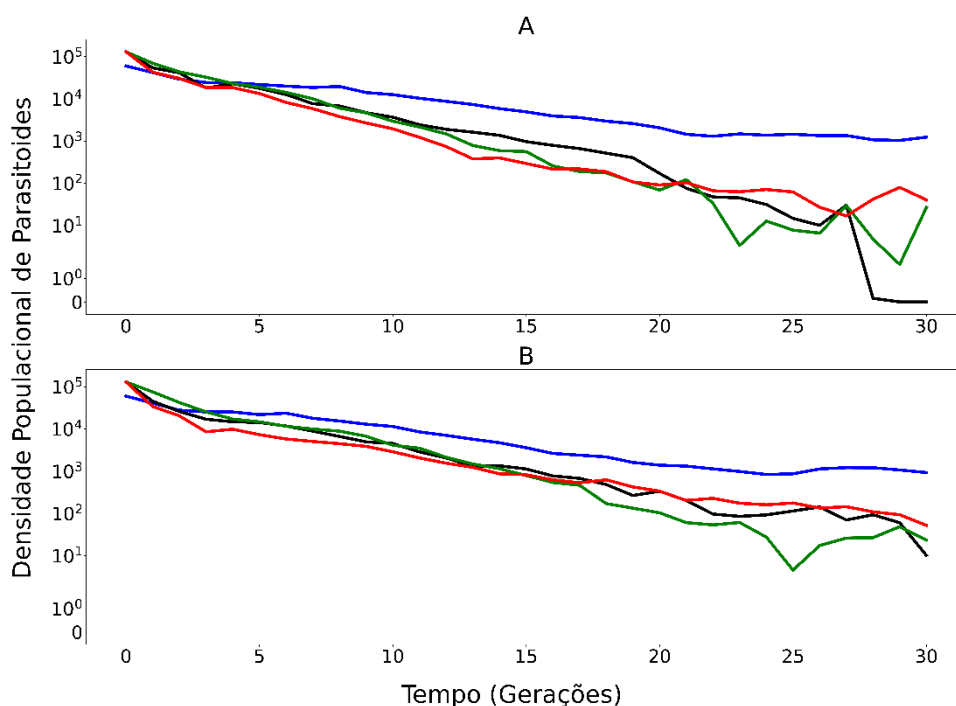


Figura 9. Média (\pm erro padrão) da densidade populacional de parasitoides para: liberação isolada de *Cotesia flavipes* (C₁, linha azul), liberação de *C. flavipes* + *Tetrastichus howardi* (C₂, linha preta), liberação dupla de *C. flavipes* por hectare (C₃, linha verde) e liberação dupla de *T. howardi* por hectare (C₄, linha vermelha). No painel, (A) representa a liberação de parasitoides por toda área da plantação e (B) liberação de parasitoides exclusivamente na borda.

As estratégias e cenários estudados tiveram diferentes impactos sobre a redução populacional da praga na paisagem (Tab. S3 – Anexo). Considerando o efeito do controle inundativo, ao final do primeiro ciclo de cana-de-açúcar ($t=5$) as liberações isoladas de *C. flavipes* por toda área dos hectares (C₁A) ou nas bordas dos hectares (C₁B) apresentaram menor efeito sobre a redução populacional da praga (Tab.S3 – Anexo).

A liberação associada de *C. flavipes* e *T. howardi* resultou em maior redução da população de *D. saccharalis* quando os parasitoides foram liberados no interior da área do hectare (C₂A) do que quando liberados e nas bordas do hectare (C₂B) (Fig.8; Tabela S3- Anexo). Quando comparado a liberação inundativa das duas espécies de parasitoides (C₂) associadas com os cenários controle (C₃ e C₄), a liberação dupla de *T. howardi* (C₄A) e de *C. flavipes* (C₃B) resultaram em maior impacto sobre população da praga ao final do primeiro ciclo de cana ($t =5$) (Fig.8; Tabela S3- Anexo).

Para os subsequentes ciclos de cana ($t > 5$) a maior redução populacional de *D. saccharalis* foi observada quando *T. howardi* foi liberado em associação com *C. flavipes* (C_2) ou em liberação dupla de *T. howardi* (C_4) por toda área do hectare. Embora os cenários nos quais houve liberação de *T. howardi* (C_2 e C_4) tenham apresentado maior impacto sobre a redução da população de *D. saccharalis*, as densidades populacionais dos parasitoides nestes cenários foram menores (Tabela S4- Anexo). No cenário C_2 , com liberação conjunta de *C. flavipes* e *T. howardi*, foi observado que as populações de *T. howardi* apresentaram menores tamanhos comparados aos tamanhos populacionais de *C. flavipes* (Fig.10).

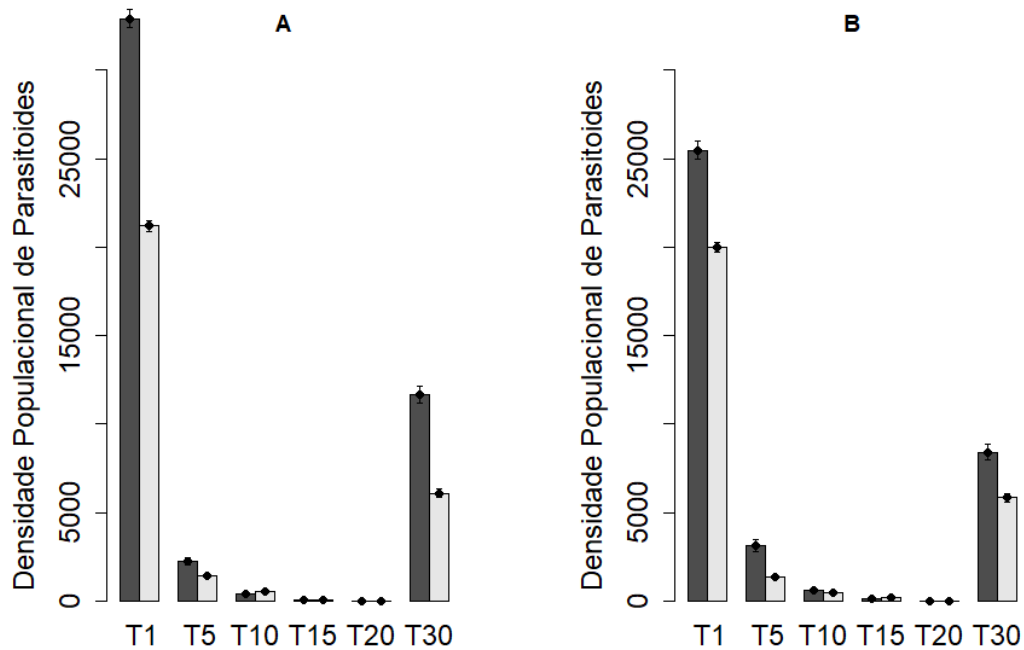


Fig.10 Densidade populacional média (\pm erro padrão) de *Cotesia flavipes* (cinza escuro) e *Tetrastichus howardi* (cinza claro) após a liberação das espécies parasitoides em associação (cenário C_2) no interior da área (A) e nas bordas (B) dos hectares que compõe a paisagem agrícola, ao longo de 30 gerações da praga (correspondente a 6 ciclos da cana). As médias correspondem ao total de 50 simulações. Nos gráficos os eixos das ordenadas representam a ocupação de cada espécie parasitoide em porcentagem e os eixos das abscissas representam o tempo geracional.

4. Discussão

Neste estudo, o cenário C_1 caracterizou o protocolo amplamente utilizado em programas de controle biológico da broca-da-cana, que utiliza liberações de 6.000 *C. flavipes* em 8 pontos em cada hectare do canavial. A proposta de complementar o controle atualmente aplicado com a liberação adicional de 7.000 *T. howardi* simultaneamente nos mesmos pontos levou, nas simulações realizadas, à exclusão de *T. howardi* no momento da liberação, devido as altas taxas de parasitismo (dados pelas altas taxa de ataque e tempo de manuseio) de *C. flavipes* sobre a praga, prejudicando o parasitismo tardio por *T. howardi*. Estes resultados, entretanto, devem ser vistos com cautela, uma vez que, se a praga estiver presente em diferentes estágios de vida (lagarta e pupa) no local onde as espécies parasitoides são liberadas, a presença de pupas da praga pode permitir o estabelecimento da população de *T. howardi* por mais de uma geração no local.

O modelo matemático desenvolvido neste estudo não considerou, de maneira explícita, a estrutura etária das populações, ou seja, nas simulações foi considerado somente as densidades finais das populações da praga que “escaparam” do ataque das espécies parasitoides, sem considerar as densidades relativas de cada estágio de vida da população da praga. Assim, foi considerado que a infestação inicial da praga na área se deu por um evento sincrônico e a ocorrência de reinfestação da área por indivíduos externos a paisagem não foi considerada. A ocorrência de maior número de infestação e frequentes entradas de adultos de *D. saccharalis* externos na área pode fazer com que as populações da praga se tornem assincrônicas, caracterizadas por uma população geral composta por subpopulações em diferentes estágios de vida. A variação das densidades relativas de lagartas e pupas podem assim influenciar as taxas de encontro entre as espécies parasitoides e, conseqüentemente, alterar seus tempos de permanência na paisagem.

As simulações matemáticas também não consideraram os efeitos da possível ocorrência de superparasitismo e multiparasitismo, que ocorre quando devido ao baixo número de hospedeiros no *patch*, mais de uma fêmea parasitoide (da mesma espécie ou de diferentes espécies, respectivamente) ovipositam em um mesmo hospedeiro, por falta de hospedeiros não-parasitados (Agboka et al., 2001). Assim, não foi considerada a redução do *fitness* e/ou da prole das espécies parasitoides devido à alta competição por

recurso das larvas de parasitoides no interior do hospedeiro (Potting et al., 1997, Dorn & Beckage, 2007, Bon et al. 2022), o que pode reduzir a permanência dos parasitoides na área de cultivo e a efetividade do controle biológico nas gerações seguintes a liberação inicial.

Este estudo, no entanto, teve como objetivo avaliar se a complementação das liberações de *C. flavipes* com *T. howardi* pode tornar o controle biológico realizado com *C. flavipes* mais efetivo, avaliando o possível impacto da competição interespecífica sobre as taxas de parasitismo sobre a praga. O problema da variação das densidades dos estágios de vida susceptíveis a cada espécie parasitoide teve pouca influência nos resultados, uma vez que, foi adotado como protocolo nas simulações, a liberação das espécies parasitoides em pontos diferentes da paisagem. Isto permitiu que, inicialmente, cada espécie parasitoide explorasse ao máximo as populações de praga (por estarem em *patches* separados), permitindo que no momento nos quais elas se encontravam em um mesmo *patch* de hospedeiro, o efeito da competição fosse mais evidente. Este fato, entretanto, resultou na necessidade da utilização de um maior número de pontos de liberação de parasitoides em relação ao cenário C₁ (liberação de *C. flavipes* padrão), ou seja, os parasitoides foram liberados em 16 pontos/ha da paisagem.

A liberação inundativa tem como característica a liberação de uma grande quantidade de parasitoide e o consequente controle da praga no momento da liberação (Parra et al. 2002). Um maior número de pontos de liberação resulta em maior distribuição espacial do parasitoide, o que pode aumentar a taxa de parasitismo (Dinardo-Miranda et al. 2014, Machtinger et al. 2015), resultando em maior eficiência do controle biológico da praga (Barbosa et al. 2019). A maior quantidade de pontos e de parasitoides liberados explicam, desta forma, as maiores taxas de ocupação dos parasitoides na paisagem e consequente maiores taxas de parasitismo observadas nas simulações para o cenário de liberação das duas espécies parasitoides em conjunto (C₂) em comparação ao cenário de liberação padrão (C₁) de *C. flavipes* para o controle da broca-da-cana.

Além da distribuição espacial do parasitoide, a proporção de parasitoides é outro fator importante para o controle biológico das pragas. O aumento da proporção parasitoide/praga pode resultar em superparasitismo, com os parasitoides sobrepujando o sistema imune do hospedeiro, matando-o antes da emergência dos parasitoides adulto de sua prole (Andrade et al. 2010, Harvey et al. 2013), como reportado por Dinardo e colaboradores (2014) na liberação de *C. flavipes* em área de plantio de cana-de-açúcar. O

aumento da proporção parasitoides/hospedeiro pode resultar em aumento da competição intraespecífica por hospedeiro, diminuindo as taxas de parasitismo (Neil & Specht 1990, Knipling 1997, Broglio-Micheletti et al. 2007, Pereira et al. 2010, Favero et al. 2013). Os resultados das simulações mostraram que a menor quantidade de pontos de liberação de parasitoides/ha levou a maiores taxas de persistência dos parasitoides nos cenários C₁, uma vez que o menor número de pontos de liberação reduziu as taxas de encontro entre os parasitoides no início das simulações, amenizando os efeitos negativos da competição intraespecífica na paisagem.

Para que fosse possível avaliar o efeito da competição interespecífica na liberação de *C. flavipes* com complementação de *T. howardi* foram estabelecidos os cenários controle C₃ e C₄, nos quais foram liberadas as mesmas quantidades de parasitoides em 16 pontos/ha da paisagem, entretanto, realizando liberações das espécies parasitoides estudadas de maneira isolada. Assim foi possível quantificar os efeitos da competição intra e interespecífica sobre a dinâmica e dispersão dos parasitoides e praga nas simulações. Os resultados mostraram que, de maneira geral, a complementação das liberações de *C. flavipes* com *T. howardi* apresentaram melhores resultados para a redução da ocupação e da densidade populacional das pragas, comparados aos resultados de liberações “duplas” de uma espécie parasitoide isolada. Dessa forma, os resultados indicaram que a competição interespecífica teve menos impacto sobre as populações das espécies parasitoides quando comparado aos impactos da competição intraespecífica, principalmente para os cenários com liberações duplas de *C. flavipes*. Isto se deve a diferentes características do parasitismo (i.e., resposta funcional) exibido por cada espécie. As altas taxas de parasitismo de *C. flavipes* sobre *D. saccharalis* resultam em maior competição entre a prole dos parasitoide e conseqüentemente maior redução populacional a longo prazo.

A baixa dispersão de parasitoides na área cultivada após a liberação é outra característica marcante destes organismos diminutos, os quais tem a dispersão ativa bastante influenciada pelas condições ambientais, tais como ocorrência de vento, temperatura e umidade. Dessa forma, mesmo a espécie parasitoide demonstrando bom potencial de parasitismo sobre os hospedeiros, como foi constatado na experimentação da resposta funcional realizada neste estudo, as taxas de parasitismo e a regulação populacional da praga é também dependente das taxas de dispersão e encontro do hospedeiro no campo. A distância percorrida pelo parasitoide para achar seu hospedeiro

também influencia a taxa de parasitismo, que diminui pela distância percorrida pelo parasitoide, como visto por McDougall & Mills (1997) e Torres (2005) com outras espécies parasitoides.

Os resultados das simulações mostraram que, após a liberação inundativa, os parasitoides conseguiram se manter na paisagem ao longo do primeiro e do segundo ciclo de colheita da cana-de-açúcar (aproximadamente 10 gerações). A permanência da prole dos parasitoides por várias gerações permitiu o aumento da ocupação das populações dos parasitoides em maior porcentagem da área de plantio. Assim, após a liberação inicial de parasitoide, foi estabelecida uma dinâmica metapopulacional, que pode contribuir para a maximização da produção da cana ao longo prazo e reduzindo os gastos com o manejo e controle da praga.

Em plantações de cana-de-açúcar é comum realizar a liberação dos agentes biológicos do controle de pragas por no mínimo uma vez por ciclo da planta. O uso de liberações frequentes no campo reintroduz parasitoides na área de plantio e/ou aumenta a população já existente, tem sido uma alternativa para elevar os índices de parasitismo na plantação (Botelho et al. 1995; Broglio-Micheletti et al. 2007). Como a produção de cana-de-açúcar tem características semi-perene, os resultados encontrados indicaram ser possível utilizar a Liberação Inundativa como Liberação Inoculativa para o controle da praga nas gerações subsequentes até o último ciclo da cana, assim como é feito em casas-de-vegetação, onde é liberado uma grande quantidade de agente biológicos para um controle imediato da praga, visando a permanência dos agentes de controle biológico no local, aumentando suas populações para controlar as pragas nas gerações tardias (Parra et al, 2021).

Nas simulações, embora as maiores taxas de redução da população de praga não tenham ocorrido nas gerações subsequentes à liberação, os parasitoides foram capazes de retardar o crescimento da praga até o 6º. ciclo da cana (30 gerações). Neste caso, a necessidade de liberações realizadas frequentemente no início de cada ciclo da cana pode ser reduzida ou, se realizada, pode ter seus efeitos intensificados, uma vez que parasitoides anteriormente liberados já estão presentes na plantação.

Quando se trata de uso simultâneo de parasitoides, é interessante avaliar os efeitos da competição entre os agentes de controle biológico, pois resultados diferentes podem ocorrer, influenciados por diferentes características tais como qualidade do hospedeiro,

estágio do desenvolvimento, ordem na qual se dá o evento de oviposição, tempo de desenvolvimento, mobilidade dentro do hospedeiro, dentre outros (Magdaraog et al. 2013; Van Nouhuys & Punju 2010). Alguns estudos mostram a existência de casos em que o uso simultâneo de dois parasitoides não aumentou a efetividade do controle da praga, pois uma espécie de parasitoide é efetiva no controle da broca-da-cana e a outra espécie de parasitoide acaba por “escapar” dos *patches* e sobreviver apenas com uma parcela pequena da praga, não tendo efeito sobre a dinâmica de população da praga (Van Nouhuys & Punju 2010). Este efeito, entretanto, não foi observado nas simulações, nas quais ambas as espécies se distribuíram ao longo da paisagem.

Apesar de *C. flavipes* ter maior potencial competidor na interação com *T. howardi* pelas características de parasitismo precoce e maiores taxas de ataque, a dinâmica metapopulacional estabelecida pelo balanço extinção populacional/ colonização de novas áreas favoreceu a maior persistência da população de *T. howardi* a longo prazo, uma vez que menores taxas de parasitismo retardaram o esgotamento do seu recurso, permitindo que sua prole se reproduzisse com maior frequência e assim, maior quantidade de indivíduos de sua espécie se dispersassem pela área. O potencial competidor diferenciado das espécies parasitoides explica a maior efetividade do controle da população de pragas quando ambas as espécies são liberadas em conjunto (cenário C₂), comparadas a liberações isoladas de *C. flavipes* (cenário C₃).

A estratégia de liberação no interior da área do hectare (A) simulou as estratégias de liberação feitas por Veículos Aéreos Não-Tripulados (VANT), os *drones*, enquanto a liberação exclusiva nas bordas dos hectares (B) simulou a liberação de parasitoide realizada por ação humana, normalmente com uso de veículos motorizados. Na simulação os agentes do controle biológico foram liberados apenas em *patches* onde o hospedeiro estava presente, diferentemente da prática onde os parasitoides são liberados aleatoriamente e é possível que estes sejam liberados em locais com pouco ou nenhum hospedeiro. Os resultados obtidos mostraram que as espécies foram capazes de dispersar pela paisagem, mas a expansão das suas populações foi lenta e, devido as altas taxas de parasitismo e ao baixo raio de dispersão exibidos por ambas as espécies parasitoides, muitos indivíduos foram perdidos por não encontrarem populações de hospedeiros próximas ao local onde emergiram. Estes fatores foram as causas da redução da permanência das espécies na paisagem ao longo do tempo. Atualmente, a estratégia de liberação com *drones* torna possível a utilização da Estratégia de Manejo de Praga de

Precisão, em que torna possível o encontro dos locais com maior concentração da praga na plantação (Nansen & Elliot 2016; Filho et al. 2020), auxiliando a liberação dos agentes biológicos próximos ao local da praga, como feito por Kim et al. (2021), impedindo que agentes biológicos sejam liberados em locais com ausência de praga dentro da sua área de dispersão e, conseqüentemente, morram sem auxiliar o controle biológico.

O uso de *C. flavipes* tem sido amplamente usado nos canaviais, entretanto, estudos mostram que *D. saccharalis* tem mantido altos índices de infestação nas áreas de plantio, mesmo quando a liberação dos parasitoides é constante (Silva et al. 2012). Dentre os fatores citados como influentes na efetividade de *C. flavipes* em controlar a população da praga estão as condições climáticas, as altas taxas de “*inbreeding*” devido ao isolamento reprodutivo gerado na produção massal e, principalmente sua baixa capacidade de dispersão (Zhou & Overholt 2001, Dinardo & Miranda et al. 2014). As simulações dos cenários e estratégias estudados mostraram uma melhora significativa no controle biológico de *D. saccharalis* quando utilizado *T. howardi* em conjunto com *C. flavipes*, principalmente quando as espécies são liberadas no interior da área do hectare (C_2). Embora a simplificação do sistema de estudo, o modelo matemático desenvolvido pôde auxiliar no entendimento da importância da dispersão e da interação entre possíveis agentes de controle biológico que atuam sobre diferentes estágios de vida de um mesmo hospedeiro. Dessa forma, as simulações realizadas permitiram a análise qualitativa e quantitativa do impacto de inimigos naturais sobre a população de pragas.

5. Conclusões

- A produção da cana-de-açúcar tem características de cultivo semi-perene. Assim, após liberação inundativa de agentes biológicos, os parasitoides podem permanecer na plantação e beneficiar o controle da praga para mais ciclos de produção subseqüentes a liberação inicial.
- Quando os parasitoides são liberados por toda área do hectare, as taxas de persistência são maiores comparadas quando as liberações são realizadas apenas nas bordas dos hectares. Isto se deve as menores taxas de encontro entre os parasitoides e, conseqüentemente, a menor frequência de ocorrência de competição entre parasitoides.

- O uso de liberações de 6.000 *C. flavipes*/ha promove maiores taxas de persistência dos parasitoides na área, entretanto, a complementação das liberações de *C. flavipes* com *T. howardi* foi mais eficiente na redução dos tamanhos populacionais e ocupação de *D. saccharalis*.
- O uso de liberações com maior número de parasitoides usando somente *C. flavipes* (C₃) foi menos efetivo no controle da praga comparado às liberações de mesmo número de indivíduos usando *C. flavipes* e *T. howardi* (C₂). Isto se deve aos efeitos da competição intraespecífica entre os indivíduos de *C. flavipes*, parasitoide que exibiu maior taxa de ataque e menor tempo de manuseio a numa maior competição intraespecífica. O diferente potencial competitivo das espécies parasitoides na interação com *D. saccharalis* (competição interespecífica) beneficiou a redução populacional e a ocupação da praga no canavial.

6. Referências Bibliográficas

Agboka, K., Schulthess, F., Chabi-Olaye, A., Labo, I., Gounou, S., & Smith, H. (2002). Self-, intra-, and interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the African cereal stem borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behavior*, v. 15, n. 1, 1-12.

Amarasekare, P. (2000). Coexistence of competing parasitoids on a patchily distributed host: local vs. Spatial mechanisms. *Ecology*, v. 81, n. 5, p. 1286-1296.

Andrade, G. S. et al. (2010). Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. *Plos One*, vol. 5, n. 10, e13231.

Barbosa, R. H. (2014). Capacidade de dispersão e parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) em pupas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae) na cultura da cana-de-açúcar. 54 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Faculdades de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

Barbosa, R. H. et al. (2019). *Tetrastichus howardi* density, and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. *Neotropical Entomology*, v. 48, n. 2, p. 323-331.

Bon, V. J., de Andrade Moral, R., & Reigada, C. (2022). Influence of intra-and inter-specific competition between egg parasitoids on the effectiveness of biological control of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). *Biological Control*, v. 170, 104903.

Botelho, P. S. M. et al (1995) Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Scientia Agricola*, v. 52, p. 65-69.

Botelho, P.S.M. (1985). Tabela de vida ecológica e simulação de fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1974) (Lep.: Pyralidae). 110p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Broglio-Micheletti, S. M. F. et al (2007). Efeito do número de adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberados em semanas sucessivas, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 31, p. 53-58.

Bueno, V. H. P. (2010). Controle biológico na região Sudeste. *G.BIO: revista de controle biológico*, Piracicaba, p. 4-6, abr. Edição especial.

Caixeta, D. F. (2010). Dispersão de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. 2010. iv, 48 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/91389>>.

Cancino, J. et al (2012) Discrimination by *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) of hosts previously attacked by conspecifics or by the larval parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol Science and Technology*, v. 22, n. 8, p. 899-914.

Carvalho, J. S. (2011) Distribuição espacial e amostragem sequencial de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), na cultura de cana-de-açúcar. 2011. xv, 61 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/102275>>.

Costa, D. P. (2013). Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: braconidae) no parasitismo

de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

Denoth, M.; Frid, L.; Myers, J. H. (2002). Multiple agents in biological control: Improving the odds? *Biological Control*, v. 24, n. 1, p. 20–30.

Dinardo-Miranda, L. L. et al (2014). Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. *Bragantia*, v. 73, n. 2, p. 163-170.

Dinardo-Miranda, L. L.; Fracasso, J. V.; Perecin, D. (2011). Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. *Bragantia*, v. 70, n. 3, p. 577-585.

Dorn, S., & Beckage, N. E. (2007). Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. *Physiological Entomology*, vol. 32, n. 3, 199-211.

Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, vol. 46, n. 4, 387-400. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1014193329979>

Favero, K., Pereira, F. F., Kassab, S. O., Oliveira, H. N., Costa, D. P., Zanuncio, J.C. (2013) Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) progeny are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Florida Entomologist* vol. 96:583–589

Filho, F. H., Heldens, W. B., Kong, Z., Lange, E. S. (2020). Drones: innovative technology for use in precision pest management. *Journal of economic entomology*, 113(1), 1-25. doi: <https://doi.org/10.1093/jee/toz268>

González, J. F. Á. et al (2007). Interacción entre *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) y *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoides de *Diatraea saccharalis* (Fab.) En Cuba. Parte I. *Centro Agrícola*, v. 34, n. 3, p. 69-73.

González, J. F. A., Oca, F. N. M., Ravelo, H. G. (2003). Estudios bioecológicos de *Tetrastichus howardi* Olliff. (Hymenoptera: Eulophidae), parásito pupal de *Diatraea*

saccharalis (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. (Primera parte). Centro Agrícola vol. 30, n. 2, 37-41.

Graves et al. (2019). Multcompview: Visualizations of Paired Comparisons. R package version 0.1-8. <https://CRAN.R-project.org/package=multcompview>

Hanski, I. (1999). Habitat Connectivity, Habitat Continuity, and Metapopulations in Dynamic Landscapes. *Oikos*, v. 87, n. 2, 209–219. <https://doi.org/10.2307/3546736>

Harris, C.R., Millman, K.J., Van der Walt, S.J. et al (2020). Array programming with numpy. *Nature* v. 585, 357–362.

Harvey JA, Poelman EH, Tanaka T (2013) Intrinsic inter and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annu Rev Entomol* 58:333–351

Hassell, M. P., & Comins, H. N. (1978). Sigmoid functional responses and population stability. *Theoretical Population Biology*, 14(1), 62-67.

Holling, C. S. (1959). Some characteristics of simple types of predation and parasitism I. *The Canadian Entomologist*, 91(7), 385-398.

Hothorn, t.; Bretz, F.; Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*, v. 50, n. 3, p. 346-363.

Hunter, J. D. (2007). Matplotlib: A 2D Graphics Environment, *Computing in Science & Engineering*, vol. 9, no. 3, pp. 90-95.

IBGE (2022) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 25: 127. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 29 de Março de 2022.

Iost F. et al. (2020). Drones: innovative technology for use in precision pest management. *Journal of Economic Entomology*, v. 113, n. 1, p. 1-25.

Juliano, SA (2001) Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. *Design and Analysis of Ecological Experiments* (eds S.M. Scheiner & J. Gurevitch), pp. 178–196. Oxford University Press, Oxford, New York

Kim, J. et al (2021). Spatially Targeted Biological Control of Mile-a-Minute Weed Using *Rhinocomimus latipes* (Coleoptera: Curculionidae) and an Unmanned Aircraft System. *Journal of Economic Entomology*, v. 114, n. 5, p. 1889-1895.

Knipling, E. F (1997). The theoretical basis for augmentation of natural enemies. In: *Biological control by augmentation of natural enemies*. Springer, Boston, MA, 1977. P. 79-123.

Machtinger, E. T., Geden, C. J., & Leppla, N. C. (2015). Linear dispersal of the filth fly parasitoid *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) and parasitism of hosts at increasing distances. *PLoS One*, v. 10, n. 6, e0129105.

May, R. M., & Hassell, M. P. (1981). The dynamics of multiparasitoid-host interactions. *The American Naturalist*, 117(3), 234-261.

McDougall, S. J., & Mills, N. J. (1997). Dispersal of *Trichogramma Platneri nagarkatti* (Hym., Trichogrammatidae) from point-source releases in an apple orchard in California. *Journal of Applied Entomology*, v. 121, n 1-5, 205-209.

McKinney, W., et al. (2010). Data structures for statistical computing in python. In *Proceedings of the 9th Python in Science Conference* (Vol. 445, pp. 51–56).

Montoya, P. et al (2000). Biological control of *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, v. 18, n. 3, p. 216-224.

Montoya, P.; Gálvez, C.; Díaz-Fleischer, F. (2019). Host availability affects the interaction between pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) and larval-pupal parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 109, n. 1, p. 15–23.

Moore, s. D.; Kfir, Rami (1995). Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae). *Entomophaga*, v. 40, n. 1, p. 69-76./

Moral R. A., Hinde J, Demétrio C. G. B. (2017). Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R: The hnp Package. *Journal of Statistical Software*, v. 81, n. 10, 1-23. Doi: 10.18637/jss.v081.i10

Nachiluk, k. (2021). Alta na Produção e Exportações de Açúcar Marcam a Safra 2020/21 de Cana. Análises e Indicadores do Agronegócio, São Paulo, v. 16, n. 6, jun. p. 1-5. Disponível em: <<http://www.ica.sp.gov.br/out/tertexto.php?Codtexto=15925>>. Acesso em: 29 de Março de 2022.

Nansen, C.; Elliott, N. (2016). Remote sensing and reflectance profiling in entomology. Annual Review of Entomology, v. 61, p. 139-158.

Neil, K. a.; Specht, h. B (1990). Field releases of *Trichogramma pretiosum* riley (hymenoptera: trichogrammatidae) for suppression of corn earworm, *Heliothis zea* (boddie) (lepidoptera: noctuidae), egg populations on sweet corn in nova scotia1. The Canadian Entomologist, v. 122, n. 6, p. 1259-1266.

Oliveira, F. G (2013). Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae). 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Faculdades de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

Oliveira, h. N. et al (2012). Recomendações para obter um controle biológico mais eficaz da broca-da-cana-de-açúcar. Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Oliveira, H. N.; Ávila, C. J (2010). Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. G.BIO: revista de controle biológico, Piracicaba, p. 11-13. Edição especial.

Otuka, A.K. et al. (2006). Custo de produção de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) criado com diferentes presas. O Biológico, v.68, n.1, p.224-227.

Paranhos, B. J. et al (2013). Intrinsic competition and competitor-free-space influence the coexistence of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of Neotropical Tephritidae (Diptera). Environmental Entomology, v. 42, n. 4, p. 717-723.

Parra, J. R. P. et al. (2002). Controle biológico: terminologia. IN: Parra, J. R. P. et al. (2002). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Piracicaba: FEALQ. Pp. 1-13.

Pereira F. F., Zanuncio J. C., Pastori P. L., Pedrosa A. R. P., Oliveira H. N. (2010). Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993(Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. Rev Ciênc Agron v. 41:715–720

Pereira, F. F. et al (2015). Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Florida Entomologist, v. 98, n. 1, p. 377-380.

Pinto AS (2012) O caso de *Cotesia flavipes* na cana-de-açúcar no Brasil. Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. IN: Parra, J. R. P. et al. (2012). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Piracicaba: FEALQ. Pp. 159-202.

Pinto, A. S. & Trujillo, S. E. L. (2019). Sugarcane. In: Souza, B., Vazquez, L. L. & Marucci, R. C. (Eds.). Natural enemies of insect pest in neotropical agroecosystems: biological control and functional biodiversity. Switzerland: Springer. 413-425.

Pinto, A. S. (2019). Sucesso do controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. Informe Agropecuário,305(40), pp. 57-65.

Potting, R. P. J., Snellen, H. M., & Vet, L. E. M. (1997). Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. Entomologia experimentalis et applicata, v. 82, n. 3, 341-348.

Pritchard D (2017). `_frair: Tools for Functional Response Analysis_`. R package version 0.5.100, <<https://CRAN.R-project.org/package=frair>>.

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Reigada, C., Aguiar, M. A. M. D., & Fernandes, L. D. (2014). Demographic processes in spatially structured host-parasitoid systems. In: Ferreira, C., Godoy, W. (eds) Ecological Modelling Applied to Entomology. Entomology in Focus, vol 1. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06877-0_2

Robitaille, T. (2019). `Aplpy v2. 0: The Astronomical Plotting Library in Python`. Zenodo.

Robitaille, T.; Bressert, E. (2012). *Aplpy: astronomical plotting library in Python*. Astrophysics Source Code Library, p. Ascl: 1208.017.

Rodrigues, A., Pereira, F. F., Barbosa, P. R., Silva-Torres, C. S., & Torres, J. B. (2021). Parasitism behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on larvae and pupae of sugarcane borers. *Journal of Insect Behavior*, v. 34, n. 3, 71-81. doi: <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>

Rogers D. Random search and insect population models. *Journal of Animal Ecology* 41, (1972), 369-383.

Rossato Jr, José A. et al (2013). Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. *Agronomy Journal*, v. 105, n. 3, p. 643-648.

Russell lenth (2020). Emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.5.0. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

Santiago, A. D. & Rossetto, R. (2022). Produção - Manejo - Rotação e Reforma. EMBRAPA. Disponível em <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/manejo/rotacao-e-reforma>>. Acesso em Setembro de 2022.

Sivinski, J. et al. (1998). The Bionomics of *Coptera Haywardi* (Ogloblin) (Hymenoptera: Diapriidae) and Other Pupal Parasitoids of Tephritid Fruit Flies (Diptera). *Biological Control*, v. 11, n. 3, p. 193-202.

Sivinski, J. M. et al. (1996). Suppression of a Caribbean Fruit Fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera: Tephritidae) Population through Augmented Releases of the parasitoid *diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, v. 6, n. 2, p. 177-185.

Torres, M. L. G. (2005). Controle biológico de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983. Master's Dissertation, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba. doi:10.11606/D.11.2005.tde-12092006-161606. Retrieved 2022-08-22

Trexler, J.C.; McCulloch, C.E; Travis, J (1988) How can functional response best be determined? *Oecologia*. 76, p. 206-214.

Van Nieuwenhove, G. et al (2016). Combined effect of larval and pupal parasitoid use for *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) control. *Biological Control*, v. 95, p. 94-102.

Van Nouhuys, S.; Punju, E. (2010). Coexistence of competing parasitoids: which is the fugitive and where does it hide? *Oikos*, v. 119, n. 1, p. 61-70.

Van Rossum G (2020). *The Python Library Reference*, release 3.8.2. Python Software Foundation.

Van Rossum, G., & Drake, F. L. (2009). *Python 3 Reference Manual*. Scotts Valley, CA: CreateSpace.

Vargas, Germán et al (2015). Sugarcane stem borers of the Colombian Cauca River Valley: current pest status, biology, and control. *Florida entomologist*, v. 98, n. 2, p. 728-735.

Virtanen, Pauli et (2020) *scipy 1.0: Fundamental Algorithms for Scientific Computing in Python*. *Nature Methods*, v. 17, n. 3, 261-272.

Volpe, H. X. L. (2009). Distribuição espacial do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (ymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar. 2009. xii, 67 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Wiedenmann, R. N et al. (1992). Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environmental Entomology*, v. 21, n. 5, 1160-1167.

Zanuncio, J. C.; Pereira, F.F.; Jacques, G.C.; Tavares, M.T.; Serrao, 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*, v.62, n.1, p.64-66.

Anexos

Tabela S1. Ocupação média (\pm desvio padrão) da população de *Diatraea saccharalis* no cultivo de cana após a liberação de *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* de maneira isolada ou combinada (cenários) ao final do primeiro, terceiro e sexto ciclos da cana ($t=5^a$, $t=15^a$ e $t=30^a$ gerações), realizadas na área total (Local A) ou borda (Local B) dos hectares que compõe a paisagem agrícola: (C₁) liberação isolada de *C. flavipes*, (C₂) liberação de *C. flavipes* em associação com *T. howardi*, (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (grupo controle 1 de C₂), (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (grupo controle 2 de C₂). As médias são referentes ao total de 50 simulações.

| Cenários | Local A | Local B |
|--|-------------------------|-------------------------|
| t=5 | | |
| (cenário $F_{3,396}=6480,5$, $p<0,05$; local $F_{1,395}=1195,4$, $p<0,05$; local \times cenário $F_{3,392}=134,3$, $p<0,05$) | | |
| C ₁ | 36% ($\pm 0,12$) aA | 37,4% ($\pm 0,12$) bA |
| C ₂ | 22,8% ($\pm 0,1$) aB | 25,5% ($\pm 0,1$) bB |
| C ₃ | 23,3% ($\pm 0,11$) aC | 24,8% ($\pm 0,1$) bC |
| C ₄ | 21,5% ($\pm 0,1$) aD | 26,4% ($\pm 0,1$) bD |
| t=15 | | |
| (cenário $F_{3,396}=588,9$, $p<0,05$; local $F_{1,395}=340,2$, $p<0,05$; local \times cenário $F_{3,392}=47,2$, $p<0,05$) | | |
| C ₁ | 25,3% ($\pm 0,2$) aA | 27% ($\pm 0,3$) bA |
| C ₂ | 16% ($\pm 0,2$) aB | 18,9% ($\pm 0,2$) bB |
| C ₃ | 17,8% ($\pm 0,2$) aC | 19,2% ($\pm 0,2$) bB |
| C ₄ | 15,4% ($\pm 0,2$) aB | 21,3% ($\pm 0,2$) bC |
| t=30 | | |
| (cenário $F_{3,396}=282,4$, $p<0,05$; local $F_{1,395}=350,2$, $p<0,05$; local \times cenário $F_{3,392}=43,9$, $p<0,05$) | | |
| C1 | 35,6% ($\pm 0,4$) aA | 38,5% ($\pm 0,4$) bA |
| C2 | 24,2% ($\pm 0,4$) aB | 29,8% ($\pm 0,4$) bB |
| C3 | 28,2% ($\pm 0,4$) aC | 30,2% ($\pm 0,4$) bB |
| C ₄ | 23,9% ($\pm 0,4$) aB | 33,2% ($\pm 0,4$) bC |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação entre estratégias de liberação de parasitoides dentro de cada cenário (linhas). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação dos cenários dentro de cada estratégia de liberação (colunas) (RMV, $p<0,05$)

Tabela S2. Ocupação média (\pm desvio padrão) da população de parasitoides no cultivo de cana após a liberação de *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* de maneira isolada ou combinada (cenários) ao final do primeiro e terceiro ciclos da cana ($t=5^a$ e $t=15^a$ gerações), realizadas na área total (Local A) ou borda (Local B) dos hectares que compõe a paisagem agrícola: (C₁) liberação isolada de *C. flavipes*, (C₂) liberação de *C. flavipes* em associação com *T. howardi*, (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (grupo controle 1 de C₂), (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (grupo controle 2 de C₂). As médias são referentes ao total de 50 simulações.

| Cenários | Local A | Local B |
|---|--------------------------|-------------------------|
| t=5 | | |
| (cenário $F_{3,396}=55,42$, $p<0.05$; local $F_{1,395}=120,6$, $p<0.05$; local \times cenário $F_{3,392}=40,9$, $p<0.05$) | | |
| C ₁ | 3,3% ($\pm 0,07$) aA | 3,4% ($\pm 0,07$) aA |
| C ₂ | 3,6% ($\pm 0,08$) aA | 3,1% ($\pm 0,07$) bA |
| C ₃ | 2,8 % ($\pm 0,07$) aB | 2,34% ($\pm 0,06$) bB |
| C ₄ | 3,9% ($\pm 0,08$) aC | 2,4 % ($\pm 0,06$) bB |
| t=15 | | |
| (cenário $F_{3,396}=111,2$, $p<0.05$; local $F_{1,395}=7,23$, $p<0.05$; local \times cenário $F_{3,392}=6,53$, $p<0.05$) | | |
| C ₁ | 0,62% ($\pm 0,03$) aA | 0,43% ($\pm 0,03$) bA |
| C ₂ | 0,24% ($\pm 0,02$) aB | 0,22% ($\pm 0,02$) aB |
| C ₃ | 0,13% ($\pm 0,02$) aC | 0,12% ($\pm 0,01$) aC |
| C ₄ | 0,14% ($\pm 0,02$) aBC | 0,22% ($\pm 0,02$) aB |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação entre estratégias de liberação de parasitoides dentro de cada cenário (linhas). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação dos cenários dentro de cada estratégia de liberação (colunas) (RMV, $p<0.05$)

Tabela S3. Tamanho populacional médio (\pm desvio padrão) de *Diatraea saccharalis* no cultivo de cana após a liberação de *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* de maneira isolada ou combinada (cenários) ao final do primeiro, terceiro e sexto ciclos da cana ($t=5^a$, $t=15^a$ e $t=30^a$ gerações), realizadas na área total (Local A) ou borda (Local B) dos hectares que compõe a paisagem agrícola: (C₁) liberação isolada de *C. flavipes*, (C₂) liberação de *C. flavipes* em associação com *T. howardi*, (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (grupo controle 1 de C₂), (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (grupo controle 2 de C₂). As médias são referentes ao total de 50 simulações.

| Cenários | Local A | Local B |
|--|-------------------------------|-------------------------------|
| t=5 | | |
| Cenário $F_{3,392}=7119,8$, $p<0.05$; Local $F_{1,392}=932,8$, $p<0.05$; Cenário x Local $F_{3,392}=205,2$, $p<0.05$ | | |
| C ₁ | 10780.35 (± 328.11) aA | 10799.67 (± 307.83) aA |
| C ₂ | 5738.53 (± 275.79) aB | 6765.97 (± 244.89) bB |
| C ₃ | 5959.04 (± 261.94) aC | 6409.87 (± 227.17) bC |
| C ₄ | 5297.08 (± 272.51) aD | 7112.56 (± 235.40) bD |
| t=15 | | |
| Cenário $F_{3,392}=739,98$, $p<0.05$; Local $F_{1,392}=294,59$, $p<0.05$; Cenário x Local $F_{3,392}=50,84$, $p<0.05$ | | |
| C ₁ | 9746.8 (± 942.36) aA | 10141.56 (± 996.45) aA |
| C ₂ | 5258.02 (± 614.8) aB | 6623.73 (± 654.93) bB |
| C ₃ | 6127.47 (± 549.67) aC | 6602.41 (± 525.46) bB |
| C ₄ | 5050.24 (± 519.13) aB | 7558.91 (± 533.22) bC |
| t=30 | | |
| Cenário $F_{3,392}=479,4$, $p<0.05$; Local $F_{1,392}=281,5$, $p<0.05$; Cenário x Local $F_{3,392}=36,5$, $p<0.05$ | | |
| C ₁ | 14617.07 (± 1409.94) aA | 15691.5 (± 1788.19) bA |
| C ₂ | 8445.21 (± 1084.97) aB | 10645.64 (± 1181.92) bB |
| C ₃ | 10055.74 (± 934.24) aC | 10792.67 (± 908.03) bB |
| C ₄ | 8229 (± 827.80) aB | 12123.41 (± 980.27) bC |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação entre estratégias de liberação de parasitoides dentro de cada cenário (linhas). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação dos cenários dentro de cada estratégia de liberação (colunas) (Tukey, $p<0.05$)

Tabela S4. Tamanho populacional médio (\pm desvio padrão) de parasitoides (*Tetrastichus howardi* + *Cotesia flavipes*) no cultivo de cana após a liberação de *C. flavipes* e *T. howardi* de maneira isolada ou combinada (cenários) ao final do primeiro ciclo da cana (t=5ª gerações), realizadas na área total (Local A) ou borda (Local B) dos hectares que compõe a paisagem agrícola: (C₁) liberação isolada de *C. flavipes*, (C₂) liberação de *C. flavipes* em associação com *T. howardi*, (C₃) liberação dupla de *C. flavipes* (grupo controle 1 de C₂), (C₄) liberação dupla de *T. howardi* (grupo controle 2 de C₂). As médias são referentes ao total de 50 simulações.

| Cenários | Local A | Local B |
|--|------------------------------|------------------------------|
| t=5 | | |
| Cenário $F_{3,392}=147,04, p<0.05$; Local $F_{1,392}=76,61, p<0.05$; Cenário x Local $F_{3,392}=10,51, p<0.05$ | | |
| C ₁ | 21835.19 (± 328.11) aA | 21866.49 (± 307.83) aA |
| C ₂ | 17755.36 (± 275.79) aB | 14246.57 (± 244.89) bB |
| C ₃ | 18907.1 (± 261.94) aB | 14752.75 (± 227.17) bB |
| C ₄ | 13325.16 (± 272.51) aC | 7325.26 (± 235.40) bC |

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação entre estratégias de liberação de parasitoides dentro de cada cenário (linhas). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa na comparação dos cenários dentro de cada estratégia de liberação (colunas) (Tukey, $p<0.05$)

CAPÍTULO 2 – Efeitos da abundância e da distribuição de hospedeiros alternativos sobre a competição entre parasitoides especialista e generalista no controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Resumo

O endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* tem sido usado com sucesso em programas de controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. Entretanto, a presença de lagartas que escapam do ataque de *C. flavipes* podem fazer com que as taxas de persistência da praga nas plantações aumentem, trazendo a necessidade de recorrentes liberações de parasitoides. Recentemente o endoparasitoide generalista, *Tetrastichus howardi* tem sido considerado como potencial agente de controle biológico complementar nas liberações de *C. flavipes*, por ser capaz de parasitar pupas da broca-da-cana que escapam do ataque de *C. flavipes*. Entretanto, até o momento, nenhum estudo buscou avaliar se o comportamento generalista de *T. howardi*, que pode parasitar insetos de diferentes ordens e famílias, pode impactar o controle biológico de *D. saccharalis*, uma vez que a presença de hospedeiros alternativos pode reduzir as taxas de parasitismo da espécie sobre a praga alvo. Este trabalho teve como objetivo avaliar, através de modelo matemático e simulações computacionais, os efeitos da liberação associada de *C. flavipes* (parasitoide especialista) e *T. howardi* (parasitoide generalista) no controle biológico de *D. saccharalis* quando hospedeiros alternativos estão presentes na plantação. Também foi avaliado como a distribuição espacial destes hospedeiros na plantação afeta a interação entre as espécies parasitoides e entre estes e a praga alvo do controle biológico. Os resultados encontrados mostraram que a presença de hospedeiros alternativos aumenta a persistência de *T. howardi* na paisagem e, conseqüentemente, reduz a população de praga na paisagem, via competição aparente entre espécies hospedeiras. Entretanto, quando os hospedeiros alternativos e praga se encontram em áreas distintas na paisagem, o padrão espacial e a proporção de área ocupada pelos hospedeiros alternativos podem resultar no movimento do parasitoide generalista *T. howardi* para áreas nas quais a praga não está presente, reduzindo a eficácia do controle biológico através do uso de liberação de *C. flavipes* associada com *T. howardi*.

Palavras- chave: Modelagem matemática, *Cotesia flavipes*, *Tetrastichus howardi*, competição aparente.

Effects of alternative host abundance and distributions on the competition between specialist and generalist parasitoids in the biological control of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Abstract

The larval endoparasitoid *Cotesia flavipes* has been successfully used in biological control programs for the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. However, the presence of caterpillars that escape the attack of *C. flavipes* can increase the pest persistence rates in sugarcane crops, leading to the need for recurrent parasitoid releases. Recently, the generalist endoparasitoid, *Tetrastichus howardi*, has been considered a potential complementary biological control agent in *C. flavipes* releases, as it is able to parasitize sugarcane borer pupae that escape from *C. flavipes* attack. However, to date, no study has been focused on to assess whether the generalist behavior of *T. howardi*, which can parasitize insects of different orders and families, can impact the biological control of *D. saccharalis*, since the presence of alternative hosts can reduce the parasitism rates of the species on the target pest. The aims of this study were to evaluate, through a mathematical model and computer simulations, the effects of the associated release of *C. flavipes* (specialist parasitoid) and *T. howardi* (generalist parasitoid) on the biological control of *D. saccharalis* when alternative hosts are present in the crop area. It was also evaluated how the spatial distribution of these hosts in the plantation affects the interaction between parasitoid species and between them and the target pest of biological control. The results found showed that the presence of alternative hosts increases the persistence of *T. howardi* in the landscape and, consequently, reduces the pest population in the landscape, via apparent competition between host species. However, when the alternate hosts and pest are found in distinct areas in the landscape, the spatial pattern and the proportion of area occupied by the alternate hosts can result in the movement of the generalist parasitoid *T. howardi* to areas where the pest is not present, reducing the effectiveness of biological control using *C. flavipes* release associated with *T. howardi*.

Key words: Mathematical modeling, *Cotesia flavipes*, *Tetrastichus howardi*, apparent competition.

Efeitos da abundância e da distribuição de hospedeiros alternativos sobre a competição entre parasitoides especialista e generalista no controle biológico da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

1. Introdução

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é uma praga-chave da cultura da cana-de-açúcar, podendo causar redução na biomassa e na produção de açúcar e álcool (Rossato et al., 2013). Essa praga se desenvolve no interior do colmo da planta, o que dificulta seu controle através do uso de defensivos agrícolas (Gallo et al. 2002, Oliveira et al. 2012). O controle biológico da broca-da-cana através do uso do endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) tem se destacado como uma eficiente alternativa na redução da população da praga nos canaviais, sendo o uso de *C. flavipes* considerado sucesso no programa de controle biológico de *D. saccharalis* em todo o mundo (Oliveira et al. 2012).

Recentemente estudos têm destacado o potencial do endoparasitoide gregário *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) como agente de controle biológico para a broca-da-cana, devido ao parasitismo de pupas do inseto. Assim, o uso complementar de *T. howardi* em liberações de *C. flavipes* pode aumentar as taxas de parasitismo de *D. saccharalis*, ao atacar as pupas provenientes das lagartas que escaparam do ataque de *C. flavipes* (Pereira et al. 2015, Vargas et al. 2015). Esta espécie parasitoide é considerada generalista, uma vez que as fêmeas podem variar suas taxas de parasitismo em resposta às mudanças na riqueza e abundância de diferentes espécies consideradas hospedeiras (Godfray 1994). Estudos mostram que fêmeas de *T. howardi*, além de parasitar a broca-da-cana, também podem parasitar insetos pertencentes a diferentes ordens, tais como Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (Moore & Kfir 1995, González et al. 2007, Oliveira 2013).

O uso de múltiplos parasitoides tem se mostrado promissor para controlar estágios de vida diferentes de uma praga ou quando uma segunda espécie parasitoide tem características que complementam a deficiência da primeira espécie, trazendo maior efetividade no controle das pragas. Por exemplo, no controle biológico de algumas espécies de moscas-de-fruta, a associação entre os parasitoides *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) e *Coptera haywardi* (Oglobin)

(Hymenoptera: Diapriidae) tem sido usada com sucesso (Ovruski et al. 2000). Assim, apesar de efetivo o controle por *D. longicaudata*, a parcela da população da mosca-de-fruta que se mantém não parasitada durante a fase larval pode ser suprimida pelo parasitismo das pupas por *C. haywardi* (Sivinski 1996, Montoya et al. 2000, Cancino et al. 2012).

O uso de diferentes espécies parasitoides como agentes de controle biológico pode trazer vantagens quando as espécies ocupam diferentes nichos de forrageamento (Cancino et al. 2014, Yang et al. 2018, Montoya et al. 2019). Por outro lado, a estratégia pode ser desvantajosa quando as espécies estabelecem relações antagônicas e passam a competir pelo recurso comum (Vet et al. 1984, Denoth et al. 2002., Wang & Messing 2004 A, B, Yang et al. 2018), podendo resultar em exclusão competitiva dos parasitoides introduzidos no controle biológico (Luck & Podoler 1985, Schellhorn et al. 2003, Mills 2006) ou na ‘fuga’ de uma das espécies competidoras, que passa a sobreviver apenas no local com uma baixa densidade populacional, parasitando apenas uma pequena parcela de hospedeiros que escaparam do ataque do melhor competidor (van Nouhuys & Punju 2010).

Em trabalhos que avaliam o potencial do uso de *T. howardi* no controle de *D. saccharalis*, tem-se considerado a interação da espécie exclusivamente com a broca-da-cana (Costa, 2013, Rodrigues et al. 2019), entretanto, na paisagem agrícola na qual o canavial está inserido, o inseto-praga não a única espécie presente na comunidade de insetos presentes na área. A presença de outros insetos pode levar ao estabelecimento de diferentes interações envolvendo os parasitoides liberados e as demais espécies presentes na comunidade associada ao cultivo alvo do Programa de Controle Biológico (Godfray & Waage 1991).

A competição entre parasitoides de comportamento generalista e especialista ocorre frequentemente quando a densidade populacional do hospedeiro, a qual o parasitoide generalista está associado, é baixa, sendo comum que o parasitoide busque por hospedeiros alternativos, exibindo o comportamento de “*Switching*”, que é definido como a troca de hospedeiro (Murdoch 1969). Este comportamento pode trazer custos ao *fitness* do parasitoide (Jones et al. 2015) e promover a competição com outras espécies parasitoides associadas ao novo hospedeiro comum (Cusumano et al. 2016). Ao mesmo tempo que a redução no *fitness* da espécie generalista, causado pelo *Switching*, pode trazer benefícios quando outras espécies hospedeiras se tornam raras ou desaparecem,

possibilitando a persistência do parasitoide generalista no local. Esta interação competitiva pode surgir quando parasitoides especialistas são liberados como agentes de controle biológico em áreas nas quais parasitoides generalistas estão presentes, afetando o desempenho destes agentes na regulação da população praga (Gripenberg et al. 2011, Broadley et al. 2019). No caso em que os parasitoides liberados são generalistas, como o parasitoide *T. howardi*, o *Switching* também pode ter grande influência na efetividade do controle quando, por exemplo, o agente de controle deixa de parasitar a espécie hospedeira alvo e passa a interagir com outras espécies hospedeiras não alvo (que pode não ser uma espécie considerada praga para o cultivo em questão) (Pacheco et al. 2018, Talamas et al., 2015, Herlihy et al. 2016).

Este estudo teve como objetivos entender, através do uso de modelo matemático e simulações computacionais, os efeitos da liberação conjunta de *C. flavipes*, considerado parasitoide especialista na broca-da-cana e *T. howardi*, parasitoide generalista no controle biológico de *D. saccharalis* (hospedeiro alvo - praga), na presença de hospedeiros alternativos do parasitoide generalista na paisagem. Para isto, foram exploradas diferentes combinações para graus de infestação dos hospedeiros praga/alternativos na paisagem, variando a ocupação destes nas proporções 100-0%, 25-75%, 50-50%, 75-25% e 100-100%. Também foi avaliado como a distribuição espacial das espécies hospedeiras afeta a competição entre as espécies parasitoides e consequentemente seus potenciais para controlar a praga. Assim, o padrão de distribuição das espécies hospedeiras, ou seja, se distribuídas nas bordas ou em blocos na paisagem agrícola, também foram analisados. Os resultados foram avaliados com base no tempo de persistência, ocupação e tamanho populacional das espécies parasitoides na área.

2. Materiais e Métodos

Neste estudo foi desenvolvido um modelo matemático com estrutura espacial para avaliar, através de simulações computacionais, os efeitos da competição entre o parasitoide especialista, *C. flavipes* e o parasitoide generalista, *T. howardi*, em resposta a diferentes proporções entre o hospedeiro comum a ambos, *D. saccharalis*, e grupo de hospedeiros alternativos, parasitados apenas pelo parasitoide generalista, na efetividade do controle biológico da espécie alvo, *D. saccharalis*. Também foi avaliado como o padrão de distribuição dos cultivos atacados pelas espécies hospedeiras (praga

alvo/hospedeiros alternativos) no momento da liberação dos parasitoides afetam a regulação populacional da espécie praga pelos parasitoides.

A parametrização do modelo foi feita utilizando os dados biológicos obtidos da literatura. Para diferenciar o potencial de cada espécie parasitoide na competição por *D. saccharalis*, as equações de interação de cada espécie parasitoide com os hospedeiros foram caracterizadas pelos parâmetros biológicos taxa de ataque e tempo de manuseio, através estimativa da resposta funcional obtidos da experimentação descrita na seção 2.1 do capítulo 1. Neste estudo, o hospedeiro alternativo do parasitoide generalista representou um grupo de potenciais hospedeiros de *T. howardi*, tais como: Tenebrionidae (Coleoptera) (Oliveira 2013), Pyralidae (Lepidoptera), Noctuidae (Lepidoptera) (Moore & Kfir 1995), Tachinidae (Diptera) (González et al. 2007), insetos que podem estar presentes na cana ou em cultivos adjacentes.

Devido a diversidade do grupo de hospedeiros alternativos, os parâmetros da resposta funcional de *T. howardi* obtidos no estudo de resposta funcional do parasitoide sobre *D. saccharalis* (capítulo 1) foram mantidos para descrever sua interação com grupo de hospedeiros alternativos. Os efeitos da competição para as diferentes proporções e padrões espaciais de distribuição da praga alvo/hospedeiros alternativos foram avaliadas através do estudo da persistência, ocupação e tamanho populacional das espécies na paisagem.

2.1. Modelo Matemático

No modelo, a paisagem agrícola é representada por um *grid* de duas dimensões, composto por 2.500 células, no qual cada célula representa uma unidade espacial, ou *patch* ($\approx 40\text{m}^2$), formando uma rede de 50×50 *patches*. Para a descrição da dinâmica de interação entre as espécies dentro de cada *patch*, foram usados parâmetros demográficos e biológicos obtidos da literatura para as espécies *D. saccharalis*, *C. flavipes* e *T. howardi* (Tabela 1). Porque o grupo dos hospedeiros alternativos pode ser diverso e como os objetivos do estudo é saber o impacto da presença de hospedeiros alternativos para a manutenção das populações de *T. howardi* e conseqüentemente sobre sua demografia e potencial de competição em interação com *C. flavipes*, os parâmetros populacionais deste grupo foram mantidos iguais aos da população de *D. saccharalis*.

Tabela 1. Lista com breve descrição dos parâmetros usados no modelo e valores usados nas simulações.

| Parâmetros | Descrição | Valores |
|---------------------------|---|---|
| λ | Taxa de Crescimento populacional | $\lambda = 1,0341$ (Botelho, 1985); |
| n_N^0, n_H^0 | Tolerância dos hospedeiros a conspecíficos | $n_N^0 = n_H^0 = 100$ (indivíduos)*; |
| $R_N, R_H,$ R_p, R_q | Distância máxima alcançada pelos hospedeiros e parasitoides dentre os vizinhos do <i>patch</i> natal | $R_N = R_H = 3$; $R_p = R_q = 2$; |
| μ_N, μ_H | Máxima taxa de dispersão dos hospedeiros (<i>D. saccharalis</i> e hospedeiros alternativos, respectivamente) | $\mu_N = \mu_H = 0,3$ *; |
| μ_p, μ_q | Máxima taxa de dispersão dos parasitoides (<i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> , respectivamente) | $\mu_p = \mu_q = 0,9$ *; |
| α_p, α_q | Eficiência de busca por hospedeiro de <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> , respectivamente. | $\alpha_p = 0,28$ (Seção 2.2 Capítulo 1); $\alpha_q = 8,01$ (Macedo et al. 2022) |
| N^0 | Quantidade de hospedeiros mínima para a permanência de parasitoides nos <i>patches</i> | 300* |
| f^0 | Tolerância dos parasitoides (ambas as espécies) a conspecíficos | 100* |
| T_s | Tempo de procura dos parasitoides (ambas as espécies) por hospedeiros | 4 (Seção 2.1, Capítulo 1) |
| T_{n1}, T_{n2} | Tempo de manuseio de hospedeiros pelos parasitoides <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> | $T_{h1} = 1,46$; $T_{h2} = 3,07$ (Seção 2.1, Capítulo 1) |
| γ_p, γ_q | Quantidade média de <i>C. flavipes</i> e <i>T. howardi</i> adultos que emergem do hospedeiro | $\gamma_p = 52,5$ (Wiedenmannetal. 1992); $\gamma_q = 30$ (González et al. 2003) |

*Valores teóricos

2.2.1. Dinâmica populacional intra-*patch*

A competição interespecífica pelo hospedeiro *D. saccharalis* entre as espécies parasitoides ocorre de maneira indireta, em diferentes estágios da vida do hospedeiro, ou seja, uma espécie parasitoide poderá esgotar o recurso em um *patch* impedindo que a outra espécie parasitoide tardia se utilize deste recurso naquele *patch*. Assim, *C. flavipes* ataca *D. saccharalis* durante o estágio larval, enquanto *T. howardi* ataca a broca-da-cana durante o estágio de pupa. Dessa forma, devido à competição assíncrona e indireta, *T. howardi* pode parasitar apenas as brocas que escaparam do parasitismo de *C. flavipes*.

Ambos parasitoides são gregários com vários adultos podendo emergir de um único hospedeiro parasitado. O hospedeiro alternativo é atacado apenas por *T. howardi* e as espécies hospedeiras não competem entre si por recursos. A dinâmica populacional das espécies dentro dos *patches* é descrita pelas seguintes equações (May & Hassell 1981):

$$N_{i,t+1} = \lambda N_{i,t} f(P_{i,t}) f(Q_{i,t}) \quad (1.1)$$

$$H_{i,t+1} = \lambda H_{i,t} f(Q_{i,t}) \quad (1.2)$$

$$P_{i,t+1} = \gamma_P N_{i,t} (1 - f(P_{i,t})) \quad (1.3)$$

$$Q_{i,t+1} = \gamma_Q N_{i,t} f(P_{i,t}) (1 - f(Q_{i,t})) + \gamma_Q H_{i,t} (1 - f(Q_{i,t})) \quad (1.4)$$

Onde $N_{i,t}$, $H_{i,t}$, $P_{i,t}$ e $Q_{i,t}$ são, respectivamente, as populações de *D. saccharalis*, hospedeiros alternativos, *C. flavipes* e *T. howardi* do tempo t no *patch* i ; e λ é a taxa de crescimento da população de *D. saccharalis* e dos hospedeiros alternativos, respectivamente, na ausência do parasitismo e γ_P e γ_Q representam a quantidade de parasitoides adultos que emergem das espécies hospedeiras parasitadas por *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente. As funções $f(P_t)$ e $f(Q_t)$ representam as respostas funcionais tipo II (Holling 1959) de *C. flavipes* e *T. howardi*, ou seja, a fração das espécies hospedeiras que escapam do ataque dos parasitoides:

$$f(P_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_P T_s P_{i,t}}{1 + \alpha_P T_{hP} N_{i,t}}} \quad (2.1)$$

$$f(Q_{i,t}) = e^{\frac{-\alpha_Q T_s Q_{i,t}}{1 + \alpha_Q T_{hQ} N_{i,t}}} \quad (2.2)$$

Onde T_s é o tempo total de interação entre a espécie parasitoide e seus hospedeiros; T_{hP} e T_{hQ} descrevem o tempo de manuseio dos hospedeiros e α_P e α_Q as taxas de ataque de *C. flavipes* e *T. howardi*, respectivamente.

2.2.2 Dinâmica de dispersão das espécies na paisagem

Nas simulações, as populações presentes em cada *patch* foram conectadas por dispersão dependente da densidade no *grid* que representa a paisagem agrícola, no qual

foi assumido bordas reflexivas. Depois da interação nos *patches*, os hospedeiros adultos e os parasitoides que emergem dos hospedeiros parasitados podem permanecer ou deixar os *patches*, dependendo das condições locais, ou seja, da densidade de hospedeiros e parasitoides presentes no local.

A dispersão das espécies ocorre dentro de uma distância R do *patch* original, com uma área de dispersão correspondente a aproximadamente πR^2 . A fração de indivíduos de cada espécie que deixa o *patch* de origem é dada segundo as equações (Reigada et al., 2014):

$$N_{i,t+1}^{out} = \frac{\mu_N N_{i,t+1}^2}{N_{i,t+1} + n_N^0} \quad (3.1)$$

$$H_{i,t+1}^{out} = \frac{\mu_H H_{i,t+1}^2}{H_{i,t+1} + n_H^0} \quad (3.1)$$

$$P_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_P \frac{N^0}{N^0 + N_{i,t+1}} \frac{P_{i,t+1}^2}{P_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} > 0 \\ P_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} = 0 \end{cases} \quad (3.3)$$

$$Q_{i,t+1}^{out} = \begin{cases} \mu_Q \frac{N^0}{N^0 + (N_{i,t+1} + H_{i,t+1})} \frac{Q_{i,t+1}^2}{Q_{i,t+1} + f^0} & \text{se } N_{i,t+1} + H_{i,t+1} > 0 \\ Q_{i,t+1} & \text{se } N_{i,t+1} + H_{i,t+1} = 0 \end{cases} \quad (3.4)$$

Onde $N_{i,t+1}^{out}$, $H_{i,t+1}^{out}$, $P_{i,t+1}^{out}$ e $Q_{i,t+1}^{out}$ representam, respectivamente, a população de *D. saccharalis* (praga alvo), hospedeiros alternativos, *C. flavipes* e *T. howardi* que deixam o *patch* i . μ_N e μ_H representam as taxas máximas de dispersão das espécies hospedeiras alvo e alternativa, respectivamente, quando as densidades de conspecíficos são altas (dispersão dependente da densidade) e n_N^0 e n_H^0 são a tolerância dos hospedeiros a seus conspecíficos para *D. saccharalis* e hospedeiros alternativos, respectivamente. Assim, quando a densidade de hospedeiros no *patch* é baixa, maior é a fração de hospedeiros permanecem no *patch*. μ_P e μ_Q representam a fração máxima de *C. flavipes* e *T. howardi* que podem deixar o *patch* i quando há poucos hospedeiros ou quando a qualidade do *patch* não é ideal (alta proporção hospedeiro/parasitoides). Assim, N^0 é o número de hospedeiros (apenas *D. saccharalis* para *C. flavipes* e *D. saccharalis* + hospedeiros alternativos para *T. howardi*) necessários para a permanência dos parasitoides no *patch* e f^0 é a tolerância dos parasitoides a seus conspecíficos (densidade limite de parasitoides presentes no *patch*, na qual não há estímulo para dispersão). Nas simulações, a decisão

das espécies parasitoides em permanecer ou deixar o local é influenciada apenas pelos seus conspécíficos, uma vez que cada espécie parasita o hospedeiro em diferentes estágios de vida.

As populações de hospedeiros ($N_{j,t+1}^{in}$, $H_{i,t+1}$) e parasitoides ($P_{j,t+1}^{in}$, $Q_{j,t+1}^{in}$) se dispersam para os *patches* vizinhos j ($j \neq i$), dentro da área de dispersão R através das equações:

$$N_{j,t+1}^{in} = \frac{0.05}{r_{i,j}} N_{i,t+1}^{out} \quad (3.5)$$

$$H_{j,t+1}^{in} = \frac{0.05}{r_{i,j}} H_{i,t+1}^{out} \quad (3.6)$$

$$P_{i,t+1}^{in} = \frac{0.125}{r_{i,j}} P_{i,t+1}^{out} \quad (3.7)$$

$$Q_{j,t+1}^{in} = \frac{0.125}{r_{i,j}} Q_{i,t+1}^{out} \quad (3.8)$$

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

A determinação dos valores de $r_{i,j}$ de *D. saccharalis* é baseado nos trabalhos de Caixeta (2010) que demonstrou que a broca-da-cana possui uma grande capacidade de voo, podendo se dispersar até 450m do ponto de origem ao longo do canavial, e como os hospedeiros alternativos também podem pertencer a outros grupos com grande capacidade de voo, como outros lepidópteros, a distância percorrida pelos hospedeiros alternativos é semelhante à de *D. saccharalis*. Aos parasitoides, por possuírem uma capacidade reduzida de voo, foram consideradas as seguintes distâncias de dispersão: 15m para *C. flavipes* (Dinardo-Miranda 2014) e 20 m para *T. howardi* (Barbosa et al. 2019). Dessa forma, os valores de $r_{i,j}$ utilizados garantem que ambas as espécies hospedeiras sejam distribuídas em um maior número de *patches*, situados a maiores distâncias do *patch* i (28 *patches*) dentro do raio de dispersão máxima R ($r_{i,j} \leq R$) comparados aos parasitoides, que ficam restritos a dispersão aos 8 *patches* vizinhos.

Após a fase de dispersão, todos os *patches* têm suas populações atualizadas:

$$N_{i,t+1} = N_{i,t+1} - N_{i,t+1}^{out} + \sum N_{j,t+1}^{in} \quad (4.1)$$

$$H_{i,t+1} = H_{i,t+1} - H_{i,t+1}^{out} + \sum H_{j,t+1}^{in} \quad (4.2)$$

$$P_{i,t+1} = P_{i,t+1} - P_{i,t+1}^{out} + \sum P_{j,t+1}^{in} \quad (4.3)$$

$$Q_{i,t+1} = Q_{i,t+1} - Q_{i,t+1}^{out} + \sum Q_{j,t+1}^{in} \quad (4.4)$$

Onde a população do *patch* i é o resultado da dinâmica populacional do tempo t ($N_{i,t+1}$, $H_{i,t+1}$, $P_{i,t+1}$ e $Q_{i,t+1}$) subtraído a fração de indivíduos que deixam o *patch* i ($N_{i,t+1}^{out}$, $H_{i,t+1}^{out}$, $P_{i,t+1}^{out}$ e $Q_{i,t+1}^{out}$) somado com novos indivíduos que chegam dos *patches* vizinhos j ($N_{j,t+1}^{in}$, $H_{j,t+1}^{in}$, $P_{j,t+1}^{in}$ e $Q_{j,t+1}^{in}$).

O modelo matemático foi desenvolvido em linguagem de programação Python (Van Rossum & Drake, 2009) com o auxílio da biblioteca Pickle (Van Rossum & Drake, 2020). A biblioteca Matplotlib (Hunter 2007), Numpy (HARRIS et al. 2020), SciPy (Virtanen et al. 2020), pandas (McKinney et al. 2010) e o pacote *open-sourced* APLpy (Robitaille & Bresset 2012, Robitaille 2019) foram utilizadas para os gráficos.

2.2.3. Padrão espacial para a distribuição das espécies hospedeiras na área de plantio

No início das simulações, quando as espécies hospedeiras estavam presentes nos *patches* da paisagem, suas populações foram iniciadas com 100 indivíduos. Diferentes cenários foram simulados através de combinações das proporções das espécies hospedeiro alvo/hospedeiro alternativo: 0-100%; 25-75%, 50-50%, 75-25% e 100-0% e disposição espacial: em bordas ou em blocos; conforme a figura 1.



Figura 1. Diferentes combinações para quantidade (proporção) e distribuição espacial das espécies de hospedeiro alvo (*Diatraea saccharalis*) e de hospedeiros alternativos presentes na paisagem no início das simulações. As áreas verdes, vermelhas e amarelas representam, respectivamente, *patches* da paisagem ocupados por: 100 hospedeiros alvo, 100 hospedeiros alternativos e 50 hospedeiros alternativos + 50 hospedeiros alvo. O ponto azul central representa o local de liberação das espécies parasitoides *Cotesia flavipes* e *Tetrastichus howardi* em associação. As figuras a - h representam diferentes combinações das proporções da paisagem ocupadas pelas espécies hospedeiras alvo e alternativas, que ocupam 0%, 25%, 50%, 75% e 100% dos *patches* da paisagem.

Para todos os cenários simulados, no *patch* central (ponto azul – Fig.1) da paisagem foram liberados 5 indivíduos de cada espécie parasitoide. A interação entre as espécies se deu ao longo de 100 gerações. Em todos os cenários simulados as populações de hospedeiros podiam migrar para qualquer *patch*, sendo as diferentes combinações de abundância e distribuição dos hospedeiros apenas a condição inicial das simulações. Para todos os cenários simulados foram realizadas 100 simulações, totalizando 800 simulações.

3. Resultados

3.1. Persistência dos Parasitoides

Em todos os cenários, as populações de *C. flavipes* e *T. howardi* foram extintas antes do final do período estudado (100 gerações) em 100% das simulações realizadas. Após a liberação inicial, a permanência das populações das espécies parasitoides, ou seja, o número de simulações em que as espécies estavam presentes por geração, na paisagem não ultrapassou 90 gerações (Figs. 2, 3 e 4).

Quando somente *D. saccharalis* estava presente em 100% da paisagem, *C. flavipes* foi a espécie parasitoide que apresentou a maior taxa de persistência na paisagem. Entretanto, quando ambas as espécies hospedeiras (praga e hospedeiros alternativos) estavam presentes na totalidade da paisagem, na presença dos parasitoides, a população da praga permaneceu em somente 60% das simulações. A presença de hospedeiros alternativos também afetou a população das espécies parasitoides, tendo impacto positivo sobre a população de *T. howardi* aumentando seu tempo de persistência na paisagem.

Entretanto, o retardo na ocorrência das extinções das populações de *T. howardi* levou a redução do tempo de permanência da população de *C. flavipes* na paisagem (Fig. 2).

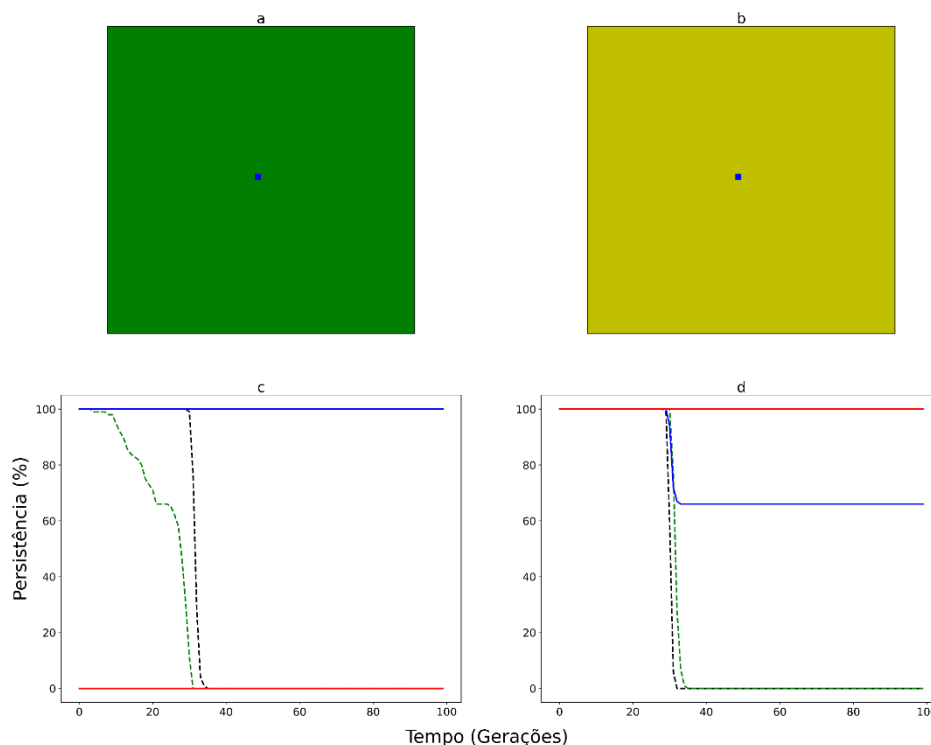


Figura 2. Persistência média (%) de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (c) *D. saccharalis* ocupa 100% da paisagem e o hospedeiro alternativo está ausente; em (b) e (d) ambas as espécies hospedeiras estão presentes em 100% dos *patches* da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e amarelas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo, 50 hospedeiros alvos + 50 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

As figuras 3 e 4 mostram os efeitos do padrão de distribuição das espécies hospedeiras sobre o tempo de permanência das espécies parasitoides na paisagem. A presença de hospedeiros alternativos nas bordas da paisagem teve maior efeito sobre a redução das taxas de persistência da praga no tempo em que os parasitoides estiveram presentes na área, comparada aos cenários nos quais as espécies hospedeiras estavam presentes em blocos na paisagem (Figs. 3 e 4).

A presença de hospedeiros alternativos na borda da paisagem beneficiou a população dos parasitoides generalistas, que permaneceram por mais tempo na paisagem. Entretanto, o aumento da proporção de hospedeiros alternativos na borda da paisagem levou a redução do tempo de persistência de *T. howardi* nas simulações. Os hospedeiros

alternativos estiveram presentes na paisagem até o final em 100% das simulações. A persistência das populações de praga diminuiu com o aumento da quantidade de hospedeiros alternativos na paisagem. A variação na proporção de praga por hospedeiros alternativos presentes na borda da paisagem não provocou grandes variações nas taxas de persistência das populações de *C. flavipes*. (Fig. 3).

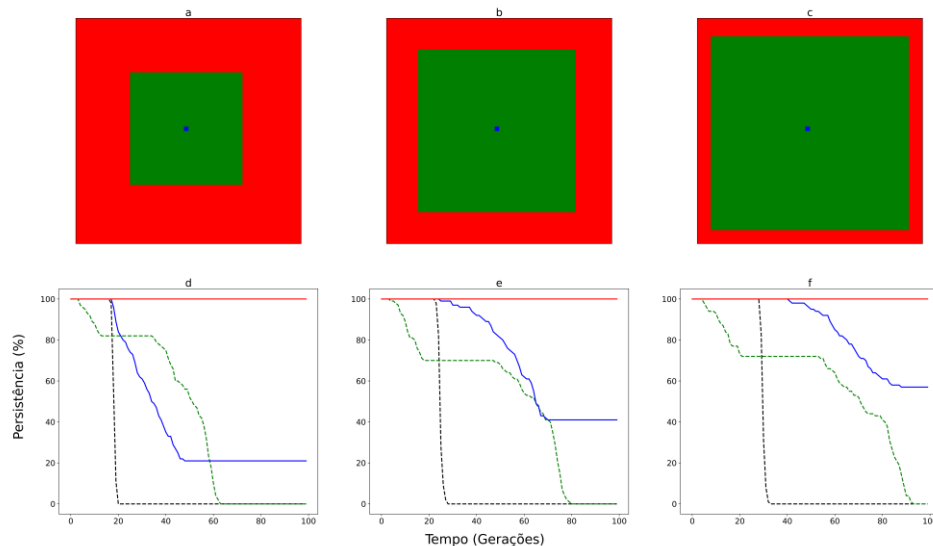


Figura 3. Persistência média (%) de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras ocupam 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

Nas paisagens nas quais as espécies hospedeiras estavam distribuídas em blocos, o aumento da proporção de hospedeiros alternativos na paisagem reduziu as taxas de

persistência da população da praga, no entanto, teve pouco efeito no tempo de persistência das populações das espécies parasitoides (Fig. 4).

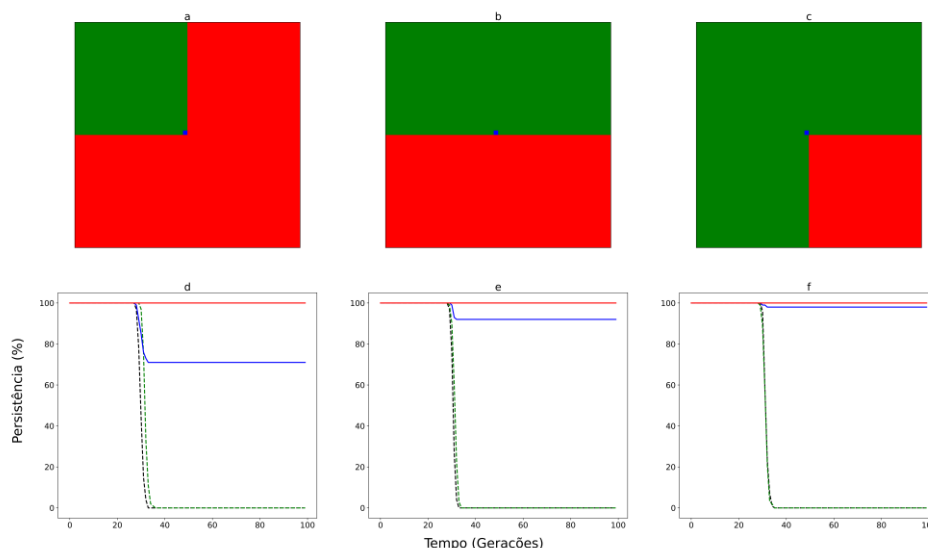


Figura 4. Persistência média (%) de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras ocupam 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

3.2. População dos Parasitoides

Em todos os cenários simulados, as populações das espécies parasitoides cresceram rapidamente, até ultrapassar, por volta da 10^a geração, o tamanho populacional das espécies hospedeiras. Seguindo a redução da proporção hospedeiros/parasitoides na paisagem, a população de parasitoides passou a decair rapidamente e foram conseqüentemente extintas por não conseguirem se manter quando a densidade de hospedeiros na paisagem estava baixa. A extinção dos parasitoides permitiu a continuidade das espécies hospedeiras na paisagem, que voltaram a crescer na ausência de seus agentes controladores (Figs. 5, 6 e 7).

Quando somente a população de hospedeiros praga estava presente em 100% da paisagem, o tamanho populacional de *C. flavipes* se manteve maior do que o tamanho

populacional de *T. howardi*, que se extinguiu mais rapidamente na paisagem (Fig. 5). A presença da espécie de hospedeiros alternativos na totalidade da paisagem fez com que as densidades populacionais de *T. howardi* se iguallassem às densidades populacionais de *C. flavipes* ao longo do tempo. O tamanho populacional da praga se tornou menor do que a dos hospedeiros alternativos. Devido a presença dos hospedeiros alternativos, a população de *T. howardi* teve um decréscimo populacional mais lento, o que permitiu maior tempo de permanência na paisagem (Fig. 5).

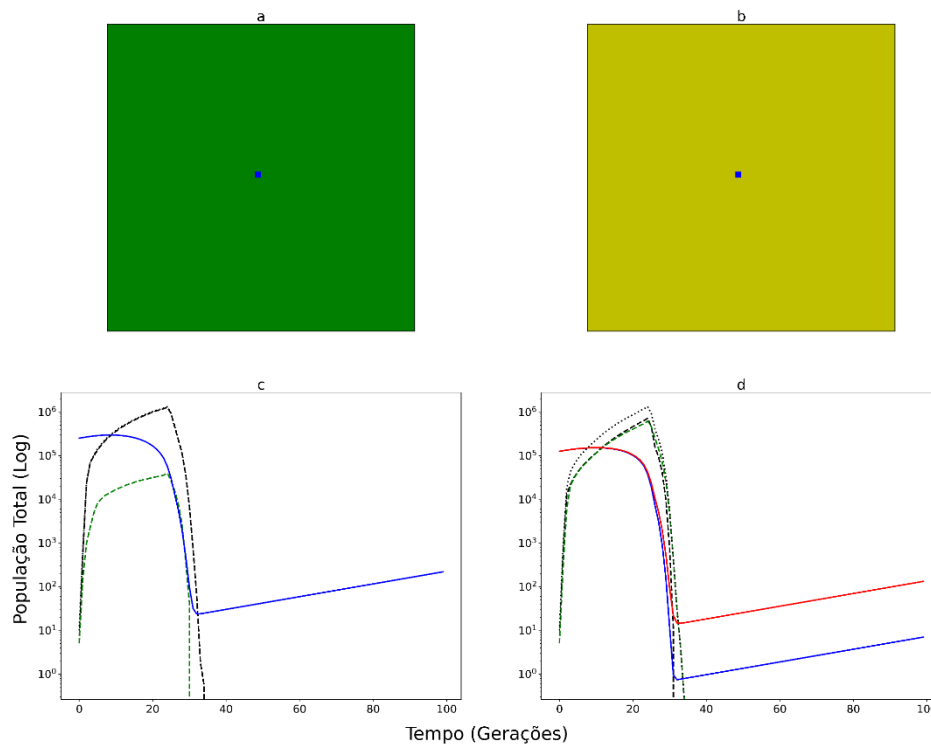


Figura 5. Média da população de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (c) *D. saccharalis* ocupa 100% da paisagem e o hospedeiro alternativo está ausente; em (b) e (d) ambas as espécies hospedeiras estão presentes em 100% dos patches da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e amarelas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo, 50 hospedeiros alvos + 50 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

As figuras 6 e 7 mostram os efeitos do padrão de distribuição das espécies hospedeiras sobre as densidades populacionais das espécies na paisagem. Quando os hospedeiros alternativos estão presentes na borda da paisagem, o decréscimo da população da praga se dá mais rapidamente, devido a posição de liberação dos

parasitoides. A população de *T. howardi* cresce e supera o tamanho população do parasitoide especialista quando atingem os *patches* com hospedeiros alternativos (Fig. 6, Anexo Figs. S4, S5 e S6). O maior ataque dos parasitoides a população da praga resulta também na rápida diminuição da população do parasitoide especialista, *C. flavipes*, levando-a a extinção mais rapidamente. Após a extinção da população do parasitoide especialista, a população da praga volta a crescer, aumentando a quantidade de hospedeiros disponíveis ao parasitoide generalista, que passa a crescer rapidamente, levando a redução da proporção hospedeiros/parasitoides na paisagem. Quando o tamanho populacional de *T. howardi* supera o tamanho populacional de ambas as espécies hospedeiras, iniciou-se o decréscimo populacional dos parasitoides, resultando na sua extinção. As populações dos hospedeiros voltaram então a crescer, se mantendo na paisagem até o final das simulações (Fig. 6). Quanto maior a quantidade de hospedeiros alternativos nas bordas, mais rapidamente ocorreu a extinção das populações de *T. howardi* na paisagem (Fig. 6).

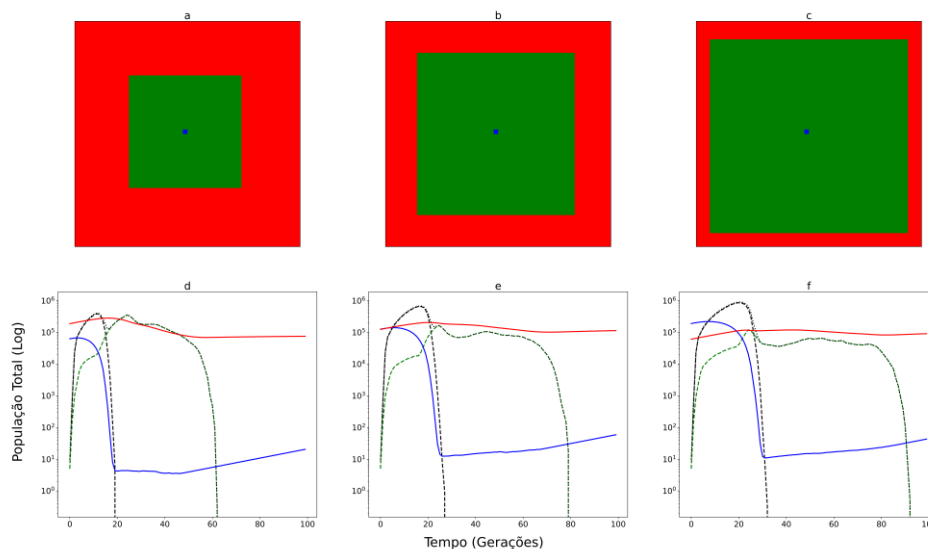


Figura 6. Média da população de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

Quando as populações das espécies hospedeiras estavam distribuídas em blocos na paisagem, o crescimento populacional dos parasitoides generalista e especialista

seguiram o mesmo padrão, reduzindo ambas as populações das espécies hospedeiras a valores semelhantes (Fig. 7), com *C. flavipes* migrando apenas para os blocos com *D. saccharalis* enquanto *T. howardi* se distribui na paisagem se movimentando preferencialmente para o bloco com os hospedeiros alternativo (Anexo Figs. S1, S2 e S3). A proporção hospedeiro/parasitoide da paisagem foi rapidamente reduzida e os parasitoides não conseguiram se manter na paisagem e foram extintos. As populações de ambas as espécies hospedeiras, sem a presença dos agentes controladores voltaram a que crescer e se mantiveram na paisagem até o final das simulações (Fig. 7). O aumento na proporção de hospedeiros alternativos não alterou o tempo de permanência das espécies parasitoides na paisagem (Fig. 7).

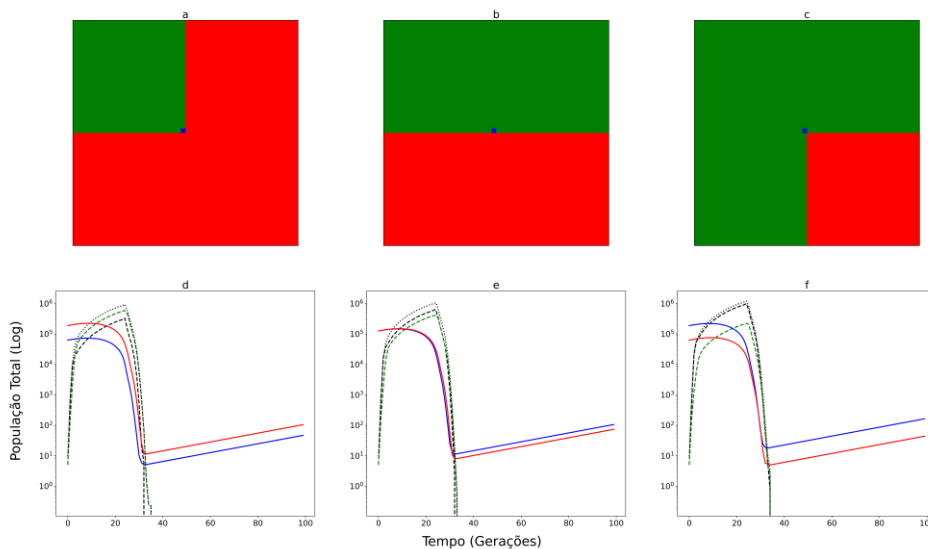


Figura 7. Média da população de *Diatraea saccharalis* (linha contínua azul), *Cotesia flavipes* (linha tracejada preta), *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde) e hospedeiros alternativos (linha contínua vermelha) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam a *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

3.3. Taxa de ocupação dos *patches* da paisagem pelas espécies parasitoides

O número de *patches* da paisagem com a presença de cada espécie é sua taxa de ocupação. Quando a espécie praga é o único hospedeiro presente em 100% da paisagem, a maior taxa de ocupação da paisagem pelos parasitoides (25.67%) se deu por volta da 24ª geração (Fig. 8). A maior parte dos *patches* foram ocupados somente pelo parasitoide

especialista, enquanto *T. howardi* ficou restrita a uma pequena região da paisagem com densidade reduzida de *C. flavipes* (Anexo Fig S7). Foram observados um pequeno número de *patches* ocupados somente pelo parasitoide generalista ou por ambas as espécies parasitoides (Fig. 8). A presença de hospedeiros alternativos e hospedeiros praga na totalidade da paisagem, entretanto, aumentou a taxa de encontro entre as espécies parasitoides. A maior parte dos *patches* com a presença de parasitoides foram ocupados pelos dois parasitoides simultaneamente (Fig8 e Anexo Fig S8). Nos *patches* nos quais estava presente somente uma das espécies parasitoides, *T. howardi* apresentou maior taxa de ocupação comparado a *C. flavipes* (Fig. 8).

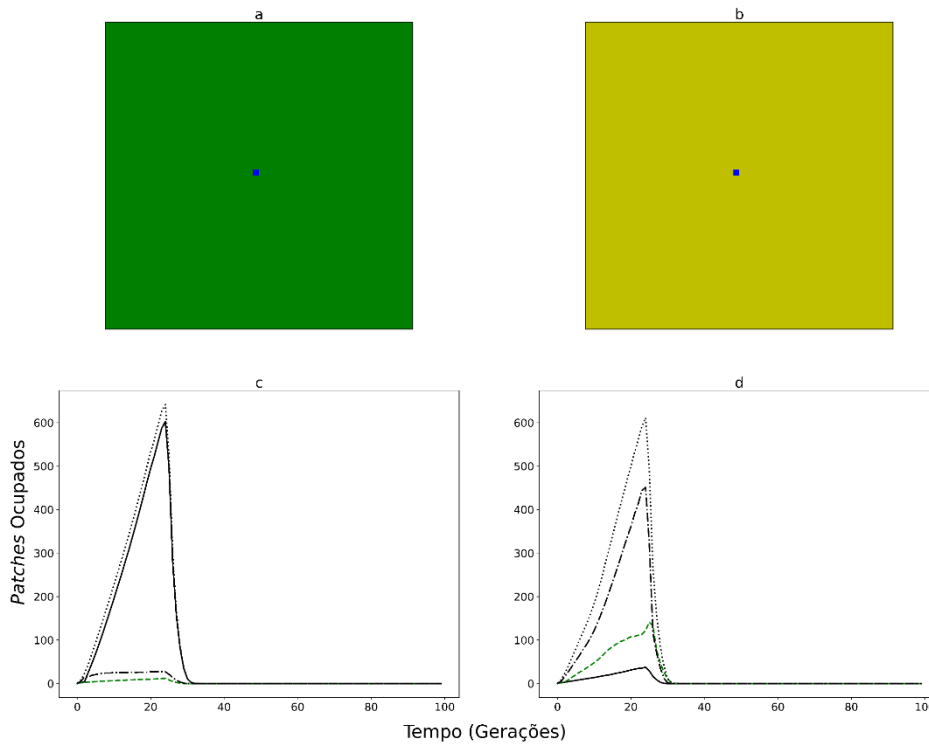


Figura 8. Média de patches da paisagem ocupados (total de 2.500 patches) por *Cotesia flavipes* (linha contínua preta), por *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde), por *C. flavipes* + *T. howardi* (linha tracejada-pontilhada preta) e ocupação total de parasitoides (linha pontilhada preta) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (c) *D. saccharalis* ocupa 100% da paisagem e o hospedeiro alternativo está ausente; em (b) e (d) ambas as espécies hospedeiras estão presentes em 100% dos patches da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e amarelas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo, 50 hospedeiros alvos + 50 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam a *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

As figuras 9 e 10 mostram os efeitos do padrão de distribuição das espécies hospedeiras sobre as taxas de ocupação de *patches* pelas espécies parasitoides na paisagem. Quando os hospedeiros alternativos se localizavam nas bordas da paisagem,

embora apresentassem maior tempo de permanência, os parasitoides, em geral, ocuparam menor quantidade de *patches*, quando comparados às paisagens nas quais as espécies hospedeiras estavam distribuídas em blocos na paisagem (Figs. 9 e 10).

Nas paisagens nas quais os hospedeiros alternativos ocupavam as bordas da paisagem, o aumento da proporção praga/hospedeiros alternativos aumentou a taxa de ocupação da paisagem pelo parasitoide especialista e reduziu a ocupação do parasitoide generalista. Os parasitoides generalistas conseguiram aumentar sua ocupação somente quando as populações dos parasitoides especialista decaíram, coincidindo também com o tempo em que *T. howardi* encontra *patches* com seus hospedeiros alternativos (Anexo Figs. S4, S5 e S6). Quanto maior o tempo até a extinção da população dos parasitoides especialistas, menores foram as taxas de ocupação dos parasitoides generalistas. As taxas de encontro entre as espécies parasitoides nos *patches* destas paisagens foi baixa (Fig. 9).

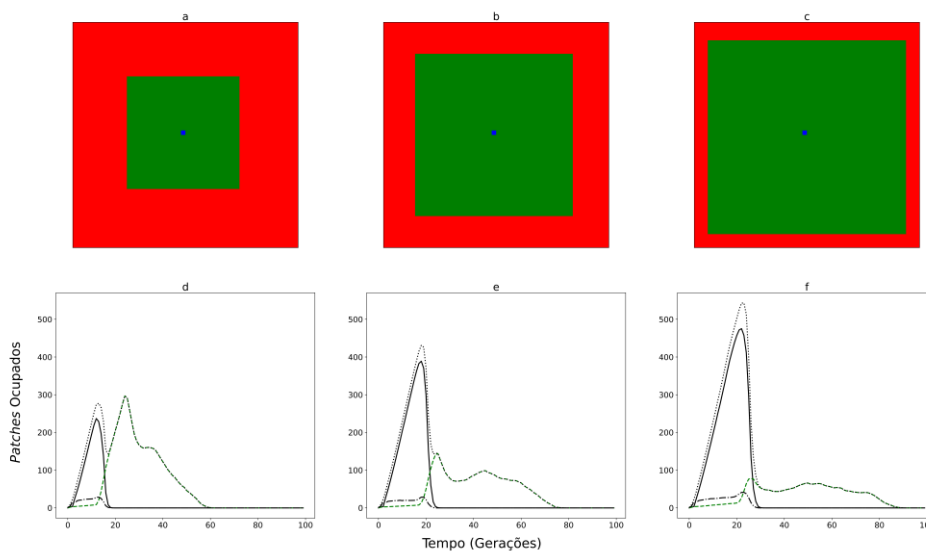


Figura 9. Média de patches da paisagem ocupados (total de 2.500 patches) por *Cotesia flavipes* (linha contínua preta), por *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde), por *C. flavipes* + *T. howardi* (linha tracejada-pontilhada preta) e ocupação total de parasitoides (linha pontilhada preta) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

Nos cenários em que os hospedeiros estavam distribuídos em blocos, os parasitoides especialistas dominaram a paisagem quando a praga é o hospedeiro mais abundante na paisagem. Entretanto, sua ocupação foi reduzida e o parasitoide generalista

passou a ser dominante quando os hospedeiros alternativos estavam em maioria na paisagem (Fig. 10). A quantidade de *patches* com a presença de ambas as espécies parasitoides foi menor e não foi influenciada pela variação de ocupação das espécies hospedeiras (Fig. 10).

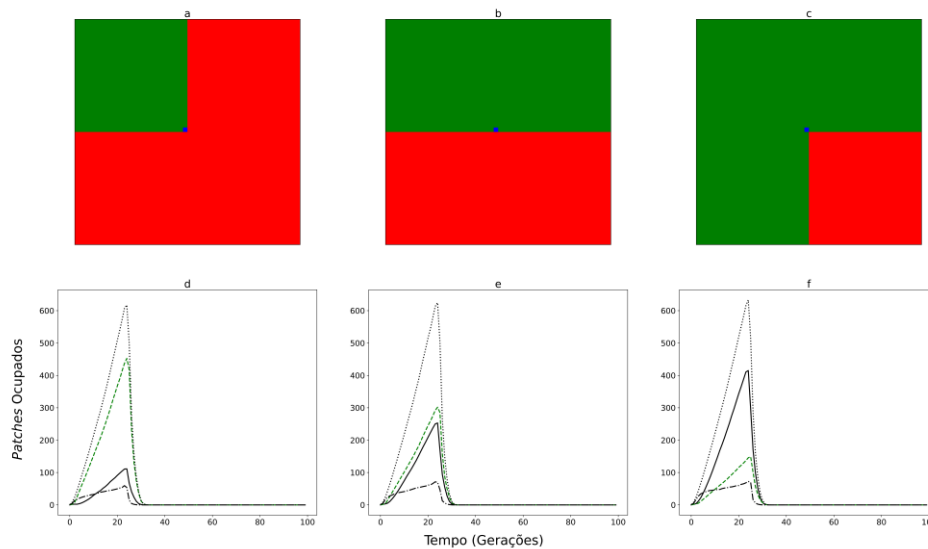


Figura 10. Média de patches da paisagem ocupados (total de 2.500 patches) por *Cotesia flavipes* (linha contínua preta), por *Tetrastichus howardi* (linha tracejada verde), por *C. flavipes* + *T. howardi* (linha tracejada-pontilhada preta) e ocupação total de parasitoides (linha pontilhada preta) ao longo do tempo, no total de 100 simulações. Em (a) e (d) *D. saccharalis* ocupa 25% da paisagem e o hospedeiro alternativo ocupa 75%; em (b) e (e) ambas as espécies hospedeiras 50% da paisagem e em (c) e (f) *D. saccharalis* ocupa 75% da paisagem e os hospedeiros alternativos ocupam 25% da paisagem. Em (a) e (b) as áreas verdes e vermelhas representam, respectivamente, *patches* da paisagem com 100 hospedeiros-alvo e 100 hospedeiros alternativos, enquanto as áreas azuis representam o *patch* com a liberação de 5 *C. flavipes* + 5 *T. howardi*.

4. Discussão

O uso de modelos matemáticos e simulações computacionais parametrizados com dados biológicos pode ser uma importante ferramenta analítica para auxiliar na avaliação do uso de parasitoides que exibem diferentes comportamento de forrageio (i.e., generalista e especialista) em programas de controle biológico, principalmente diante da dificuldade de amostragem e identificação dos locais com infestação da praga e da dificuldade em se estudar as interações e movimento dos organismos em campo (Dinardo-Miranda et al. 2011).

Os resultados encontrados nas simulações mostraram que a presença de hospedeiros alternativos na paisagem elevou as taxas de parasitismo das espécies

parasitoides sobre a praga. Quando dois hospedeiros que não competem diretamente entre si compartilham um parasitoide comum, o aumento da densidade populacional de uma espécie hospedeira pode levar a redução e até a extinção da outra espécie hospedeira (Holt 1977). Isto ocorre devido ao aumento das densidades da prole do parasitoide comum, num processo denominado competição aparente (Holt 1977).

O parasitismo compartilhado impõe problemas para a coexistências das espécies hospedeiras semelhantes aos problemas da competição por exploração. A resposta numérica do parasitoide (reprodução em resposta ao número de hospedeiros parasitados) promove uma interação indireta entre as espécies hospedeiras, espelhando a competição por exploração (Holt 1984). Sistemas de competição aparente não são sustentáveis e, normalmente uma das espécies hospedeiras podem ser extinta do sistema (Bonsall & Hassel 1997). Esta interação indireta pode ser forte o suficiente para afetar cerca de 30% da distribuição artrópodes herbívoros de florestas, com potencial de ser usado em manejo de pragas invasoras e controle biológico (Frost et al. 2016).

A relação indireta entre *D. saccharalis* e os hospedeiros alternativos através da interação com o parasitoide generalista *T. howardi* levou as espécies hospedeiras a sofrerem os efeitos da competição aparente. Os resultados mostram que a espécie praga teve suas taxas de persistência reduzidas na presença dos hospedeiros alternativos, sendo extinta em parte do total de simulações realizadas. Esta redução nas taxas de persistência foi maior principalmente nos cenários em que as densidades de hospedeiros alternativos na paisagem foram maiores do que as densidades da praga devido a rápida diminuição da distribuição e densidade inicial do hospedeiro-praga. Os hospedeiros alternativos, entretanto, não sofreram grandes reduções populacionais, mesmo quando o tamanho populacional de *D. saccharalis* foi maior.

No sistema biológico simulado, não foi definida preferência por hospedeiros nas populações do parasitoide generalista. Assim, o parasitismo sobre as populações de hospedeiro-alvo e hospedeiros alternativo não resultou em diferença no *fitness* de *T. howardi*. Contudo os resultados dos efeitos da competição aparente sobre o sistema biológico estudado poderia ter sido diferente se *T. howardi* apresentasse preferência a algum hospedeiro alternativo, ou se a espécie-praga for altamente resistente a ele (Kaser & Heimpel 2015). Em situações de competições assimétricas diretas, o ganhador é definido pelas combinações de seus parâmetros biológicos (Lawton & Hassel 1981). Da mesma forma, na competição aparente estas relações também podem ser observadas

(Bonsall & Hassel 1997). No sistema estudado, entretanto, ambas as espécies hospedeiras tinham parâmetros biológicos iguais. Assim, o maior impacto da competição aparente sobre as taxas de persistência da população praga pode ser explicado, em parte, pela presença do parasitoide especialista.

A ausência do hospedeiro alternativo intensificou a ocorrência de competição entre *C. flavipes* e *T. howardi* pela espécie praga, resultando na redução da persistência do parasitoide de ataque mais tardio, *T. howardi*. Este resultado é previsto quando parasitoides liberados em associação estabelecem relações antagônicas, o que pode resultar na exclusão de uma das espécies parasitoides introduzidas no controle biológico (Luck & Podoler 1985, Schellhorn et al. 2003, Mills 2006). A coexistência de dois inimigos naturais é possível quando o hospedeiro comum é compartilhado como se fosse dois recursos diferentes, ou seja, quando por exemplo os parasitoides atacam o mesmo hospedeiro em estágios de vida diferentes (Haigh & Smith 1972). Entretanto, muitas vezes a densidade dos estágios susceptíveis a cada espécie parasitoide estão diretamente relacionadas e os diferentes estágios do hospedeiro passam a funcionar como um único recurso (Haigh & Smith 1972). Dessa forma, mesmo as espécies parasitoides atacando o mesmo hospedeiro em diferentes estágios de vida, este recurso não é suficiente para promover a coexistência das espécies (Briggs et al. 1993), o que explica a baixa persistência de *T. howardi* quando não havia hospedeiros alternativos.

Outra forma de obter a coexistência de dois inimigos naturais é através da dispersão (Briggs et al. 1993). Nas simulações, as populações de *T. howardi* em interação com *C. flavipes*, foi capaz de persistir em uma pequena parcela de *patches* nos quais somente *D. saccharalis* estava presente. A coexistência mediada por dispersão também foi observada em interações entre *Cotesia melitaeorum* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae), espécie considerada competidor inferior, e *Hyposoter horticola* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Neste sistema, *C. melitaeorum* escapa da competição com a espécie competidora superior usando uma pequena parcela do hospedeiro comum (van Nouhuys & Punju 2010). Da mesma forma, a partição espacial do recurso permitiu que *T. howardi* se mantivesse na paisagem quando a espécie competia com *C. flavipes* quando havia apenas *D. saccharalis* como recurso na paisagem, reduzindo a frequência de ocorrência da competição interespecífica em relação a competição intraespecífica, dentro da população do competidor superior (Amarasekare 2003). A partição espacial de recursos, no entanto, não foi suficiente para permitir a

coexistência dos parasitoides no sistema biológico até o final das simulações, uma vez que o crescimento das populações parasitoides e o encontro dos parasitoides ao longo dos *patches* da paisagem intensificaram os efeitos da competição intra e interespecífica na paisagem com o decorrer das simulações, resultando na extinção das populações das duas espécies. Os efeitos da competição sobre o tempo de coexistência e persistência das espécies parasitoides, no entanto, foi atenuado com a presença dos hospedeiros alternativos na paisagem. Assim, a possibilidade de troca de hospedeiros, ou *Switching*, pelo parasitoide generalista contribuiu para o aumento de sua persistência na paisagem quando os hospedeiros alternativos estavam presentes, na totalidade da paisagem.

A presença de hospedeiros alternativos dadas em partes na paisagem, entretanto, impactou de diferentes formas as populações de pragas e dos parasitoides generalistas. Quando os hospedeiros alternativos ocupavam a borda da paisagem, o aumento da proporção da borda ocupada levou a redução da persistência da população de *T. howardi*, parasitoide generalista. Isto porque o aumento da proporção da borda ocupada pelos hospedeiros alternativos fez com que *T. howardi* conseguisse alcançar *patches* sem a presença de *C. flavipes* mais rapidamente e assim aumentar sua população, intensificando seu potencial na competição com *C. flavipes* pela praga. Consequentemente, a razão hospedeiro/parasitoide também reduziu mais rapidamente, levando a redução de tempo para a ocorrência do declínio populacional devido à escassez de recursos para manter a prole. Nos casos em que os hospedeiros alternativos estavam distribuídos em blocos na paisagem, as taxas de persistência de *T. howardi* não foram afetadas pela variação da abundância dos hospedeiros alternativos. Isto porque o padrão de distribuição dos hospedeiros em blocos levou à “fuga” de *T. howardi* para os blocos onde apenas os hospedeiros alternativos estavam presentes. Assim, a competição interespecífica com *C. flavipes* por *D. saccharalis* foi evitada.

Em ambientes espacialmente estruturados, competidores podem se dispersar para evitar, ou reduzir, a competição (Amarasekare 2003). O *Switching* possibilita que o parasitoide, ou predador, generalista interaja com espécies não-alvo do controle biológico, como no controle biológico de *Halyomorpha halys* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae) na qual o parasitoide liberado, *Trissolcus japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae), também ataca hospedeiros não-alvos (Hepler et al. 2020), mesmo apresentando preferência pelo hospedeiro-alvo (Botch & Delfosse 2018, Haye et al. 2020). A troca por hospedeiros não-alvos pode causar impactos ambientais como

redução populacional, ou extinção, de espécies nativas ou danos a plantações (Howarth 1991, Hajek et al. 2016). São necessários estudos dos parâmetros biológicos e do sistema biológico em que o parasitoide generalista será liberado para avaliar os riscos específicos de cada caso e considerar os benefícios e malefícios de sua liberação (Loomans 2020).

O uso de apenas parasitoides generalistas ou especialistas pode ser feito dependendo do tipo de controle biológico escolhido. No controle biológico de afídeos os parasitoides generalistas podem assegurar um controle a longo prazo, enquanto os parasitoides especialistas podem resultar em maiores taxas de parasitismo (Raymond et al. 2016). Deve-se considerar quando o uso combinado pode maximizar a eficiência e estabilidade do controle biológico (Raymond et al. 2016). Este uso combinado de parasitoides com diferentes comportamentos de forrageio deve ser feito com cautela, pois pode apresentar impactos negativos no controle biológico em si ou efeitos negativos diretos ou indiretos em espécies não-alvo (Denoth et al. 2002), ataque a outros parasitoides e outras relações antagônicas (Wang & Messing 2004 a,b), sendo necessário estudar em mais detalhe as interações entre as espécies parasitoides e entre os parasitoides e seus hospedeiros.

O local de liberação e o padrão espacial das culturas que fazem parte da paisagem agrícola influenciaram a distribuição das espécies parasitoides liberadas em associação. Os resultados mostraram que após a liberação, a presença de hospedeiros alternativos na área na qual a praga está presente pode manter o parasitoide generalista na paisagem, aumentando as taxas de parasitismo sobre a praga ou, promover sua dispersão para áreas nas quais somente os hospedeiros alternativos estão presentes, prejudicando a eficácia do controle biológico na cultura alvo. Os resultados, desta forma, mostram a importância de se considerar aspectos bio-ecológicos e estruturais da paisagem no planejamento das estratégias a serem empregadas para o controle biológico de pragas. Entretanto, mais estudos são necessários para entender a respostas das espécies parasitoides generalistas a estes fatores, tais como a inclusão da preferência por hospedeiro (Rodrigues et al. 2019, Alvarenga 2020, Palombo 2021), que pode afetar diretamente a capacidade de troca (*Switching*) e seu comportamento dos parasitoides em campo.

5. Conclusões

- A presença de hospedeiros alternativos na paisagem dissipou os efeitos da competição entre as espécies parasitoides, permitindo que *C. flavipes* e *T. howardi* compartilhassem os mesmos *patches* com a presença dos dois hospedeiros.
- A distribuição e abundância dos hospedeiros alternativos afetaram as taxas de encontro entre os parasitoides.
- Quando os hospedeiros alternativos estão distribuídos em blocos na paisagem, o parasitoide generalista *T. howardi* tende a dispersar e permanecer nas áreas nas quais estão presentes os hospedeiros alternativos, evitando a competição com *C. flavipes* pelo hospedeiro comum (praga), “escapando” da área com *D. saccharalis*.
- Quando os hospedeiros alternativos estão nas bordas dos hectares, a competição entre as espécies parasitoides é maior, tendo maior impacto sobre a população de *T. howardi* (parasitoide generalista) até o momento em que a espécie encontra as áreas com a presença dos hospedeiros alternativos. Isto leva ao aumento populacional, resultando na extinção das populações do parasitoide especialista da paisagem. O subsequente e rápido crescimento populacional, entretanto, leva à posterior extinção do parasitoide generalista devido a redução da razão hospedeiro/parasitoide na paisagem.

6. Referências Bibliográficas

Alvarenga, T. M. (2020). Hospedeiros alternativos para a criação em massa do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae). 2020. 25 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Amarasekare, P. (2003). Competitive coexistence in spatially-structured environments: a synthesis. *Ecology Letters* v. 6, 1109–1122.

Barbosa, R. H. et al. (2019). *Tetrastichus howardi* density, and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. *Neotropical Entomology*, v. 48, n. 2, p. 323-331.

Bonsall, M. B. & Hassell, M. P. (1999). Parasitoid-mediated effects: apparent competition and the persistence of host-parasitoid assemblages. *Researches on Population Ecology*, v. 41, n. 1, 59-68.

Bonsall, M. B., & Hassell, M. P. (1997). Apparent competition structures ecological assemblages. *Nature*, v. 388, 371-373.

Botch, P. S., & Delfosse, E. S. (2018). Host-acceptance behavior of *Trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae) reared on the invasive *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae) and nontarget species. *Environmental Entomology*, v. 47, n.2, 403-411.

Briggs, C. J., Nisbet, R. M., & Murdoch, W. W. (1993). Coexistence of competing parasitoid species on a host with a variable life cycle. *Theoretical Population Biology*, v. 44, n. 3, 341-373.

Broadley, H. J. et al. (2019). Recruitment of native parasitic wasps to populations of the invasive winter moth in the northeastern United States. *Biological Invasions*, v. 21, n. 9, p. 2871-2890.

Caixeta, D. F. (2010). Dispersão de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius)(Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/91389>>.

Cancino, J. et al (2012) Discrimination by *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) of hosts previously attacked by conspecifics or by the larval parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol Science and Technology*, v. 22, n. 8, p. 899-914.

Cancino, J. et al. (2014). Parasitism by *Coptera haywardi* and *Diachasmimorpha longicaudata* on *Anastrepha* flies with different fruits under laboratory and field cage conditions. *BioControl*, v. 59, n. 3, p. 287–295.

Costa, D. P. (2013). Interações biológicas entre *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) e *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: braconidae) no parasitismo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae) em cana-de-açúcar. 2013. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

Cusumano, A.; Peri, E.; Colazza, S. (2016). Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Current opinion in insect science*, v. 14, p. 12-16.

Denoth, M.; Frid, L.; Myers, J. H. (2002). Multiple agents in biological control: Improving the odds? *Biological Control*, v. 24, n. 1, p. 20–30.

Dinardo-Miranda, L. L. et al (2014). Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. *Bragantia*, v. 73, n. 2, p. 163-170.

Dinardo-Miranda, L. L.; Fracasso, J. V.; Perecin, D. (2011). Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. *Bragantia*, v. 70, n. 3, p. 577-585.

Frost, C. M. et al. (2016). Apparent competition drives community-wide parasitism rates and changes in host abundance across ecosystem boundaries. *Nature communications*, v. 7, n. 1, 1-12.

Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press.

Godfray, H. C. J; Waage J. K. (1991). Predictive modelling in biological control: the mango mealy bug (*Rastrococcus invadens*) and its parasitoids. *J Appl Ecol* v. 28, 434–453.

González, J. F. Á. et al (2007). Interacción entre *Lixophaga diatraeae* (Townsend) (Diptera: Tachinidae) y *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoides de *Diatraea saccharalis* (Fab.) en Cuba. Parte I. *Centro Agrícola*, v. 34, n. 3, p. 69-73.

Gripenberg, S. et al. (2011). A novel parasitoid and a declining butterfly: cause or coincidence?. *Ecological Entomology*, v. 36, n. 3, p. 271-281.

Haigh, J., & Smith, J. M. (1972). Can there be more predators than prey?. *Theoretical Population Biology*, v. 3, n. 3, 290-299.

Hajek, A. E. et al. (2016). Exotic biological control agents: a solution or contribution to arthropod invasions?. *Biological invasions*, v. 18, n. 4, 953-969.

Haye, T. et al. (2020). Fundamental host range of *Trissolcus japonicus* in Europe. *Journal of Pest Science*, v. 93, n. 1, 171-182.

Hepler, J. R. et al. (2020). Hidden host mortality from an introduced parasitoid: Conventional and molecular evaluation of non-target risk. *Insects*, v. 11, n. 11, 822.

Herlihy, M. V.; Talamas, E. J.; Weber, D. C. (2016). Attack and success of native and exotic parasitoids on eggs of *Halyomorpha halys* in three Maryland habitats. *PLoS One*, v. 11, n. 3.

Holling, C. S. (1959). Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *The Canadian Entomologist*, 91(7), 385-398.

Holt, R. D. (1977). Predation, apparent competition, and the structure of prey communities. *Theoretical Population Biology*, v. 12, n. 2, 197-229.

Holt, R. D. (1984). Spatial heterogeneity, indirect interactions, and the coexistence of prey species. *The American Naturalist*, v. 124, n. 3, 377-406.

Howarth, F. G. (1991). Environmental impacts of classical biological control. *Annual Review of Entomology*, v. 36, n. 1, 485-509.

IBGE (2022) Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 25: 127. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 29 de Março de 2022.

Ives, A. R., Cardinale, B. J., Snyder, W. E. (2005). A synthesis of subdisciplines: predator-prey interactions, and biodiversity and ecosystem functioning. *Ecol Lett* 8(1):102–116

Kaser, J. M., & Heimpel, G. E. (2015). Linking risk and efficacy in biological control host–parasitoid models. *Biological Control*, v. 90, 49-60.

Kfir, R., Gouws, J., & Moore, S. D. (1993). Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff)(Hymenoptera: Eulophidae): a facultative hyperparasitoid of stem borers. *Biocontrol Science and Technology*, v. 3, n. 2, 149-159.

Lawton, J. H. & Hassell, M. P. (1981). Asymmetrical competition in insects. *Nature* v. 289, 793–795.

Loomans, A. J. (2021). Every generalist biological control agent requires a special risk assessment. *BioControl*, v. 66, n. 1, 23-35.

Luck, R. F. & Podoler, H. (1985). Competitive exclusion of *Aphytis lingnanensis* by a *Aphytis melinus* potential role of host size. *Ecology* v. 66: 904_913.

May, R. M., & Hassell, M. P. (1981). The dynamics of multiparasitoid-host interactions. *The American Naturalist*, v. 117, n. 3, 234-261.

Mills, N. J. (2006). Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple introductions in biological control. In: Brodeur, J. and Boivin, G. (eds), *Trophic and guild interactions in biological control*. Springer, pp. 191_220.

Montoya, P. et al (2000). Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, v. 18, n. 3, p. 216-224.

Montoya, P., Gálvez, C., Díaz-Fleischer, F. (2019). Host availability affects the interaction between pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) and larval-pupal parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of Entomological Research*, v. 109, n. 1, p. 15–23.

Moore, S. D.; Kfir, R. (1995). Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae). *Entomophaga*, v. 40, n. 1, p. 69-76.

Murdoch, W. W. (1969). Switching in general predators: experiments on predator specificity and stability of prey populations. *Ecological monographs*, v. 39, n. 4, p. 335-354.

Oliveira, F. G (2013). Multiplicação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: tenebrionidae) e de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: crambidae). 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Faculdades de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

Oliveira, H. N. et al. (2012) Recomendações para obter um controle biológico mais eficaz da broca-da-cana-de-açúcar. Comunicado Técnico (181). Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 8p.

Ovruski, S., A., M., S., J., Wharton, R. (2000). Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. *Integrated Pest Management Reviews*, v. 5, n. 2, 81-107.

Pacheco, H. M. et al. (2018). Food web associations and effect of trophic resources and environmental factors on parasitoids expanding their host range into non-native hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 166, n. 4, p. 277-288.

Palombo, I. L. (2021). Parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em insetos alvo e não alvo. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.

Paranhos, B. J. et al. (2013). Intrinsic competition and competitor-free-space influence the coexistence of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of Neotropical Tephritidae (Diptera). *Environmental Entomology*, v. 42, n. 4, 717-723.

Parra, J. R. P. et al. (2021) Conceitos e evolução do Controle Biológico IN: Parra, J. R. P. et al. (2021). Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Piracicaba: FEALQ. Pp. 17-38.

Pereira, F. F. et al (2015). Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *Florida Entomologist*, v. 98, n. 1, p. 377-380.

Raymond, L., Plantegenest, M., Gagic, V., Navasse, Y., & Lavandero, B. (2016). Aphid parasitoid generalism: development, assessment, and implications for biocontrol. *Journal of Pest Science*, v. 89, n. 1, 7-20.

Reigada, C., Aguiar, M. A. M. D., & Fernandes, L. D. (2014). Demographic processes in spatially structured host-parasitoid systems. In: Ferreira, C., Godoy, W. (eds) *Ecological Modelling Applied to Entomology*. Entomology in Focus, vol 1. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06877-0_2

Rodrigues, A., Pereira, F. F., Barbosa, P. R., Silva-Torres, C. S., & Torres, J. B. (2021). Parasitism behavior of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on larvae and pupae of sugarcane borers. *Journal of Insect Behavior*, 34(3), 71-81. doi: <https://doi.org/10.1007/s10905-021-09770-4>

Rossato, J. A. et al (2013). Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. *Agronomy Journal*, v. 105, n. 3, p. 643-648.

Schellhorn, N. A. et al. (2003). Competition between native and introduced parasitoids of aphids: non-target effects and biological control. *Ecology* 83: 2745_2757.

Sivinski, J. M. et al (1996). Suppression of a Caribbean Fruit Fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera: Tephritidae) Population through Augmented Releases of the parasitoid *diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, v. 6, n. 2, p. 177-185.

Talamas, E. J. et al. (2015). *Trissolcus japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera, Scelionidae) emerges in North America. *Journal of Hymenoptera Research*, v. 43, p. 119.

Van Nouhuys, S., & Punju, E. (2010). Coexistence of competing parasitoids: which is the fugitive and where does it hide?. *Oikos*, v. 119, n. 1, 61-70.

Van Nouhuys, S., & Punju, E. (2010). Coexistence of competing parasitoids: which is the fugitive and where does it hide?. *Oikos*, v. 119, n. 1, 61-70.

Vargas, G. et al (2015). Sugarcane stem borers of the Colombian Cauca River Valley: current pest status, biology, and control. *Florida entomologist*, v. 98, n. 2, p. 728-735.

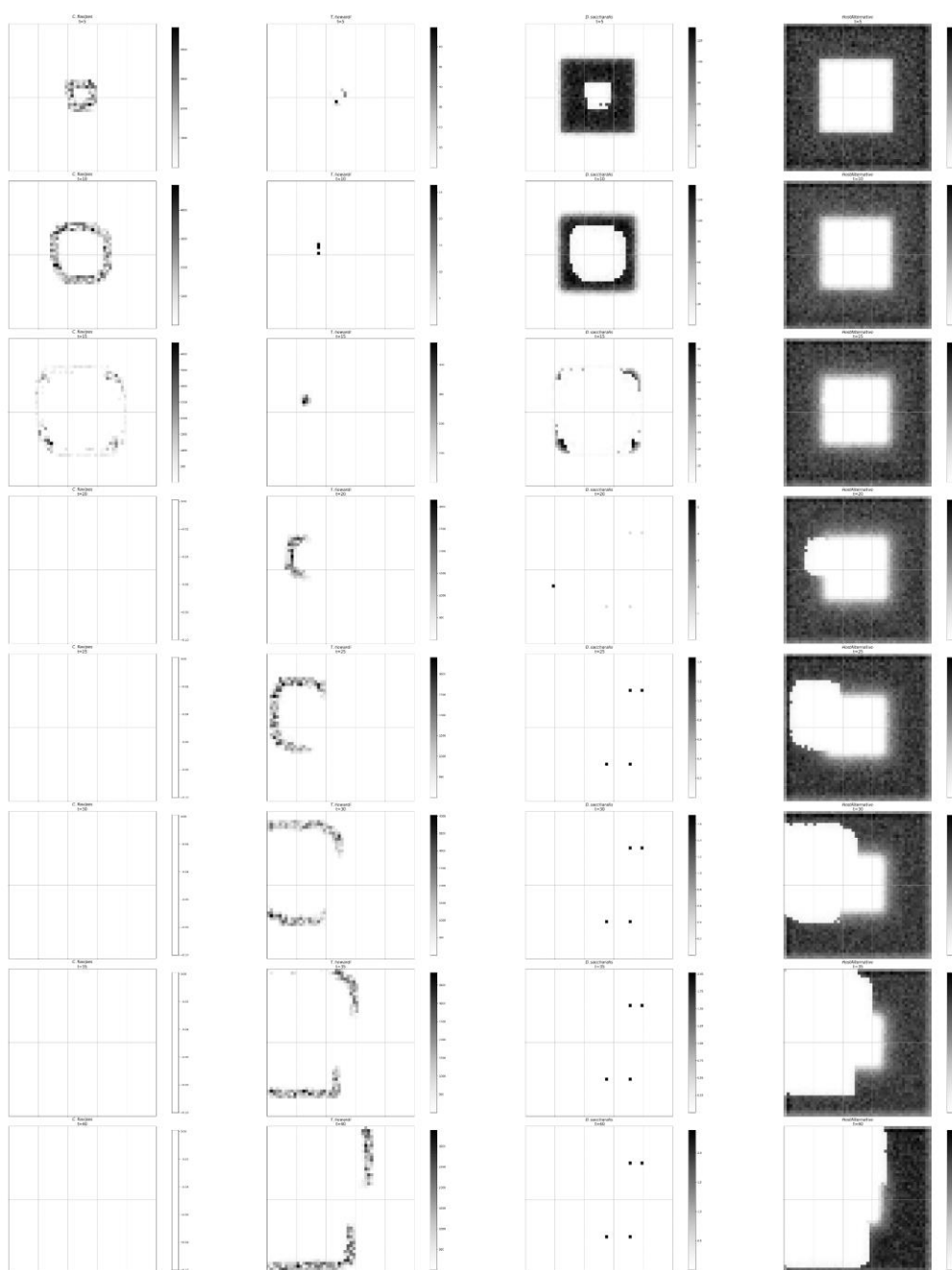
Vet, L. E. M. et al. (1984). Intra-and interspecific host discrimination in *Asobara* (Hymenoptera) larval endo-parasitoids of *Drosophilidae*: comparison between closely related and less closely related species. *Animal Behaviour*, v. 32, n. 2, p. 871–874.

Wang, X. G.; Messing, R. H. (2004a). Potential interactions between pupal and egg or larval-pupal parasitoids of tephritid fruit flies. *Environmental Entomology*, v. 33, p. 1313–1320.

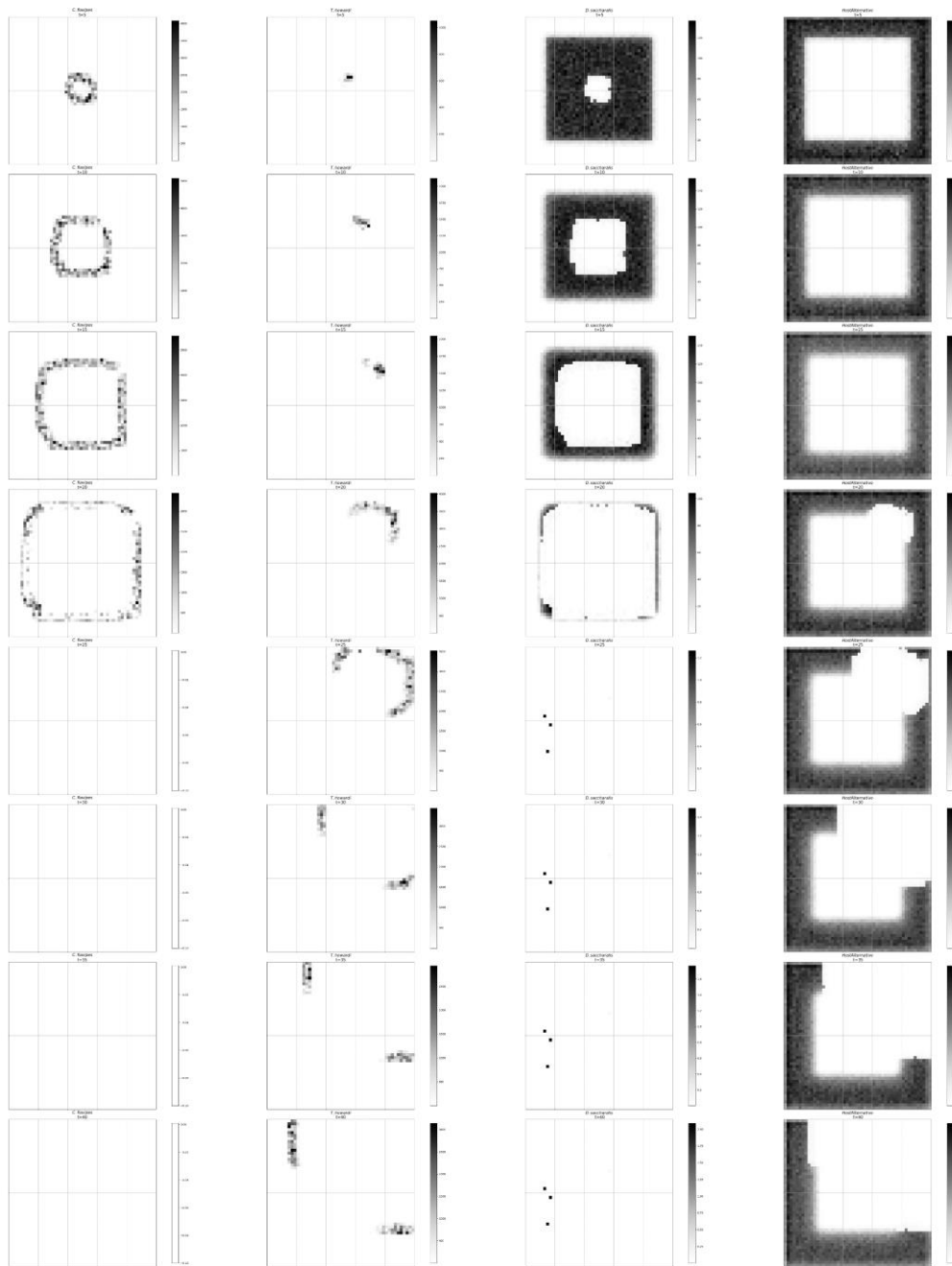
Wang, X. G.; Messing, R. H. (2004b). The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. *Biological Control*, v. 31, p. 227–236.

YANG, J. et al. (2018). Interspecific competition between *Fopius arisanus* and *Psytalia incisi* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, v. 121, n. 1, p. 183–189, 2018.

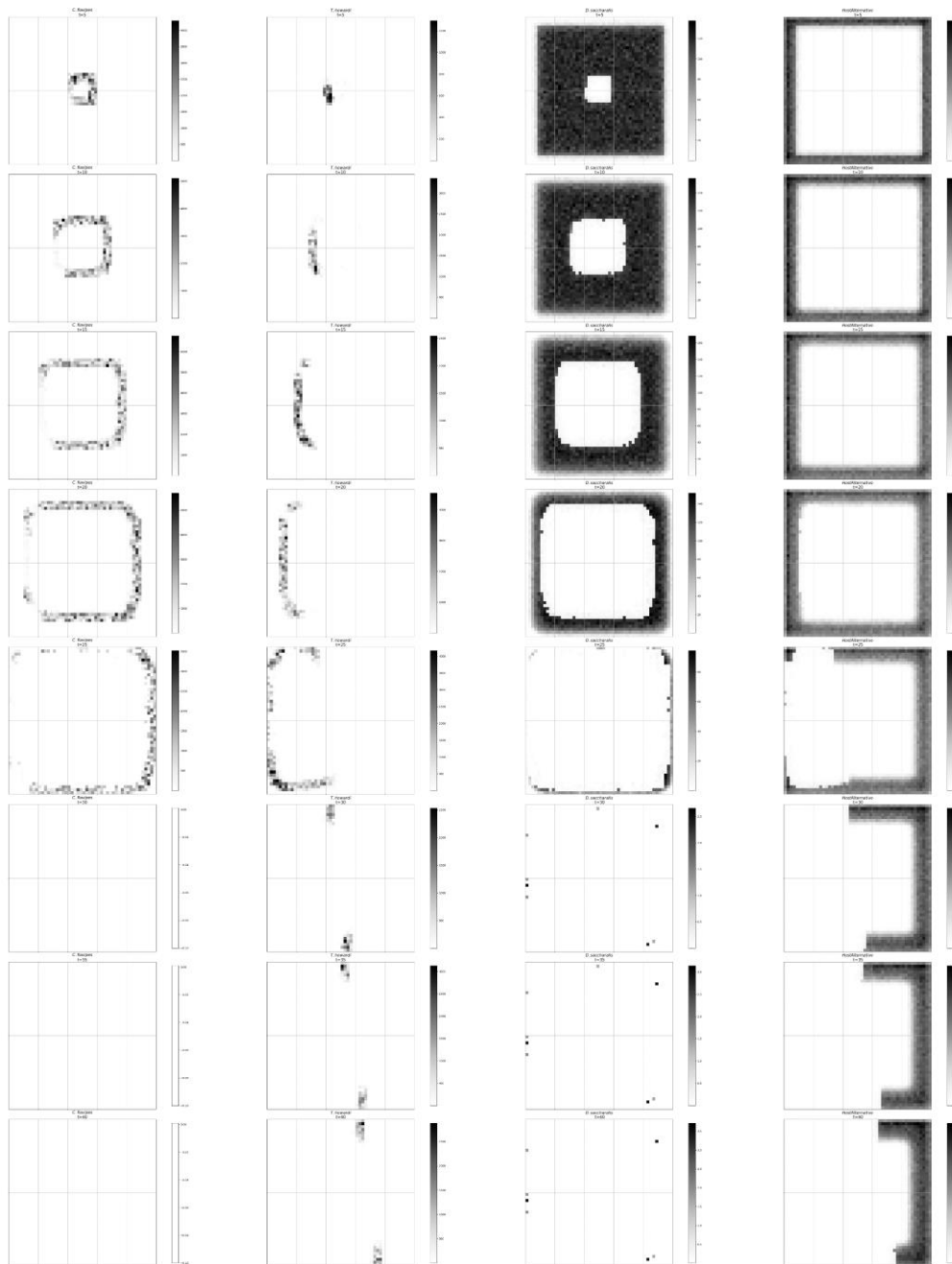
Anexos



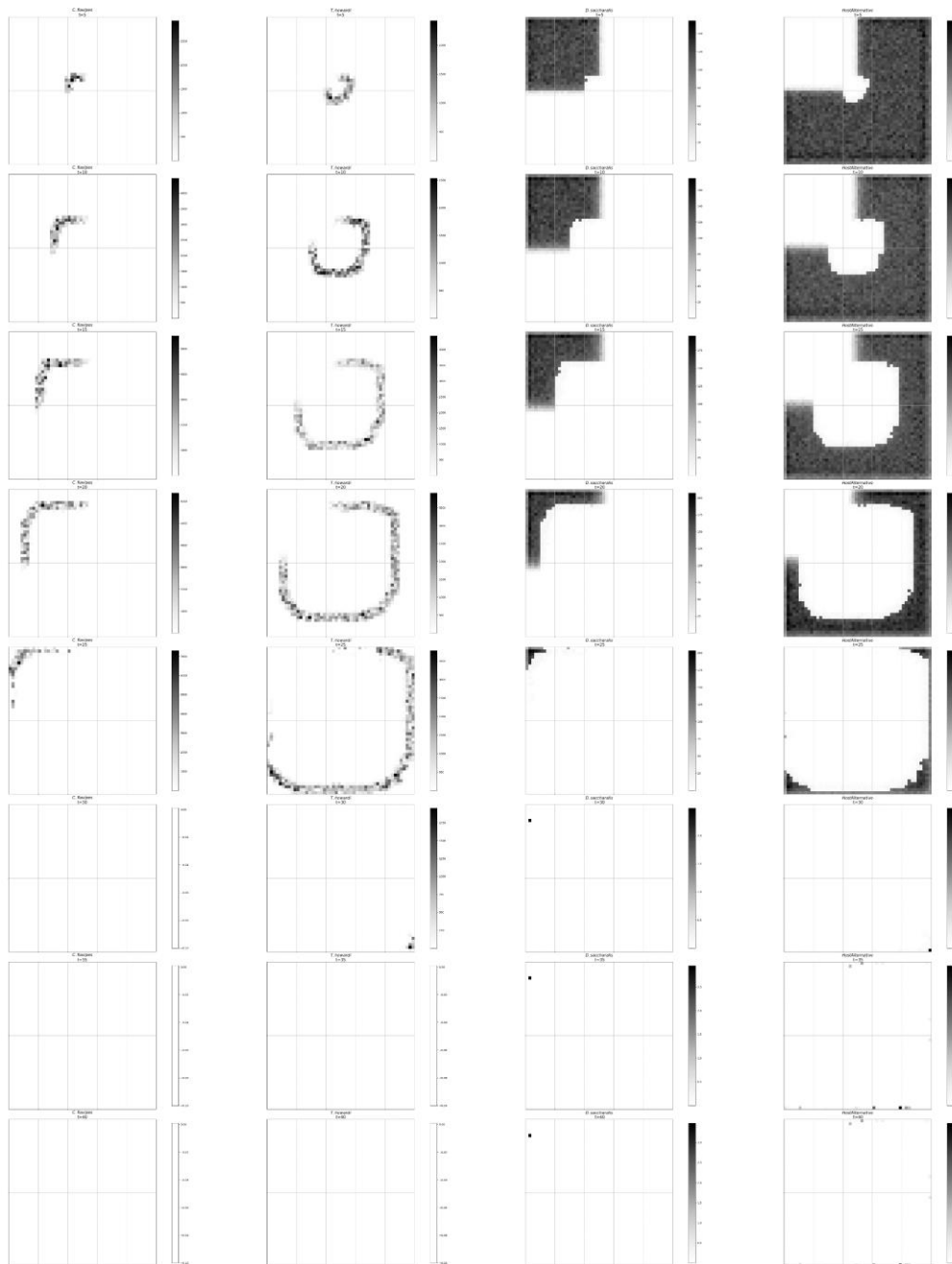
S1- Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 25% da porção central da paisagem e hospedeiros alternativos presentes em 75% nas bordas da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40



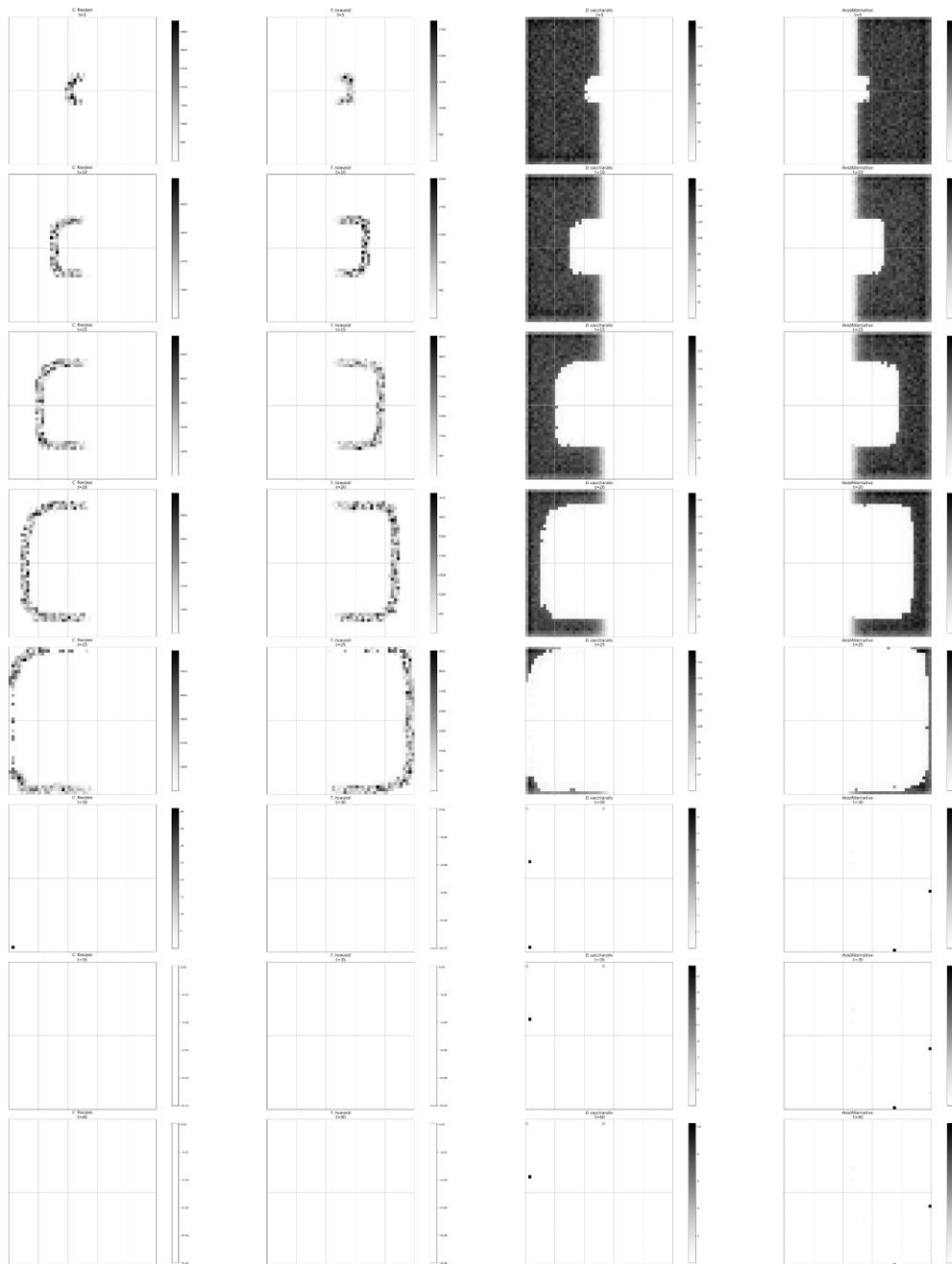
S2 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 50% da porção central da paisagem e hospedeiros alternativos presentes em 50% nas bordas da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.



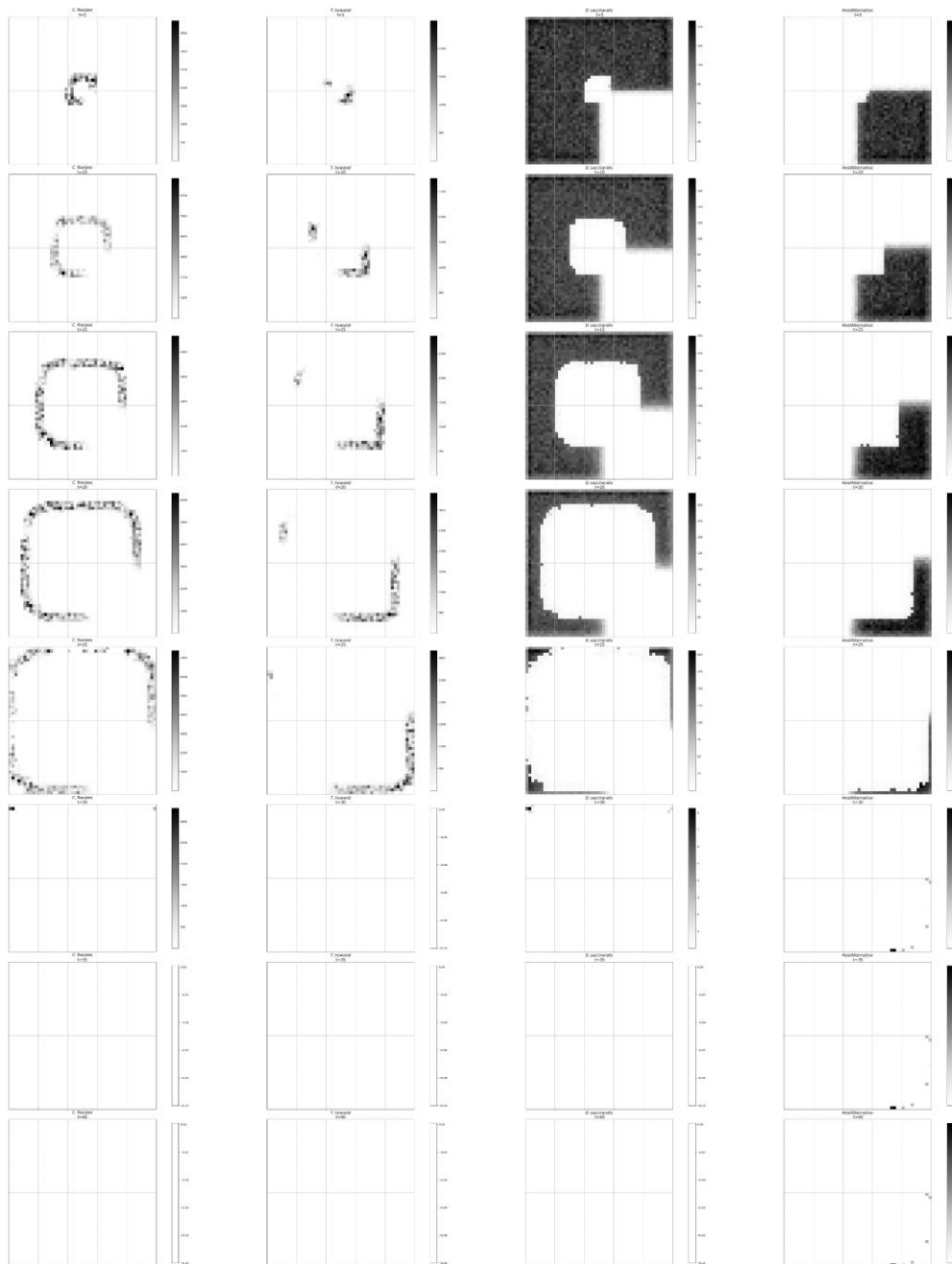
S3 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 75% da porção central da paisagem e hospedeiros alternativos presentes em 25% nas bordas da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40



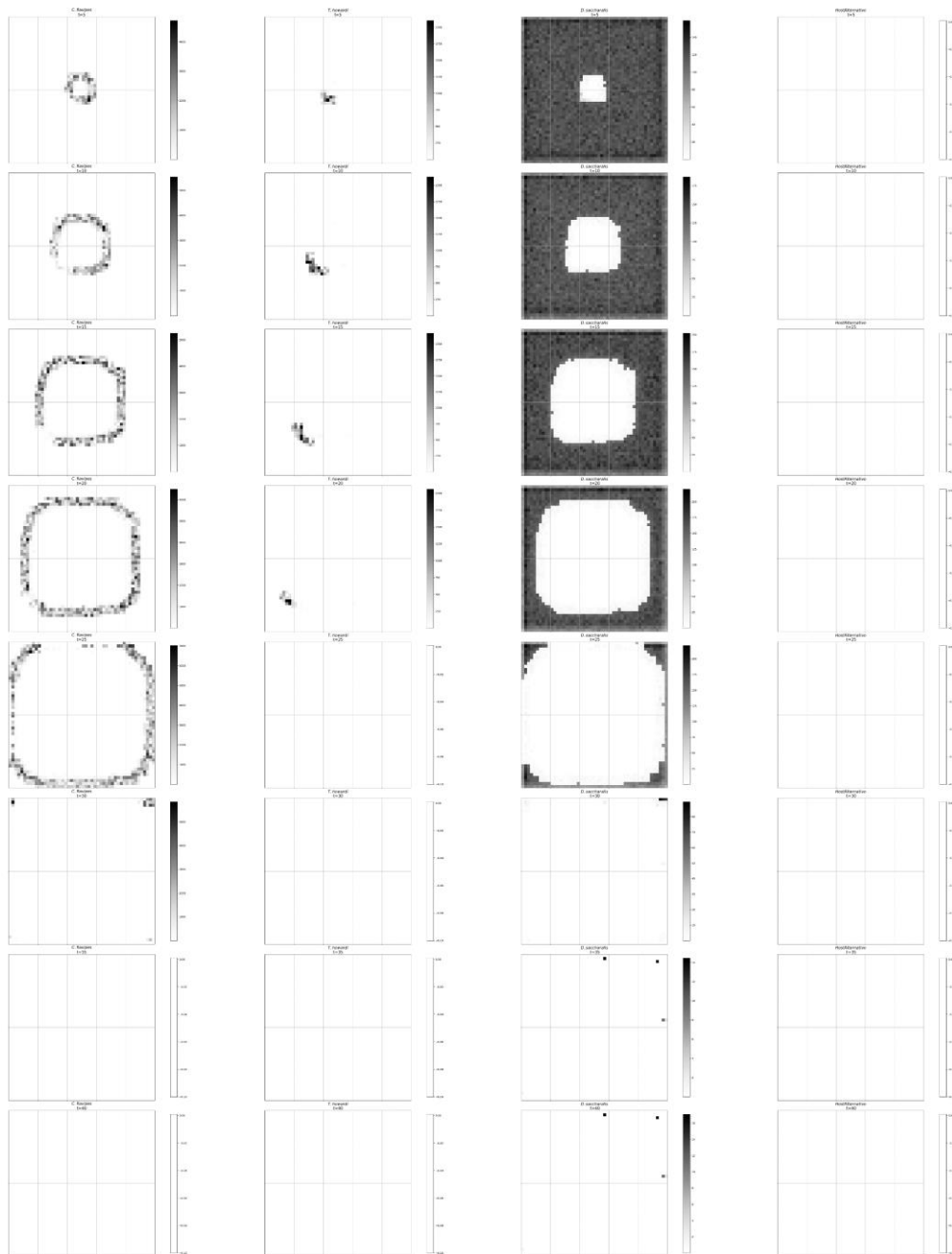
S4 Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas *D. saccharalis* presente em 25% e hospedeiros alternativos presentes em 75% da paisagem. A distribuição das espécies hospedeiras é dada em blocos na área total da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.



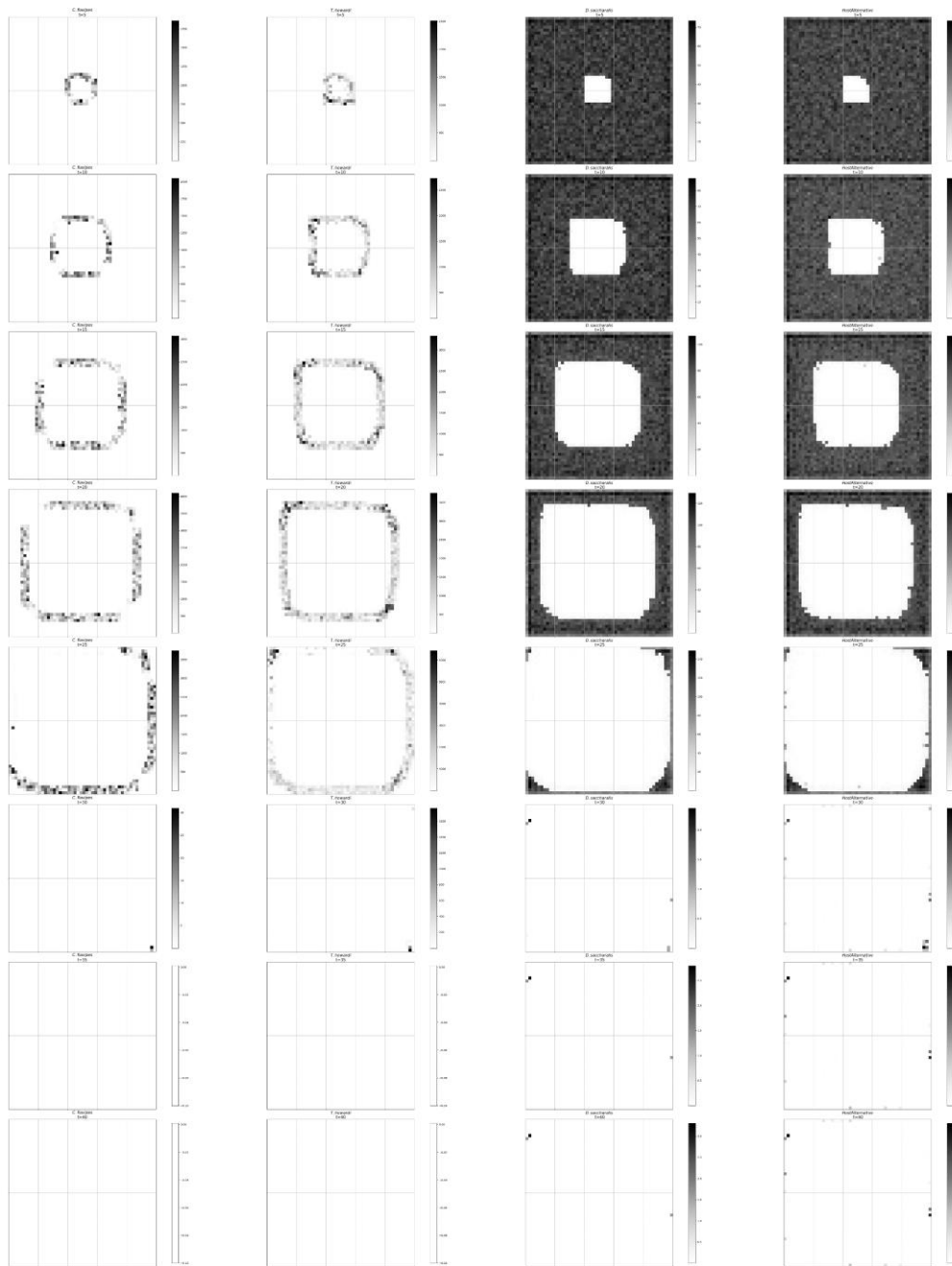
S5 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 50% e hospedeiros alternativos presentes em 50% da paisagem. A distribuição das espécies hospedeiras é dada em blocos na área total da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.



S6 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 75% e hospedeiros alternativos presentes em 25%, ambas espécies distribuídas em blocos na paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.



S7 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* presente em 100% da paisagem e os hospedeiros alternativos ausentes. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.



S8 – Gráfico representativo da ocupação da paisagem por *Cotesia flavipes* (primeira coluna), *Tetrastichus howardi* (segunda coluna), *Diatraea saccharalis* (terceira coluna) e hospedeiros alternativos (quarta coluna) para simulações iniciadas com *D. saccharalis* e os hospedeiros alternativos presentes em 100% da paisagem. A ocupação das espécies é registrada para os tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40.

CONCLUSÕES GERAIS

- O uso de liberações de *C. flavipes* com complementação com *T. howardi* pode melhorar a eficiência do controle biológico da broca-da-cana, *D. saccharalis*, quando comparado com o controle biológico protocolado com liberações isoladas de *C. flavipes*. Isto se deve ao fato de as espécies parasitoides exibirem taxas de ataque e manuseio diferentes, resultando em menor impacto da competição interespecífica quando comparado com o impacto da competição intraespecífica em liberações isoladas de *C. flavipes*.
- O local da liberação dos parasitoides, borda ou interior dos hectares, influenciam nas taxas de encontros entre as espécies parasitoides e, conseqüentemente impactou os efeitos da competição na busca por hospedeiros (praga) pelas espécies parasitoides na paisagem.
- A presença, abundância e a distribuição espacial de hospedeiros alternativos de *T. howardi* no campo pode ser considerado em programas de controle biológico, uma vez que o comportamento generalista e a possibilidade de troca de hospedeiros, alteram os efeitos da sua interação com *C. flavipes* e a interação das espécies parasitoides com *D. saccharalis*. Isto porque a presença de hospedeiros alternativos proporciona maior e mais rápido aumento populacional de *T. howardi*.
- A distribuição de hospedeiros alternativos e praga na paisagem podem alterar o movimento de *T. howardi* na paisagem, levando-o a áreas nas quais a praga está ausente, reduzindo as taxas de parasitismo sobre a população da praga.