



**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**HISTOMORFOMETRIA E EFEITO DE DOSES  
SUBLETAIS DE THIAMETHOXAM NOS  
ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *Chrysoperla  
externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)**

**LAVRAS – MG**

**2012**

**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**HISTOMORFOMETRIA E EFEITO DE DOSES SUBLETAIS DE  
THIAMETHOXAM NOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *Chrysoperla*  
*externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. César Freire Carvalho

**LAVRAS – MG**

**2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Dantas, Priscylla Costa.

Histomorfometria e efeito de doses subletais de thiamethoxam nos órgãos reprodutivos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) / Priscylla Costa Dantas. – Lavras : UFLA, 2012.

95 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: César Freire de Carvalho.

Bibliografia.

1. Crisopídeos. 2. Morfologia. 3. Histologia. 4. Inseticida. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 595.747

**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**HISTOMORFOMETRIA E EFEITO DE DOSES SUBLETAIS DE  
THIAMETHOXAM NOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *Chrysoperla*  
*externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de fevereiro de 2012.

Dra. Brígida Souza

UFLA

Dr. Rogério Antônio Silva

EPAMIG/EcoCentro

Dra. Lenira Viana Costa Santa Cecília

EPAMIG/EcoCentro

Orientador

Dr. César Freire Carvalho

**LAVRAS – MG**

**2012**

*Com todo amor e gratidão, aos meus amados pais,  
Emanuel Dantas e Silvane Costa Dantas,  
a meus irmãos maravilhosos, Emanuel Dantas Jr e Emanuelle Costa Dantas,  
que são as maiores alegrias da minha vida.*

**DEDICO E OFEREÇO**

*Há duas características principais entre o vencedor e o perdedor:  
O perdedor faz o difícil parecer impossível, e o vencedor faz o impossível ser  
difícil, porém realizável  
(Autor desconhecido)*

*Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos.  
Bati na porta da vida e disse-lhe:  
Não tenho medo de vivê-la  
(Augusto Cury)*

*A vontade de Deus nunca irá me levar,  
onde a graça de Deus não possa me proteger*

### **AGRADECIMENTO**

A Deus, pela vida feliz que Ele me proporcionou nesta encarnação.

Aos meus amados pais, meus mais profundos agradecimentos por toda a confiança depositada em mim, apoio, carinho, ajuda financeira e palavras de conforto nas horas difíceis. Aos meus irmãos, Junhão e Manu, simplesmente pela linda existência, tão essencial para a minha vida, e para minha felicidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, César Freire Carvalho, pela oportunidade a mim concedida e pelo privilégio de ter confiado a mim um trabalho com tema novo para a pós-graduação do DEN. Aos professores Geraldo Andrade Carvalho e Brígida Souza, por toda a ajuda nos momentos complicados, pelas ricas sugestões e críticas que só fizeram contribuir positivamente para a melhoria do meu trabalho. Ao professor Julio Louzada, pela boa vontade em disponibilizar o equipamento tão necessário para a realização do trabalho.

Ao professor José Eduardo Serrão, pela disposição em discutir meu projeto e disponibilidade de utilização de seu Laboratório. A Cris e Vinicius, pela amizade sincera, carinho, paciência com minhas irritações, ensinamentos e atividades “extraUFLA” tão necessárias, fazendo com que o caminho se tornasse menos árduo. Aos meus queridos Juracy Lins e Carlos Eduardo Bezerra, que estiveram presentes desde o início, me aconselhando e incentivando com carinho e valorizando meu trabalho.

A DeJane Alves, pela indescritível solidariedade e afeto inestimável que se traduziram em permanente solicitude em todas as fases do projeto. Você foi essencial nesta minha caminhada. Obrigada!

A Vivi e Cristiana pela disponibilidade, agilidade e auxílio, que permitiram a realização deste estudo. Obrigada de coração, sem vocês meu trabalho não teria sido realizado.

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de obter informações sobre a estrutura geral do aparelho reprodutor de *Chrysoperla externa*, o fornecimento de descrições detalhadas que podem ser utilizadas em estudos da família Chrysopidae e a observação de possíveis consequências do uso do inseticida thiamethoxam no aparelho reprodutor deste predador. No primeiro ensaio foi realizada a análise morfométrica e histológica do aparelho reprodutor de adultos virgens e acasalados. Foram realizadas dissecações de 15 machos e 15 fêmeas, sob microscópio estereoscópico. No segundo ensaio, foram avaliados os impactos de doses subletais de thiamethoxam 10 ng i.a/μL e 2 ng i.a/μL, por meio de aplicação tópica, na capacidade de oviposição, com contagem diária de ovos durante 15 dias consecutivos e sobre os órgãos do aparelho reprodutor dos insetos, por meio de dissecações diárias. Não houve diferença significativa entre os órgãos reprodutivos dos machos virgens em relação aos copulados. Foi constatado que o aparelho reprodutor das fêmeas acasaladas amadurece em menor tempo, em relação às fêmeas virgens. O tratamento que ocasionou decréscimo no número de oviposições foi o composto por 10 ng i.a/μL. Os insetos tratados com thiamethoxam apresentaram similaridade nos órgãos reprodutivos em relação àqueles não tratados. A diferença que pode ser observada nos tratamentos foi a presença de uma camada densa de tecido gorduroso, de coloração esbranquiçada, nos insetos tratados.

Palavras-chave: Crisopídeo. Morfologia. Histologia. Inseticida.

### ABSTRACT

This study aimed to obtain information about the general structure of the reproductive system of *Chrysoperla externa*, provide detailed descriptions that can be used in taxonomic studies of Chrysopidae family and investigate possible consequences of the use of thiamethoxam in the reproductive tract of this predator. In the first experiment was performed morphological and histological analyzes of the reproductive tract of adult virgin and mated. Dissection was made in 15 males and 15 females under a stereoscopic microscope. . In the second experiment evaluated the impact of sublethal doses of thiamethoxam (10 ng i.a/ $\mu$ L e 2 ng i.a/ $\mu$ L), by topical application, in the oviposition and the reproductive tract of the insects. The insects from this treatment were dissected daily for 15 consecutive days. There was no significant difference between the reproductive organs of virgin males and mated. It was found that the mated female reproductive tract matures in less time, compared to virgin females. The treatment caused a decrease in oviposition was the first (10 ng i.a/ $\mu$ L). The insects treated with thiamethoxam show similarity in the reproductive organs of individuals in relation to those insects who were not treated. The difference in treatment was the presence of a dense layer of fatty tissue with whitish color, in treated insects.

**Keywords:** Lacewing. Morphology. Histology. Insecticide.

## SUMÁRIO

1	<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
2	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1	Aspectos gerais sobre crisopídeos.....	4
2.2	Importância da morfologia no conhecimento do aparelho reprodutor dos insetos .....	6
2.3	Caracterização morfológica dos crisopídeos .....	9
2.4	Impacto de inseticidas em inimigos naturais.....	11
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>13</b>
	<b>CAPÍTULO 2 Morfo-histologia do aparelho reprodutor de espécimes virgens e copulados de <i>Chrysoperla externa</i>.....</b>	<b>25</b>
1.	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>28</b>
2.	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
2.1	Obtenção dos aparelhos reprodutores .....	30
2.1.1	Adultos virgens.....	30
2.1.2	Adultos acasalados.....	31
2.2	Morfologia e morfometria dos aparelhos reprodutores .....	31
2.3	Preparação das amostras para análise histológica.....	32
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
3.1	Machos .....	33
3.2	Fêmeas .....	44
4	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
	<b>CAPÍTULO 3 Efeito de doses subletais de thiamethoxam no aparelho reprodutor de adultos de <i>Chrysoperla externa</i> .....</b>	<b>62</b>
1	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>64</b>
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>66</b>
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
4	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>75</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura convencional e os métodos de controle de pragas, comumente, provocam impactos negativos, sobretudo nos insetos benéficos e ao meio ambiente, tornando necessária a busca de novas estratégias para solucionar os problemas da agricultura (ALTIERI et al., 2003).

O controle de pragas na agricultura vem sendo realizado de variadas formas. Entre elas, a utilização de inimigos naturais está entre as táticas preconizadas no manejo integrado de pragas (MIP). Parra (2002) ressaltou a importância do controle biológico na regulação das populações de pragas e na preservação dos organismos benéficos, como parasitoides e insetos predadores e polinizadores.

O sucesso de programas de controle biológico depende da produção uniforme de inimigos naturais com elevado desempenho biológico e reprodutivo, e de sua eficiência após a liberação em campo (LEMOS, 2005). Dentre os diversos agentes de controle biológico que atuam na redução populacional de pragas, os crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) (FREITAS, 2002) são considerados inimigos naturais chave em programas de manejo, devido à sua ação predatória, à ampla distribuição geográfica, à fácil criação massal e ao potencial de adaptação a diferentes cultivos (ATHAN et al., 2004; NUNEZ, 1988). Esses predadores alimentam-se de diversos insetos, como pulgões, cochonilhas, cigarrinhas, mosca-branca, tripes, psilídeos, ovos e larvas neonatas de Lepidoptera, Coleoptera e Diptera, assumindo importante papel no controle biológico natural de pragas em diversos cultivos de importância econômica no mundo (FREITAS, 2002).

O gênero *Chrysoperla* Steinmann, 1964, é o mais estudado da família Chrysopidae. No Brasil, são encontradas quatro espécies deste gênero: *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861); *Chrysoperla defreitasi* Brooks, 1994;

*Chrysoperla raimundoi* Freitas e Penny, 2001 e, mais recentemente, uma nova espécie, *Chrysoperla genanigra* Freitas, 2003. Contudo, *C. externa* é a mais comum da região neotropical (FREITAS; PENNY, 2001) e é amplamente estudada (FREITAS, 2001a; PESSOA; FREITAS, 2008; PESSOA et al., 2010). A espécie que mais se destaca é a *C. externa*, pela ocorrência em diversos agroecossistemas e a eficiência na regulação de populações de artrópodes-praga (ALBUQUERQUE et al., 1994; CARVALHO; SOUZA, 2009; COSTA et al., 2003).

Atualmente, o conhecimento acerca de *C. externa* abrange estudos biológicos, capacidade predatória e otimização da criação massal para liberação em programas de controle biológico. Ao longo dos anos, muitos autores contribuíram para o estudo morfológico das estruturas reprodutivas de diversas espécies da família Chrysopidae, como *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) e *Chrysopa septempunctata* Wesmael, 1841 (PRINCIPI, 1949), *Chrysopa oculata* Say, 1839 (HWANG; BICKLEY, 1961) e *Chrysopa perla* (Linnaeus, 1758) (PHILIPPE, 1972). No entanto, não se tem conhecimento a respeito da morfologia interna, de dados anatômicos e histológicos em *C. externa* e das consequências nas estruturas reprodutivas causadas por inseticidas.

O conhecimento detalhado dos órgãos internos de reprodução e a avaliação das modificações ocorridas ao longo do desenvolvimento em função da aplicação de inseticidas constituem importantes ferramentas para prever tendências sobre estratégias relacionadas ao potencial biótico da espécie, do ciclo de vida, do período de dormência, de alterações numéricas, do número de gerações e do período reprodutivo (REDAELLI et al., 1995; TYNDALE-BISCOE, 1984).

Trabalhos de seletividade de diversos inseticidas em *C. externa* foram realizados (CARVALHO et al., 2002; GODOY et al., 2004; MOURA et al., 2009; MOURA et al., 2010), visando gerar subsídios para o manejo integrado de

pragas nas culturas. Entretanto, não há pesquisa sobre o efeito de produtos químicos na morfologia dos órgãos reprodutivos de este inseto.

Entre os inseticidas pesquisados para utilização no MIP está o thiamethoxam, inseticida da segunda geração de neonicotinoides, que representa uma alternativa para o controle de pragas (MAIENFISCH et al., 2001; NAUEN et al., 2003). O thiamethoxam é resultante da molécula de nicotina que vem sendo utilizado como inseticida em diversas culturas, como, por exemplo, citros, café, cana-de-açúcar, arroz e abacaxi, entre outras, atuando de modo sistêmico na planta e podendo ser aplicado via aérea ou terrestre (NONDILLO et al., 2007). No entanto, tem-se observado sua ação também contra insetos não alvos, em agroecossistemas nos quais há a ocorrência de inimigos naturais (DE BORTOLI et al., 2006).

A utilização do thiamethoxam nas culturas tem ocorrido por meio da aplicação dos grânulos nos sulcos. Esse tipo de controle não tem apresentado boa constância de eficiência, já que essa modalidade de aplicação depende da umidade no solo nem sempre disponível pela irregular distribuição das chuvas nas épocas de aplicação (SOUZA; REIS, 1999). Mais recentemente, outras formas de aplicação do thiamethoxam na formulação de grânulos dispersíveis em água (WG) têm sido estudadas, como a aplicação na água de irrigação por gotejamento (SANTINATO et al., 2001; SOUZA et al., 2002) e em esguicho ("drench") (BRANDÃO FILHO et al., 2004; SANCHES et al., 2009; YAMAMOTO et al., 2009).

A aplicação do neonicotinoide thiamethoxam sob forma de "drench" tem se mostrado de fácil execução e promissora para o controle de pragas nas culturas (BENVENGA et al., 2006). Em virtude da eficiência da aplicação do thiamethoxam na formulação WG, em esguicho ("drench"), em pequeno volume de calda no colo das plantas, levanta-se a hipótese de que esses inseticidas,

sistêmicos, penetram na planta vias floema e xilema, também na região do colo e não somente pelas raízes (SOUZA et al., 2007).

De acordo com Happ (1992), o entendimento dos mecanismos reguladores e a morfologia do sistema reprodutor nos insetos submetidos à ação de produtos químicos são de grande importância, pois podem contribuir para a compreensão do crescimento populacional e a implementação de estratégias que podem ser utilizadas em programa de manejo integrado de pragas.

Desta forma, nesta pesquisa, buscou-se obter informações sobre a estrutura geral do aparelho reprodutor de *C. externa*, o fornecimento de descrições detalhadas que podem ser utilizadas em estudos da família Chrysopidae e a observação de possíveis consequências do uso de inseticidas no aparelho reprodutor de *C. externa*, com os seguintes objetivos específicos:

- a) análise morfométrica do aparelho reprodutor de machos e fêmeas de *C. externa*, em adultos virgens e acasalados;
- b) descrição histológica dos principais órgãos do aparelho reprodutor masculino e feminino de *C. externa*;
- c) determinação da  $DL_{50}$  para adultos e avaliação dos impactos de doses subletais do inseticida thiamethoxam sobre o aparelho reprodutor de *C. externa*.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Aspectos gerais sobre crisopídeos**

Há mais de 250 anos os crisopídeos têm sido observados predando artrópodes praga. Muitos pesquisadores, no passado, observaram a grande variedade e quantidade de insetos-praga de pequeno porte, como pulgões,

cochonilhas, tripes, moscas-brancas, ovos e lagartas de lepidópteros e ácaros consumidos por larvas de crisopídeos (KILLINGTON, 1936).

Balduf (1939) afirmou que os insetos da família Chrysopidae foram muito eficazes como agentes de controle biológico, alimentando-se de algumas das mais importantes pragas agrícolas. No entanto, somente a partir do século XX é que se deu início aos estudos sobre seu potencial para controle biológico (STILING, 1985).

De acordo com Ridgway e Murphy (1984) os primeiros estudos da liberação de crisopídeos para o controle de uma praga foram os de Doult e Hagen (1949), que analisaram a utilização de crisopídeos para o controle da cochonilha *Pseudococcus maritimus* (Ehrhorn, 1900), em pomares de pera, na Califórnia.

A partir do final da década de 1970, com o reconhecimento das desvantagens do controle químico, a utilização do controle biológico ganhou maior credibilidade, o que ocasionou aumento da utilização de crisopídeos em liberações em estufa (HASSAN, 1978; TULISALO; TUOVINEN, 1975), ou em campo (HAGLEY, 1989; SHANDS et al., 1972; WANG; NORDLUND, 1994).

O controle biológico assume importância cada vez maior em programas de manejo integrado de pragas e os insetos da família Chrysopidae são reconhecidos como predadores eficazes contra várias espécies de artrópodes nocivos (FREITAS, 2001b)

O sucesso dos crisopídeos como agentes de controle biológico ocasionou abundância de pesquisas avaliando diversos parâmetros biológicos (BEZERRA et al., 2006; CORRALES; CAMPOS, 2004), potencial reprodutivo (ANGELINI; FREITAS, 2006; MACEDO et al., 2003; PESSOA; FREITAS, 2008), estratégias e capacidade de oviposição, adequação de temperaturas e dietas para criação massal (LAVAGNINI; FREITAS, 2008; OLIVEIRA et al., 2010; PESSOA et al., 2010), morfologia da genitália, cabeça e asas para fins

taxonômicos ou filogenéticos (ASPÖK, 2008; FREITAS, 2003; TAUBER et al., 2011) e o impacto de inseticidas nos insetos mantidos em criação massal no laboratório (CARVALHO et al., 2002; CASTILHOS et al., 2011; GODOY et al., 2010; VOGT, et al., 2000). Contudo, não se tem conhecimento a respeito da morfologia interna e da histologia, bem como efeitos de compostos inseticidas no aparelho reprodutor de *C. externa*.

## **2.2 Importância da morfologia no conhecimento do aparelho reprodutor dos insetos**

A morfologia, no sentido biológico, é a ciência que estuda a forma dos organismos vivos e suas adaptações para exercer as funções que lhes são inerentes. A anatomia é a determinação das formas estruturais. A morfologia procura encontrar a razão para a estrutura e compreender a relação de diferentes formas estruturais (SNODGRASS, 1956).

O estudo da morfometria passou por uma importante revolução metodológica, durante os anos 1980, que mostrou a necessidade de um embasamento teórico e filosófico sobre o assunto, criando, assim, uma área de pesquisa na fronteira entre a biologia, a estatística e a geometria. Métodos morfométricos começaram a ser utilizados no início da década de 1990, em morfologia quantitativa, por métodos que unissem o caráter geométrico das formas biológicas e a possibilidade de um tratamento estatístico da variação (MONTEIRO; REIS, 1999).

Estudos morfométricos desempenham, atualmente, importante papel em várias áreas da entomologia, como na descrição de novas espécies (FERREIRA et al., 2006a), estudos com assimetria e estabilidade do desenvolvimento (GARNIER et al., 2006), na distinção entre algumas espécies (SANTOS et al.,

2003) e em estudos comparativos de estruturas morfológicas internas (LEMOS et al., 2001).

O aparelho reprodutor feminino de insetos desempenha variadas funções, destacando-se a produção de ovos, a recepção e o armazenamento de espermatozoides e a coordenação dos processos envolvidos na oviposição (BÜNING, 1994; CHAPMAN, 1998).

De maneira geral, o sistema reprodutor feminino dos insetos é constituído por um par de ovários conectados por dois ovidutos laterais e esses a um oviduto comum, e uma espermateca (SNODGRASS, 1956). Os ovários dos insetos são formados por várias unidades funcionais tubulares, cilíndricas ou afiladas e denominadas ovaríolos, cujo número por ovário varia em relação à ordem e à sua posição taxonômica (CHAPMAN, 1998; SNODGRASS, 1935, 1956).

A estrutura morfológica de cada ovaríolo funcional é representada, basicamente, por três regiões distintas: o filamento terminal, composto por tecido conectivo ou conjuntivo e disposto intimamente à extremidade distal do ovaríolo; o germário ou trofário, o qual se situa na parte apical anterior, logo abaixo do filamento terminal, consistindo de uma massa de células capazes de se diferenciar em oócitos e/ou trofócitos, e o vitelário, no qual os oócitos, circundados pelas células foliculares, passam pelo processo de vitelogênese e aumentam de tamanho, compreendendo a maior porção do ovaríolo (CAPERUCCI; CAMARGO-MATHIAS, 2006; KING; BÜNING, 1985). Nos ovaríolos se desenvolvem os folículos ovarianos e ocorre a formação dos ovócitos maduros (BARKER, 1989; BÜNING, 1994; CAPERUCCI; CAMARGO-MATHIAS, 2006).

Os ovaríolos são divididos em duas categorias: panoístico, quando não existem células nutridoras e meroístico, quando células nutridoras ou trofócitos estão presentes (SNODGRASS, 1935). Ovaríolos meroísticos podem, ainda, ser

divididos em dois grupos: telotrófico, quando as células nutridoras permanecem no germário e politrófico, quando as células nutridoras estão associadas a cada ovócito (CHAPMAN, 1998; SNODGRASS, 1956).

Entre as estruturas reprodutivas há, ainda, a espermateca, órgão de origem ectodérmica, o qual consiste de uma bolsa formada por um epitélio de camada única de células. Este órgão é responsável por armazenar espermatozoides desde o momento em que a fêmea foi inseminada até os ovócitos serem fertilizados. Associada à espermateca existe um par de glândulas (SNODGRASS, 1956), cuja secreção pode estar envolvida na ativação ou na nutrição dos espermatozoides (FLANDERS, 1939; SNODGRASS, 1933).

O aparelho reprodutor masculino dos insetos é constituído de um par de testículos, dois canais ou vasos deferentes, duas vesículas seminais, glândulas acessórias, um canal ejaculador, um órgão copulador (pênis ou fálus) e uma abertura externa do canal ejaculador denominado gonóporo (orifício genital masculino) (AZEVEDO; HENNIG 1983, CHAPMAN, 1998; LARA, 1992; RICHARDS; DAVIES, 1983; SNODGRASS, 1933).

As glândulas acessórias dos machos variam consideravelmente em forma (COUCHE; GILLOTT, 1990; FERREIRA et al., 2004; GILLOTT, 2003) e diversas funções têm sido atribuídas à secreção produzida por estas glândulas, incluindo a formação do espermatóforo e o fornecimento de nutrientes para os espermatozoides, enquanto armazenados em vesículas seminais ou no trato genital feminino (CHEN et al., 1998; GILLOTT, 1996; HAPP, 1984; SNODGRASS, 1956; WOLFNER, 1997). As secreções das glândulas acessórias também contêm substâncias cujo principal componente é de natureza glicoproteica e possuem peptídeos que podem alterar o comportamento reprodutivo feminino após a cópula, estimulando a oviposição e reduzindo da receptividade da fêmea para se acasalar com outros machos (CHEN et al., 1998; HEIFETZ et al., 2001)

A função primária da secreção produzida pela glândula acessória masculina está na formação do espermatóforo, nas espécies que possuem essa estrutura (DAVEY, 1985; FERREIRA et al., 2004). As funções das glândulas acessórias podem ser classificadas como estruturais, bioquímicas e comportamentais. Fisiologicamente, a secreção pode facilitar a transferência de espermatozoides para a espermateca feminina ou, em casos de acasalamento múltiplo, podem inativar os espermatozoides de outros machos que, posteriormente, copulem com a fêmea (HARSHMAN, 1994).

Vários estudos sobre a morfologia do aparelho reprodutor masculino e feminino de alguns insetos têm contribuído para a compreensão da relação de afinidades entre os grupos (BACCETTI, 1987; CRUZ-LANDIM et al., 1980, CRUZ-LANDIM; MORAES 1980). Quicke et al. (1992) sugeriram que, em algumas ordens de insetos, as variações morfológicas nas estruturas reprodutivas nos machos são suficientes para promover um estudo filogenético e taxonômico.

### **2.3 Caracterização morfológica dos crisopídeos**

Os principais caracteres utilizados na identificação de crisopídeos são morfológicos, baseados nas estruturas do inseto adulto, especialmente sistema de nervação das asas, morfologia da cabeça e coloração do tegumento (FREITAS, 2001a). No entanto, muitos estudos baseiam-se, principalmente, em características da genitália de machos e fêmeas. As espécies brasileiras de crisopídeos foram, em sua maioria, descritas por Navás, ao longo de vários anos e as publicações são relatos sumários da morfologia externa (FREITAS, 2002). O reconhecimento dos caracteres taxonômicos é importante, pois representa um melhor conhecimento das espécies que compreendem a família, seu hábitat, distribuição e relação com outros insetos, os quais podem ser utilizados como ponto de partida de pesquisas biológicas e trabalhos aplicados como programas

de controle biológico (VALENCIA et al., 2006). De modo geral, segundo Freitas (2001; 2002), para a identificação das espécies de *Chrysoperla*, deve-se levar em conta a morfologia externa dos adultos.

As espécies de *Chrysoperla* podem ser reconhecidas pelas seguintes características: corpo de coloração verde com faixa dorsal longitudinal amarela; antenas com escapo e pedicelo sem manchas ou listras e flagelo de coloração âmbar na base e fosco no ápice; gena frequentemente pigmentada de vermelho; fronte palha, podendo ter as margens laterais em vermelho difuso; clipeo palha, às vezes com as margens laterais vermelhas; mandíbulas assimétricas; pronoto sem faixas laterais, mas com manchas laterais dispersas cinzas ou marrons; meso e metanoto sem manchas; asas longas e estreitas, sem manchas, pterostigma hialino, célula intramediana curta com laterais curvas; veias verdes, as gradiformes podem ser pretas; abdome sem manchas; ápice do 8+9 esternito do macho com pequena projeção lobular, presença de tignum, acumen estreito, longo ou curto; gonossacus com gonosetae; ausência de gonapsis e arcessus estreito (BARNARD; BROOKS, 1990). O abdome dos insetos é cilíndrico, com manchas nos tergitos (FREITAS, 2002) e apresenta nove segmentos bem definidos, sendo os oito primeiros similares em ambos os sexos e o nono modificado e usado para identificação de espécies, bem como a genitália interna. Nos machos de crisopídeo, esta consiste das seguintes estruturas: gonarcus, mediuncus, arcessus ou pseudopenis, tignum, gonosaccus e gonapsis. Nas fêmeas a estrutura visível é a espermateca, que apresenta formas variadas (NUÑEZ, 1988).

Há evidências, na literatura, sobre dificuldades de estudos de taxonomia e de sistemática dos crisopídeos (ADAMS; PENNY, 1985; BARNARD; BROOKS, 1984; CANARD et al., 1984; FREITAS, 2002; SOUZA, 1999), ressaltando-se a necessidade de avaliações criteriosas desses caracteres e do

desenvolvimento de novas pesquisas que complementem aquelas referentes à morfologia dos adultos.

Muitos pesquisadores têm se dedicado ao estudo do gênero *Chrysoperla* em diferentes partes do mundo, observando-se um número crescente de descrições de novas espécies (ADAMS; PENNY, 1986; BROOKS; BARNARD, 1990; FREITAS; PENNY, 2001; MIRMOAYEDI, 2002; OLAZO; REGUILÓN, 2002; PENNY, 2002; TJEDER, 1966) e contribuíram, ao longo dos anos, para o estudo morfológico das estruturas reprodutivas de diversas espécies da família Chrysopidae, como *Chrysoperla carnea* Stephen e *Chrysopa septempunctata* Wesmael (PRINCIPI, 1949); *Chrysopa oculata* Say (HWANG; BICKLEY, 1961) e *Chrysopa perla* Linnaeus (PHILIPPE, 1972). No entanto, ocorre carência de informações sobre a morfologia interna, dados anatômicos e histológicos em *C. externa*.

As espécies de crisopídeos são muito próximas entre si e observações na morfologia têm revelado variações nas diferentes populações. Já que existe muito conflito na alocação de espécies em gêneros e até em tribos e subfamílias, muitos gêneros estão descritos com base em uma única espécie ou, em alguns casos, em um único espécimen (FREITAS, 2002). Por isso, a determinação do grau de variação se faz necessária para que sejam estabelecidas características com possibilidade de serem utilizadas como caracteres para o reconhecimento e a identificação das espécies (FREITAS; MORALES, 2009).

#### **2.4 Impacto de inseticidas em inimigos naturais**

Apesar dos efeitos negativos do controle químico no meio ambiente, o uso de inseticidas ainda é o método de controle de pragas mais utilizado nas culturas. Uma forma consciente do emprego de tais substâncias é mediante a utilização de inseticidas seletivos (GUEDES et al., 1992; PICANÇO et al.,

1996). Dentre os grupos químicos de inseticidas, os neonicotinóides apresentam alta eficiência no controle de várias pragas (BOINA et al., 2009), mas afetam alguns insetos benéficos, como os do gênero *Chrysoperla* (BUENO; FREITAS, 2003; GODOY et al., 2010; ROCHA, 2008).

Dentro da filosofia do MIP, a conservação e o aumento de inimigos naturais que beneficiem o controle biológico natural são estratégias fundamentais (GLIESSMAN, 2001; REIS et al., 2002). Para o estabelecimento de programas dessa natureza, a utilização de produtos químicos que preservem os inimigos naturais no agroecossistema torna-se necessária (SILVA et al., 2006). Assim, é de suma importância a realização de pesquisas visando avaliar e quantificar os efeitos dos produtos fitossanitários que normalmente são empregados no controle de pragas e, ao mesmo tempo, causam os menores impactos possíveis sobre os agentes de controle natural, para poderem ser utilizados em programas de manejo (FERREIRA et al., 2006).

O impacto de inseticidas em inimigos naturais não está limitado apenas à mortalidade, pois eles podem causar efeitos subletais na fisiologia e no comportamento de organismos que sobrevivem à exposição de inseticidas, dependendo da dose/concentração, e efeito indireto, como diminuição da taxa de oviposição, danos no habitat de nidificação, diminuição do forrageamento e até deformidades morfológicas (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Estudos ecotoxicológicos têm sido recomendados pelos pesquisadores no intuito de avaliar os efeitos letais e subletais de inseticidas sobre insetos não alvos, os quais são expostos a várias concentrações subletais, durante um período determinado (ALLAN, 1981; ALLAN; DANIELS, 1982; DANIELS; GENTILE et al., 1982; BECHMANN, 1994; DAY; KAUSHIK, 1987; STARK; WENNERGREN, 1995 apud STARK et al., 1997). Com base nesses estudos, é possível haver a integração do controle químico e controle biológico nas culturas, por isso é indispensável avaliar o impacto de inseticidas nos inimigos

naturais, inclusive o predador *C. externa*, a fim de criar subsídios para a utilização deste inimigo natural em programas de manejo integrado de pragas.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D. Faunal relations of Amazonian Chrysopidae. In: GEEP, J.; ASPÖCK, H.; HÖLZEL, H. (Ed.). **Recent research in neuropterology**: proceedings of the second international symposium on neuropterology. Graz: [s.n.], 1986. p. 119-124.
- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D. Neuroptera of the Amazon basin. Part II. Introductions and Chrysopini. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 15, n. 3/4, p. 413-79, 1985.
- ALBUQUERQUE, G. S.; TAUBER, C. A.; TAUBER, M. J. *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life history in Central and South America. **Biological Control**, Orlando, v. 4, n. 1, p. 8-13, Mar. 1994.
- ALTIERI, M. A.; SILVA, E. N.; NICHOLLS, C. I. **O papel da diversidade no controle de pragas**. São Paulo: Hollos, 2003. 22 p.
- ANGELINI, R. M.; FREITAS, S. Efeito da escassez de alimento no *Chrysoperla externa* desenvolvimento pós-embrionário e no potencial reprodutivo de (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 65, n. 1, p. 129-137, 2006.
- ASPÖCK, H. Phylogenetic relevance of the genital sclerites of Neuropterida (Insecta: Holometabola). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 97-127, Jan. 2008.
- ATHAN, R.; KAYDAN, B.; OZGOKCE, M. S. Feeding activity and life history characteristics of the generalist predator, *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) at different prey densities. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 77, n. 1, p. 17-21, 2004.
- AZEVEDO, A. C. P.; HENNING, G. J. **Zoologia**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. Prof. Gaúcho, 1983. 318 p.
- BACCETTI, B. M. Spermatozoa and phylogeny in orthopteroid insects. In: BACCETTI, B. M. (Ed.). **Evolutionary biology of orthopteroid insects**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p. 12-112.
- BALDUF, W. V. **The Bionomics of Entomophagous Insects**: Part 3. New York: John S. Swift, 1939. Reprinted 1974 by E.W. Classey, London.

BARNARD, P. C.; BROOKS, S. J. The African lacewing genus *Ceratochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae): a predator on the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 359-71, Oct. 1984.

BARKER, G. M. Functional anatomy of the reproductive system of *Listronotus bonariensis* (Kuschel). **New Zealand Entomologist**, Nelson, v. 12, n. 1, p. 34-42, 1989.

BENVENGA, S. R. et al. Inseticidas da linha Syngenta para o manejo do psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), em citros, *Citrus sinensis* Osbeck. In: HUANGLONGBING GREENING. INTERNATIONAL WORKSHOP, 2006, Ribeirão Preto. **Proceedings...** Ribeirão Preto: Fundecitrus, 2006. v. 1, p. 114.

BEZERRA-SILVA, G. C. D. et al. Aspectos biológicos da fase adulta de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) oriunda de larvas alimentadas com *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 603-610, jul./ago. 2006.

BOINA, D. R. et al. Influence of posttreatment temperatura on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 2, p. 685-691, Apr. 2009.

BRANDÃO FILHO, J. U. T. et al. Controle da mosca branca na cultura do tomateiro, por meio de diferentes inseticidas aplicados via Drench. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 2, p. 489, jul. 2004. Suplemento.

BROOKS, S. J.; BARNARD, P. C. The green lacewings of the world: a generic review (Neuroptera:Chrysopidae). **Bulletin of the British Museum of Natural History: Entomology Series**, London, v. 59, p. 117-286, 1990.

BUENO, A. F.; FREITAS, S. Efeito do hexythiazox e imidacloprid sobre ovos larvas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ecossistema**, Espírito Santo, v. 26, p. 74-77, 2003.

BÜNING, J. The ovary of Ectognatha, the Insecta s.str. In: BÜNING, J. (Ed.). **The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and evolution**. London: Chapman & Hall, 1994. p. 281-299.

- CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk, 1984. 294 p.
- CAPERUCCI, D.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Ultrastructural study of the ovary of the sugarcane spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera). **Micron**, Amsterdam, v. 37, n. 7, p. 633-639, Mar. 2006.
- CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. p. 77-115.
- CARVALHO, G. A. et al. Seletividade de inseticidas a *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 615-621, out./dez. 2002.
- CASTILHOS, R. V. et al. Seletividade de agrotóxicos utilizados em pomares de pêsego a adultos do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 73-80, mar. 2011.
- CHAPMAN, R. F. Reproductive system: female. In: CHAPMAN, R. F. (Ed.). **The Insects: Structure and Function**. Cambridge: Cambridge University, 1998. p. 295-324.
- CHEN, P. S. et al. Male accessory gland peptide that regulates reproductive behavior of female *D. melanogaster*. **Cell**, Cambridge, v. 54, n. 3, p. 291-298, July 1998.
- CORRALES, N.; CAMPOS, M. Populations, longevity, mortality and fecundity of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) from olive orchards with different agricultural management systems. **Chemosphere**, Oxford, v. 57, n. 11, p. 1.613-1.619, Dec. 2004.
- COUCHE, G. A.; GILLOTT, C. Structure of the accessory reproductive glands of the male migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. **Journal of Morphology**, New York, v. 203, n. 2, p. 219-245, Feb. 1990.
- CRUZ-LANDIM, C.; BEIG, D.; MORAES, R. L. M. S. The process of differentiation during spermatogenesis in bees (Hymenoptera, Apidae). **Caryologia**, Firenze, v. 33, n. 1, p. 1-15, Jan./Mar. 1980.

CRUZ-LANDIM, C.; MORAES, R. L. M. S. Observations on the mitochondrial complex and head differentiation during spermiogenesis of the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Lepeletier). **Cytobios**, Cambridge, v. 27, n. 107/108, p. 167-175, 1980.

DAVEY, K. G. The male reproductive tract. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology**. New York: Pergamon Press, 1985. p. 1-14.

DE BORTOLI, S. A. et al. Desenvolvimento e capacidade predatória de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 6, n. 1, p. 145-152, 2006.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 81-106, 2007.

DOUTT, R. L.; HAGEN, K. S. Periodic colonization of *Chrysopa californica* as a possible control of mealybugs. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 42, n. 3, p. 560-561, 1949.

FERREIRA, A. et al. Comparative anatomy of the male reproductive internal organs of 51 species of bees. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 569-576, Sept./Oct. 2004.

FERREIRA, A. J. et al. Seletividade de inseticidas usados na cultura da macieira a duas populações de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 378-384, 2006.

FERREIRA, P. S. F. et al. Seasonal abundance and sexual variation in morphometric traits of *Oxelytrum discicolle* (Brulle 1840) (Coleoptera: Silphidae) in a Brazilian Atlantic Forest. **Biota Neotropical**, Campinas, SP, v. 6, n. 2, p. 1-7, 2006.

FLANDERS, S. E. Environmental control of sex in hymenopterous insects. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 32, n. 1, p. 11-26, Mar. 1939.

FREITAS, S. *Chrysoperla* Steinmann, 1964 (Neuroptera, Chrysopidae): descrição de uma nova espécie do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 385-387, 2003.

FREITAS, S. **Criação de crisopídeos (Bicho-lixeiro) em laboratório**. Jaboticabal: FUNEP, 2001a. 20 p.

FREITAS, S. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P. et al. **Controle biológico no Brasil**: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. cap. 13, p. 209-224.

FREITAS, S. **O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas**. Jaboticabal: Funep, 2001b. 21 p.

FREITAS, S.; MORALES, A. C. Indicadores morfométricos em cabeças de espécies brasileiras de *Chrysoperla* (Neuroptera, Chrysopidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 499-503, dez. 2009.

FREITAS, S.; PENNY, N. The green lace-wings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, San Francisco, v. 52, n. 19, p. 245-398, May/June 2001.

GARNIER, S. et al. Hybridization, developmental stability, and functionality of morphological traits in the ground beetle *Carabus solieri* (Coleoptera: Carabidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 89, n. 1, p. 151-158, 2006.

GILLOTT, C. Male accessory gland secretions: modulations of female reproductive physiology and behaviour. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 48, p. 163-184, Jan. 2003.

GILLOTT, C. Male insect accessory glands: functions and control of secretory activity. **Invertebrate Reproduction & Development**, Rehovot, v. 30, n. 1/3, p. 199-205, 1996.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. Tradução de Maria José Guasinelli. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. 653 p. Título original: *Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture*.

GODOY, M. S. et al. Seletividade de seis inseticidas utilizados em citros a pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 359-364, 2004.

GODOY, M. S. et al. Seletividade fisiológica de inseticidas em duas espécies de crisopídeos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 11, p. 1.253-1.258, 2010.

GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. G.; ZANUNCIO, J. C. Seletividade dos inseticidas deltametrina, fenvalerato e fenitroton para *Podisus connexivus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 339-346, 1992.

HAGLEY, E. A. C. Release of *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) for control of the green apple aphid, *Aphis pomi* DeGeer (Homoptera: Aphididae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 121, n. 4, p. 309-314, 1989.

HAPP, G. M. Maturation of the Male Reproductive System and Its Endocrine Regulation. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 37, p. 303-320, 1992.

HAPP, G. M. Structure and development of male accessory glands in insects. In: KING, R. C.; AKAI, H. (Ed.). **Insect Ultrastructure**. London: Plenum Press, 1984. p. 365-396.

HARSHMAN, L. G.; PROUT, T. Sperm displacement without sperm transfer in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, Lancaster, v. 48, n. 3, p. 758-766, June 1994.

HASSAN, S. A. Releases of *Chrysopa carnea* Steph. To control *Myzus persicae* (Sulzer) on eggplant in small greenhouse plots. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 85, n. 2, p. 118-123, 1978.

HEIFETZ, Y.; TRAM, U.; WOLFNER, M. F. Male contributions to egg production: the role of accessory glands products and sperm in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 268, n. 1.463, p. 175-180, 2001.

HWANG, J. C.; BICKLEY, W. E. The reproductive system of *Chrysopa oculata* (Neuroptera, Chrysopidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 54, n. 3, p. 422-429, May 1961.

KILLINGTON, F. J. **A Monograph of the British Neuroptera**. London: Ray Society, 1936. v. 1.

KING, R. C.; BUNING, J. The origin and functioning of insect oocytes and nurse cells. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**: embryogenesis and reproduction. Oxford: Pergamon Press, 1985. v. 1, p. 37-38.

LARA, F. M. **Princípios de entomologia**. 3. ed. São Paulo: Ícone, 1992. 331 p.

LAVAGNINI, T. C.; FREITAS, S. Fecundidade de *Chrysoperla raimundoi* Freitas & Penny, 2001 (Neuroptera: Chrysopidae) oriundos de larvas criadas com diferentes temperaturas. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 82, n. 3, p. 249-253, mar. 2008.

LEMOS, W. P. **Efeito de diferentes presas no desenvolvimento das estruturas reprodutivas e na reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)**. 2001. 106 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

LEMOS, W. P. **Fitofagia do predador *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) no campo**: aspectos morfo-fisiológicos e populacionais. 2005. 161 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

MACEDO, L. P. M. et al. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento e reprodução de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 91-96, jan./mar. 2003.

MAIENFISCH, P. et al. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, n. 2, p. 165-176, 2001.

MIRMOAYEDI, A. New records of Neuroptera from Iran. **Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae**, Budapest, v. 48, p. 197-202, 2002. Supplement 2.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. dos. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto: Holos, 1999. 198 p.

MOURA, A. P. et al. Selectivity of pesticides used in integrated apple production to the lacewing, *Chrysoperla externa*. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 10, p. 121, 2010.

MOURA, A. P. et al. Toxicidade de pesticidas recomendados na Produção Integrada de Maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen)

(Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 3, p. 395-404, maio/jun. 2009.

NAUEN, R. et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 76, n. 2, p. 55-69, 2003.

NONDILLO, A. et al. Efeitos de inseticidas neonocotinóides sobre a Mosca-das-Frutas Sul-Americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na cultura da videira. **Bioassay**, [Londrina], v. 2, p. 1-9, 2007.

NÚÑEZ, E. Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera, Chrysopidae). **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v. 31, n. 1, p. 76-82, 1988.

OLAZO, E. V. G.; REGUILÓN, C. Uma nueva espécie de *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae) para la Argentina. **Revista de la Sociedad Entomologica Argentina**, Buenos Aires, v. 61, n. 1/2, p. 47-50, 2002.

OLIVEIRA, S. A. de et al. Effect of temperature on the interaction between *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) and *Sipha flava* (Hemiptera: Aphididae). **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 107, n. 2, p. 183-188, 2010.

PARRA, J. R. P. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P. et al. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 143-164.

PENNY, N. D. A guide to the lacewings (Neuroptera) of Costa Rica. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, San Francisco, v. 53, n. 12, p. 161-457, 2002.

PESSOA, L. G. A.; FREITAS, S. Potencial reprodutivo de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) em função do número de indivíduos por unidade de criação. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 52, n. 3, p. 463-466, set. 2008.

PESSOA, L. G. A.; FREITAS, S. de; LOUREIRO, E. S. Adequação de dietas para criação de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen)(Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 723-725, out./dez. 2010.

PHILIPPE, R. Biologic de la reproduction de *Chrysopa perla* (L.) (Neuroptera, Chrysopidae) en fonction de l'alimentation imaginale. **Annales de Zoologie Ecologie Animale**, Paris, v. 4, p. 213-227, 1972.

PICANÇO, M. C. et al. Toxicity of insecticides to *Dione juno juno* (Lepidoptera: Heliconidae) and selectivity to two of its predaceous bugs. **Tropical Science**, London, v. 36, n. 1, p. 51-53, 1996.

PRINCIPI, M. M. Contributi allo studio dei neurotteri italiani. VIII. Morfologia, anatomia e funzionamento degli apparati genitali nel gen. *Chrysopa* Leach. **Bollettino dell'Istituto di Entomologia dell'Universita di Bologna**, Bologna, v. 17, p. 314-362, 1949.

QUICKE, D. L. J. et al. Sperm structure and ultrastructure in the Hymenoptera (Insecta). **Zoologica Scripta**, Stockholm, v. 21, n. 4, p. 381-402, Oct. 1992.

REDAELLI, L. R.; BECKER, M.; ROMANOWSKI, H. P. Changes in the internal reproductive organs and fat body levels as diapause indicators in *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 55, n. 4, p. 737-744, 1995.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 214/215, p. 83-89, 2002.

RICHARDS, O. W.; DAVIES, R. G. **Entomology**. 9. ed. London: Methuen, 1983. 418 p.

RIDGWAY, R. L.; MURPHY, W. L. Biological control in the field. In: CANARD, M.; SEMERIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk, 1984. p. 220-228.

ROCHA, L. C. D. **Seletividade fisiologica de inseticidas utilizados em cultura cafeeira sobre os predadores *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853 (Coleoptera: Coccinellidae)**. 2008. 133 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SANCHES, A. L. et al. Eficiência de inseticidas sistêmicos, aplicados em mudas cítricas, em préplântio, no controle de *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae). **BioAssay**, [Londrina], v. 4, n. 6, p. 1-7, 2009.

SANTINATO, R. et al. Estudo de épocas de aplicação do inseticida thiamethoxam (Actara 250 WG) no controle do bicho-mineiro em cafeeiros irrigados sob gotejo no oeste da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25., 2001, Uberaba. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MAA/Procafé, 2001. p. 289-290.

SANTOS, C. M. et al. Estudo morfométrico do gênero *Panstrongylus* Berg 1879 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 7, p. 939-944, out. 2003.

SHANDS, W. A.; SIMPSON, G. W.; BRUNSON, M. H. Insect predators for controlling aphids on potatoes. 1. In small plots. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 65, n. 3, p. 511-514, June 1972.

SILVA, R. A. et al. Ação de produtos fitossanitários utilizados em cafeeiros sobre pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 8-14, jan./fev. 2006.

SNODGRASS, R. E. **Anatomy of honey bee**. Ithaca: Comstock, 1956. 334 p.

SNODGRASS, R. E. Morphology of the insect abdomen, Pt. II. The genitals ducts and the ovipositor. **Smithsonian Miscellaneous Collections**, Washington, v. 89, n. 8, p. 1-148, 1933.

SNODGRASS, R. E. **Principles of insect morphology**. New York: McGraw-Hill Book, 1935. 667 p.

SOUZA, B. **Estudos morfológicos do ovo e da larva de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1961) (Neuroptera: Chrysopidae) e influência de fatores climáticos sobre a flutuação populacional de adultos em citros**. 1999. 141 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1999.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. Eficiência do inseticida neonicotinóide thiamethoxam 10 GR, aplicado no solo em duas dosagens e épocas de aplicação, no controle do bicho-mineiro das folhas do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25., 1999, Franca. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MAA-SDR/Procafé, 1999. p. 50-52.

SOUZA, J. C. et al. Controle químico da cochonilha-da-raiz, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 29-37, 2007.

SOUZA, J. C. et al. Eficiência de thiamethoxam 250 WG aplicado em diferentes modalidades no controle do bicho-mineiro do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28, 2002, Caxambu, MG. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MAPA/Procafé, 2002. p. 343-345.

STARK, J. D.; WALTHALL, W. K. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 37, n. 1, p. 45-52, June 1997.

STILING, P. D. **An Introduction to Insect Pests and their Control**. London: Macmillan, 1985. 97 p.

TAUBER, C.; ALBUQUERQUE, G.; TAUBER, M. Nomenclatorial changes and redescrptions of three of Navás' *Leucochrysa* (Nodita) species (Neuroptera: Chrysopidae). **ZooKeys**, Sofia, n. 92, p. 9-33, 2011.

TJEDER, B. Neuroptera: Planipennia 5. Family Chrysopidae. **South African Animal Life**, Stockholm, v. 12, p. 228-534, 1966.

TULISALO, U.; TUOVINEN, T. The green lacewing *Chrysopa carnea* Steph. (Neuroptera, Chrysopidae) used to control the green peach aphid *Myzus persicae* Sulz., and the potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* Thomas (Homoptera, Aphididae), on greenhouse green pepper. **Annales Entomologici Fennici**, Helsinki, v. 41, p. 94-102, 1975.

TYNDALE-BISCOE, M. Adaptive significance of brood care of *Copris diversus* Waterhouse (Coleoptera: Scarabaeidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham, v. 74, p. 453-461, 1984.

VALENCIA, L. L. A. et al. Taxonomía y Registros de Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el NEstado de Morelos, México. **Acta Zoológica Mexicana**, México, v. 22, n. 1, p. 17-61, 2006.

VOGT, H. et al. Laboratory method to test effects of plant protection products on larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). In: CANDOLFI, M. P. et al. (Ed.). **Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods**. Reinheim: IOBC/WPRS, 2000. p. 27-44.

WANG, R.; NORDLUND, D. A. Use of *Chrysoperla* spp. (Neuroptera: Chrysopidae) in augmentative release programmes for control of arthropod

pests. **Biocontrol News and Information**, [Amsterdam], v. 15, p. 51N–57N, 1994.

WOLFNER, M. E. Tokens of love: functions and regulation of *Drosophila* male accessory gland products. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 179-192, Mar. 1997.

YAMAMOTO, P. T. et al. Eficácia de inseticidas para o Manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em Citros. **Bioassay**, [São Paulo], v. 4, n. 4, p. 1-9, 2009.

**1º Capítulo**

**Morfo-histologia do aparelho reprodutor de espécimes virgens e copulados  
de *Chrysoperla externa***

## RESUMO

Os insetos da família Chrysopidae são reconhecidos como predadores eficazes contra várias espécies de artrópodes nocivos. A espécie neotropical *Chrysoperla externa* destaca-se como predador de fácil produção massal e pela utilização em programas de controle biológico na América Latina. Os principais caracteres utilizados na identificação de crisopídeos são morfológicos, baseados no inseto adulto, especialmente sistema de nervação das asas e genitália interna dos machos. Entretanto, não se tem conhecimento a respeito de estudos morfológicos dos órgãos que compõem o aparelho reprodutor desses insetos. Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de descrever, ilustrar e mensurar os órgãos internos de reprodução de machos e fêmeas de *C. externa*, comparando espécimes virgens e acasalados. Foi realizada a dissecação de 30 insetos sob microscópio estereoscópico. Com relação à morfometria relacionada ao comprimento e área dos testículos, área da vesícula seminal e das glândulas acessórias, verificou-se que não houve diferenças significativas nos órgãos reprodutivos dos indivíduos virgens em relação aos copulados. O aparelho reprodutor das fêmeas acasaladas amadurece em menor tempo, em relação às virgens. As fêmeas de *C. externa* apresentam modificações morfológicas no aparelho reprodutor, ao longo do processo de maturação sexual.

### ABSTRACT

Insects of the family Chrysopidae are recognized as effective predators against several species of arthropod pests. The neotropical species *Chrysoperla externa* stands out as an excellent predator for mass production and use in biological control programs in Latin America. The main characters in the identification of lacewings are morphological. These characters are based on the structures of the adult insect, especially system venation of the wings and internal genitalia of males. However, there is no knowledge about the morphological studies of the organs that constitute the reproductive system of these insects. The objective of this paper was to describe, illustrate and measure the internal reproductive organs of males and females of *C. externa* compared to virgin and mated specimens. We performed the dissection of 30 insects under a stereoscopic microscope. Regarding the morphometry (length and area of the testicles, seminal vesicle area and area of the accessory glands) showed no significant differences between the reproductive organs of virgin and mated individuals. The reproductive system of mated females matured in less time compared to virgin females. Specimens females *C. externa* showed morphological changes in the reproductive tract during the process of sexual maturation.

## 1 INTRODUÇÃO

Os crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) são inimigos naturais que contribuem para a redução populacional de artrópodes em ambientes naturais, áreas de reflorestamento e diversos sistemas de cultivo. As larvas, como também algumas espécies de adultos desses insetos, são predadoras, alimentando-se de várias espécies de artrópodes (COSTA et al., 2003).

A ocorrência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) em habitats de vegetação rasteira é muito maior em relação aos outros gêneros de crisopídeos (DUELLI, 2001). Esse fenômeno evidencia a adaptação desse grupo aos habitats agrícolas, sobretudo em se tratando das culturas anuais e de porte herbáceo, destacando-se o seu potencial para uso no controle biológico (ALBUQUERQUE et al., 1994). Esta espécie neotropical destaca-se como um predador generalista, que utiliza como presas artrópodes de pequeno porte e cutícula fina, como pulgões, cochonilhas, tripes, moscas-brancas, ovos e lagartas de lepidópteros, ácaros e pequenas aranhas (FREITAS; FERNANDES, 1996), assumindo importante papel no controle biológico na fruticultura, na olericultura, na cotonicultura e na cafeicultura, dentre outros diversos cultivos de importância econômica (FREITAS, 2001).

Os principais caracteres utilizados na identificação de crisopídeos são morfológicos, baseados nas estruturas do inseto adulto, especialmente sistema de nervação das asas, morfologia da cabeça, coloração do tegumento e genitália interna dos machos (FREITAS, 2001). A morfologia da genitália masculina começou a ser utilizada na década de 1980, na classificação dos crisopídeos, sendo incluída como um dos principais caracteres taxonômicos após

constatações da grande variabilidade nas estruturas que compõem esse órgão (CANARD et al., 1984).

Os órgãos do aparelho reprodutor da família Chrysopidae foram descritos por vários pesquisadores, como Stitz (1909), Brückner (1935), Principi (1949), Hwang e Bickley (1961) e Philippe (1972).

Em várias espécies de insetos, como os das ordens orthoptera, hymenoptera e hemiptera (FIORILLO et al., 2008), há uma considerável diversidade em relação ao tamanho das diferentes partes do trato reprodutor masculino, como, por exemplo, os testículos, cujo comprimento e largura são extremamente variados (BRESSAC, 1994; BRESSAC et al., 1994; SNOOK, 1998; JOLY et al., 2003).

O conhecimento acerca de *C. externa* está restrito a estudos biológicos, capacidade predatória e otimização de criação massal em laboratório e aplicação em programas de controle biológico. Ao longo dos anos, muitos pesquisadores contribuíram para o estudo morfológico das estruturas reprodutivas de diversas espécies da família Chrysopidae, como *Chrysoperla carnea* Stephen e *Chrysopa septempunctata* Wesmael (PRINCIPI, 1949), *Chrysopa oculata* Say (HWANG; BICKLEY, 1961) e *Chrysopa perla* Linnaeus (PHILIPPE, 1972). No entanto, ocorre carência de informações sobre a morfologia interna, dados anatômicos e histológicos em *C. externa*.

Tendo em vista a importância dos crisopídeos na regulação natural de artrópodes fitófagos e a carência de conhecimento da sua morfologia reprodutiva, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de descrever, ilustrar e mensurar os órgãos internos de reprodução de machos e fêmeas de *C. externa*, comparando-se espécimes virgens e acasalados, visando fornecer descrições detalhadas que podem ser utilizadas como referência em estudos dessa espécie de crisopídeo.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Os espécimes da geração F3 de *C. externa* utilizados nos experimentos eram provenientes da criação de manutenção existente no Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, onde são mantidos em sala climatizada a  $25\pm 1$  °C, UR de 70% e fotofase de 12 horas. Nessa criação, os adultos são alimentados com lêvedo de cerveja e mel (proporção 1:1) e mantidos em recipientes cilíndricos de PVC de 20 cm de altura x 20 cm de diâmetro, revestidos internamente por papel filtro branco. A parte superior é vedada com filme de PVC laminado e a inferior é apoiada em uma bandeja plástica forrada com papel toalha branco, conforme metodologia sugerida por Freitas (2001).

### **2.1 Obtenção dos aparelhos reprodutores**

#### **2.1.1 Adultos virgens**

Adultos de *C. externa* recém-emergidos foram separados por sexo, sendo machos e fêmeas mantidos individualizados (para que não ocorresse a cópula) em tubos de vidro com fundo chato de 2,5 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura, vedados na parte superior com PVC laminado. Foram alimentados com dieta composta de levedo de cerveja e mel, na proporção 1:1 e a água, servida em um chumaço de algodão umedecido. Os insetos foram dissecados diariamente com auxílio de microtesoura, pincéis finos e pinças em solução fisiológica sob microscópio estereoscópico para a obtenção da descrição do crescimento de seus órgãos reprodutivos.

### **2.1.2 Adultos acasalados**

Em recipientes cilíndricos de PVC de 10 cm de altura x 10 cm de diâmetro, semelhantes àqueles usados para a criação de manutenção e nas mesmas condições descritas, foram acondicionados machos e fêmeas (proporção 1♀: 1♂) recém-emergidos (24 horas), para a ocorrência do acasalamento. Foi mantido um casal por recipiente, até que atingissem maturidade sexual (5 dias) e, posteriormente, foram dissecados, durante o período de 30 dias consecutivos.

Foi realizada a comparação da morfometria do aparelho reprodutor dos insetos enquanto virgens e na fase pós-cópula, com a finalidade de avaliar possíveis variações morfológicas.

### **2.2 Morfologia e morfometria dos aparelhos reprodutores**

O experimento consistiu em dois tratamentos (virgens e acasalados). Foram utilizados 150 machos e 150 fêmeas por tratamento. A dissecação foi realizada sob microscópio estereoscópico, utilizando-se de material próprio para esse tipo de procedimento, como pinças, microtesoura, estiletos e pincéis finos. Os aparelhos reprodutores retirados foram armazenados em tubos de microcentrifugação de 1,5 mL imersos em solução fixadora Zamboni (paraformaldeído 4% e ácido pícrico 0,4% em tampão fosfato) (STEFANINI et al., 1967).

Tanto a contagem do número de ovariolos e ovócitos como a medida da área dos ovários, comprimento dos testículos, área das glândulas acessórias e vesícula seminal foram feitas nos 300 insetos que compunham os dois tratamentos. O comprimento dos ovócitos maduros e imaturos e os números de ovócitos/ovariolo (direito e esquerdo) e de ovariolos/ovário, bem como descrições anatômicas e das características morfológicas dos testículos de *C.*

*externa*, foram quantificados com auxílio do programa Leica Application Suite (version 3.7.0). Para a descrição dos caracteres das genitálias, adotou-se a terminologia de Tjeder (1954, 1956), que nomeou as partes de acordo com a estrutura e não quanto à origem. A terminologia utilizada para caracterizar as estruturas internas foi a de Snodgrass (1935) e Principi (1949).

Para análise estatística, a normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Entretanto, os dados não atenderam à pressuposição de normalidade. Assim, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Em seguida, optou-se por realizar análise descritiva, sendo os dados expressos em box plot. Todas as análises foram realizadas empregando-se o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

### **2.3 Preparação das amostras para análise histológica**

Logo após a dissecação, os ovários foram mergulhados em solução fixadora Zamboni (STEFANINI et al., 1967). Após a fixação, foram desidratados em concentrações crescentes de acetona (1x – 30%, 50%, 70% e 90%, 3x – 100%, 10 min/cada). Na sequência, o material foi infiltrado em solução de inclusão Leica HistoResin® e mantidos à temperatura ambiente, por 48 horas, para a polimerização do substrato e o endurecimento dos blocos.

Foram cortadas secções dos blocos com 5 µm de espessura em ultramicrótomo Leica Ultracut UCT e realizada a montagem de lâminas. Posteriormente, as lâminas foram submetidas à rotina de coloração com hematoxilina e eosina. Após a coloração, os cortes foram rapidamente lavados em água destilada, a fim de se retirar o excesso de corante, para posterior secagem, a 60 °C, por 20 minutos. Os cortes foram analisados em microscópio equipado com câmera fotográfica e as imagens capturadas para posterior análise e descrição dos resultados (LEMOS et al., 2005).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Machos

**Descrição morfológica.** O aparelho reprodutor masculino de *C. externa* está localizado na porção superior, acima das glândulas acessórias, entre o sexto e sétimo segmento abdominal (Figura 1). É constituído por um par de testículos, vasos deferentes, vesículas seminais, glândulas acessórias e ducto ejaculatório (Figuras 2, 6).

Os testículos, tanto dos machos virgens quanto dos acasalados, apresentam-se alongados e torcidos, com formato espiralado, de cor amarelo-brilhante (Figura 2), o mesmo acontecendo em *C. septempunctata* e *C. perla* (PRINCIPI, 1949). Constituição semelhante na estrutura em espiral do testículo foi encontrada em outras espécies de crisopídeos, como *Anisochrysa ventralis* Curtis (PHILIPPE, 1972) e *Ceraeochrysa claveri* Navás (SCUDELER, 2009).



Figura 1. Disposição do aparelho reprodutor de machos de *Chrysoperla externa* entre o 6º e o 7º segmentos abdominais (flecha).

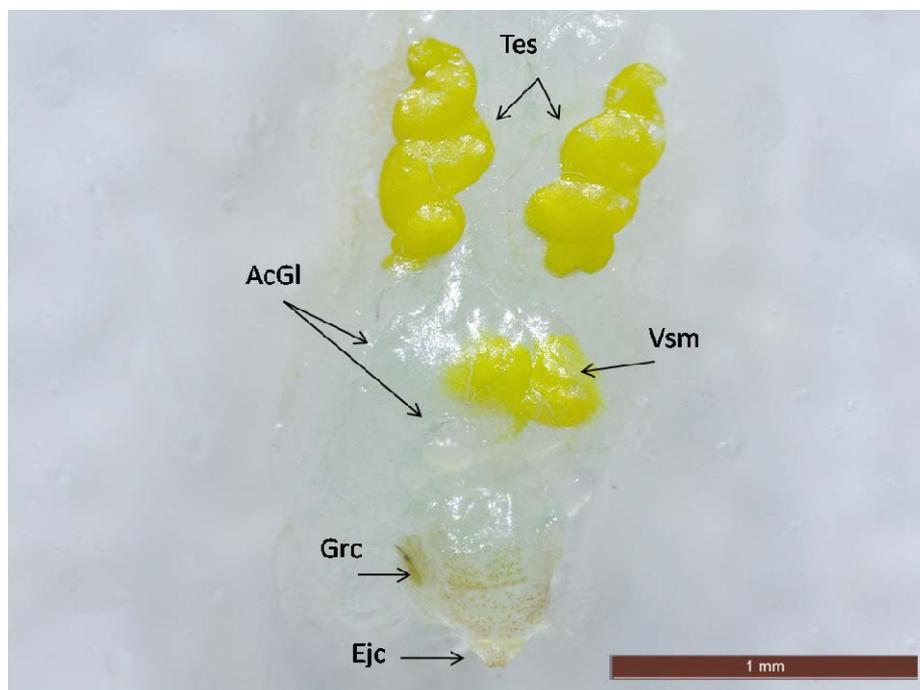


Figura 2. Aparelho reprodutor masculino de *Chrysoperla externa*. AcGl = glândulas acessórias; Ejc = ducto ejaculatório; Grc = gonarcus; Tes = testículos; Vsm = vesícula seminal.

Cada testículo é envolvido completamente por uma bainha peritoneal, revestida por um epitélio folicular. De acordo com Canard et al. (1984), o epitélio folicular tem várias extensões internamente, dividindo o testículo em compartimentos, em que ocorre a maturação das células germinais.

A partir do final dos testículos encontram-se os vasos deferentes, tubos estreitos formados de epitélio muito fino e translúcido, os quais apresentam, na parte distal, uma região dilatada formando a vesícula seminal (Figura 3). Os testículos e a vesícula seminal são recobertos por camadas de tecido gorduroso de coloração esbranquiçada que, segundo Chapman (1998), é formado por uma massa compacta de células presente em toda a extensão do abdome.

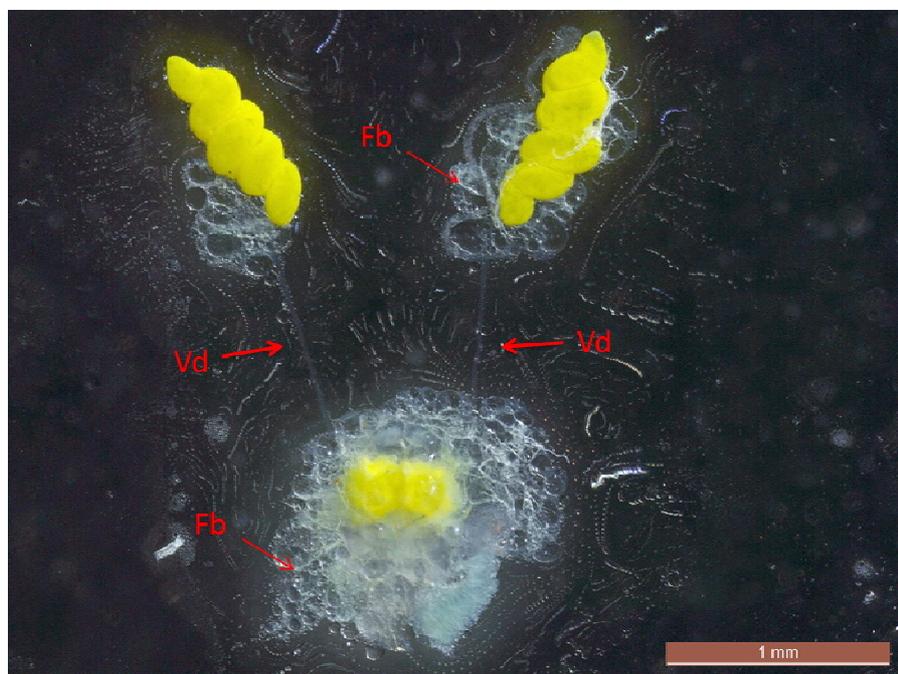


Figura 3. Detalhe dos vasos deferentes do tecido gorduroso presente ao redor dos órgãos reprodutivos. Fb = tecido gorduroso; Vd = Vasos deferentes.

Tjeder (1936, 1954, 1956) encontrou na genitália interna uma estrutura em machos de todas as famílias da ordem Neuroptera; entretanto, seu desenvolvimento é variado. Esta estrutura é denominada “gonarcus” e apresenta-se esclerotizada e de coloração marrom em *C. externa*. Constatou-se que o gonarcus é, geralmente, situado entre o segmento anal e o 9º esternito, abaixo do reto e consiste num arco com um par de projeções laterais voltadas para baixo (Figura 4A, B). Essas projeções constituem o “entoprocessus”. O gonarcus em *C. externa* possui placas laterais amplas, arqueadas, com um par de projeções laterais finas e estreitas e braço lateral robusto (Figura 5).

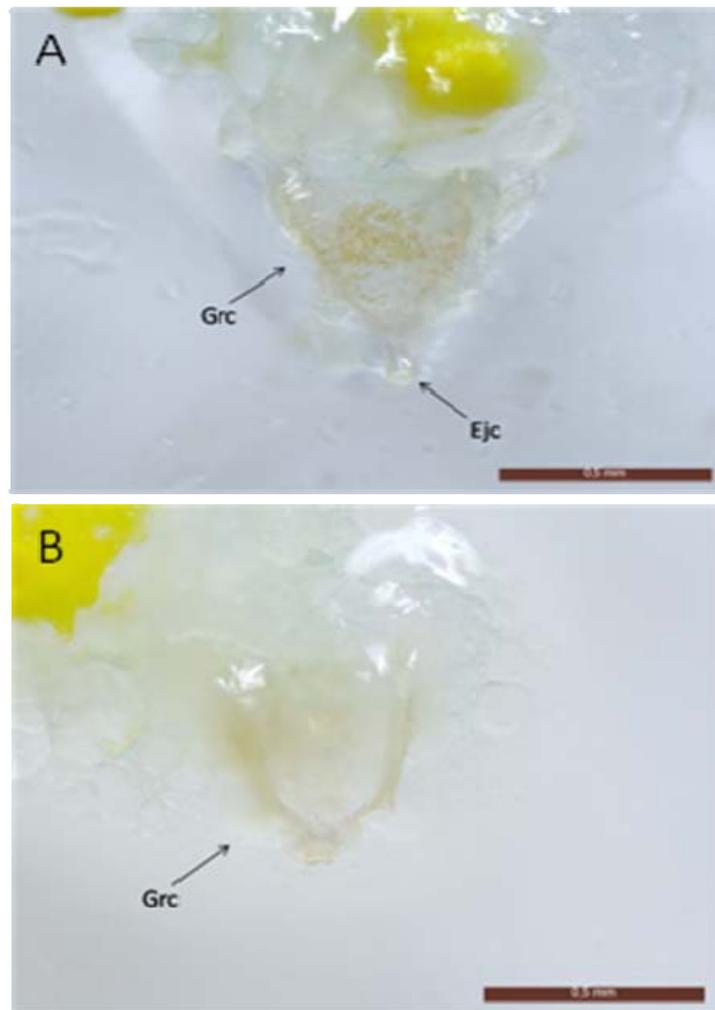


Figura 4. Gonarcus de *Chrysoperla externa*; A= vista ventral, B= vista dorsal. Grc = gonarcus; Ejc = duto ejaculatório.

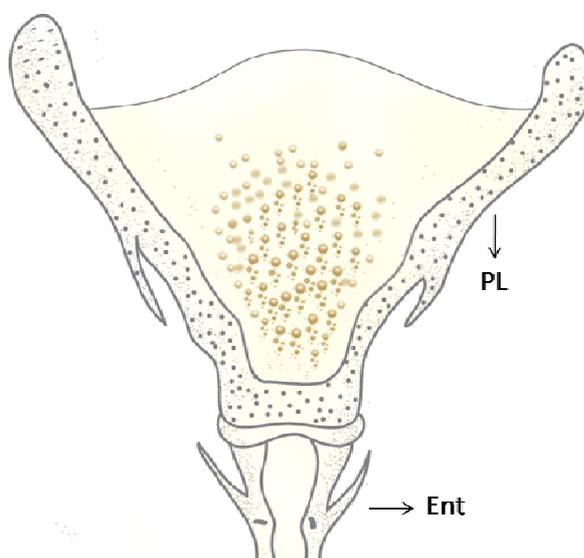


Figura 5. Desenho esquemático do gonarcus de *Chrysoperla externa*. Ent = entoprocessus; PL = placas laterais

Com relação à morfometria relacionada ao comprimento e à área dos testículos, área da vesícula seminal e das glândulas acessórias, verificou-se que não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) nos órgãos reprodutivos dos indivíduos virgens em relação àqueles que foram copulados. Os machos possuem os comprimentos dos testículos em média, de 0,775 mm no direito ( $\chi^2 = 1,55$ ;  $p = 0,21$ ), e 0,806 mm no esquerdo ( $\chi^2 = 2,08$ ;  $p = 0,14$ ), com área total de 0,161 ( $\chi^2 = 1,55$ ;  $p = 0,21$ ), e 0,167 mm<sup>2</sup> ( $\chi^2 = 0,077$ ;  $p = 0,78$ ), respectivamente (Figura 6).

Foram observados cinco pares de glândulas acessórias de tamanhos variados (Figura 7), o que não ocorre em *C. perla*, que tem sete pares de glândulas acessórias *C. septempunctata* com 12 glândulas (PRINCIPI, 1949) e *C. oculata*, que tem um corpo glandular com lobos de variadas formas (HWANG; BICKLEY, 1961). As glândulas acessórias, assim como os demais órgãos do sistema reprodutivo, apresentam grande diversidade morfológica,

podendo ser esféricas, ovaladas, tubulares ou, mesmo, estar ausentes, como em algumas abelhas Meliponini (KERR, 1969; FERREIRA et al., 2004). Kubli et al. (2003) afirmaram que as glândulas são responsáveis pela produção do espermátforo, pela produção de peptídeos que estimulam a atividade ovariana após o acasalamento, pela redução da receptividade da fêmea para se acasalar e possuem propriedades bactericidas.

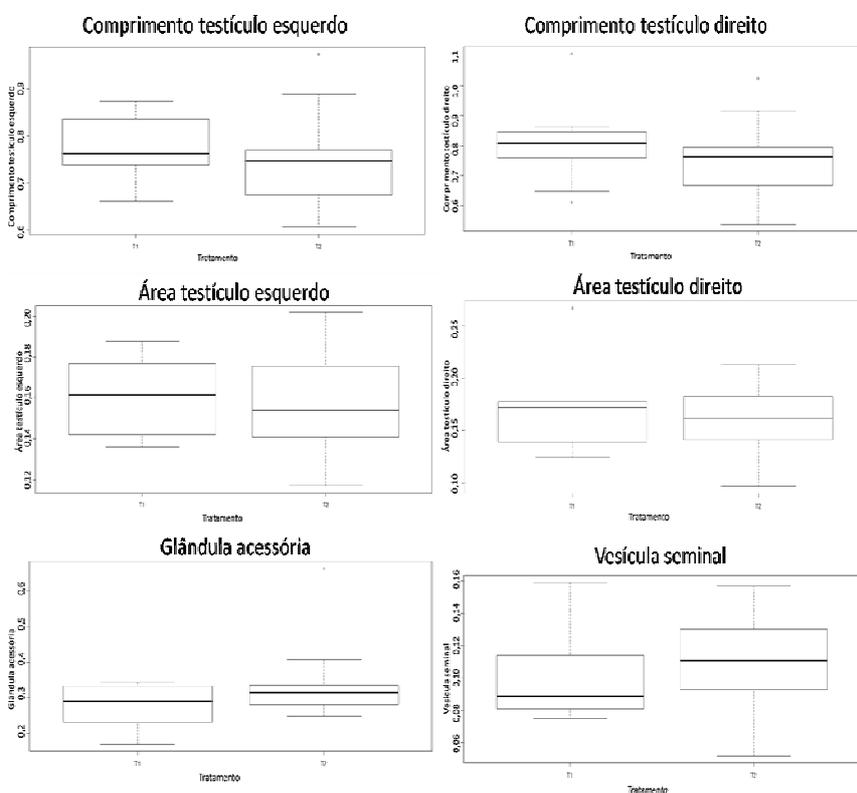


Figura 6. Box plot das medidas dos órgãos do aparelho reprodutor, comprimento e áreas dos testículos, área das glândulas acessórias e vesícula seminal dos insetos virgens e acasalados.

A área mensurada nas análises das glândulas acessórias foi de 0,277 e 0,336 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 2,08$ ;  $p= 0,14$ ) e das vesículas seminais, de 0,098 e 0,218 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 2,77$ ;  $p = 0,09$ ), em machos virgens e copulados, respectivamente.

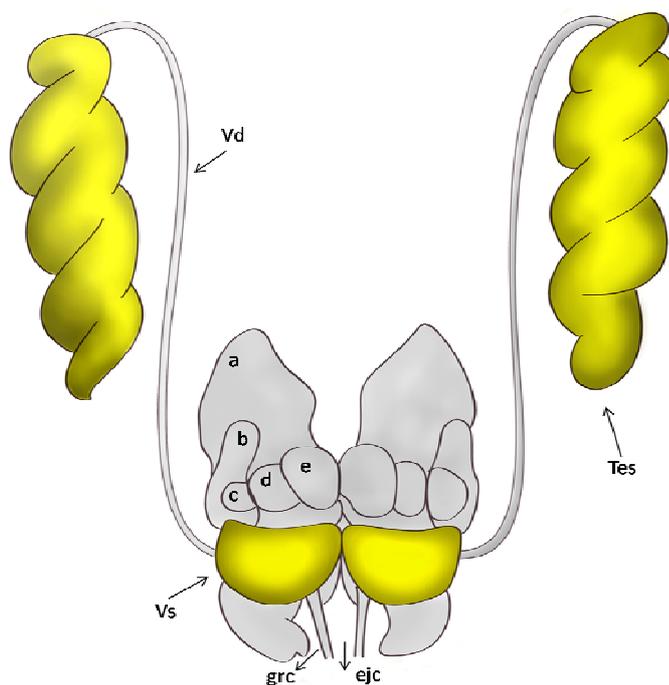


Figura 7. Representação esquemática do aparelho reprodutor de machos de *Chrysoperla externa*. Tes = testículos; Vd = vaso deferente; VS = vesícula seminal; a-e = glândulas acessórias; Grc = gonarcus; ejc = ducto ejaculatório.

Nas dissecações diárias para avaliação do desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, não foi observada diferença estrutural ou anatômica, desde os insetos recém-emergidos até o final das avaliações, que duraram 30 dias. Com relação à observação do desenvolvimento diário do aparelho reprodutor, foi observado que, ao terceiro dia de emergência, os testículos tinham formato

espiralado e coloração amarelada (Figura 8A), enquanto as glândulas acessórias, por serem de coloração translúcida, apresentavam difícil diferenciação numérica e de suas formas. Ao sexto dia, as glândulas acessórias são visíveis e a vesícula seminal de formato circular de cor amarelo-brilhante (Figura 8B). Somente com 11 dias de emergência o aparelho reprodutor masculino está completamente desenvolvido e não ocorreu nenhuma mudança visível até o fim das avaliações (Figura 8C, D).

**Análise histológica.** Observou-se que os testículos apresentavam uma massa em espiral, envolvidos por um epitélio de revestimento (Figura 9). Observou-se a presença de espermátides, que consistem de espermatozoides imaturos, antes de sofrerem transformações morfofuncionais, em vários estágios de desenvolvimento (Figura 10). Embora, no início da espermiogênese, as espermátides sejam ovóides (SCHRANKEL; SCHWALM, 1974), com o prosseguimento da mesma, notam-se um alongamento gradual de toda a célula e a aquisição da forma celular alongada definitiva (DUSTIN, 1978). Foi verificada presença de cistos com feixes de espermatozoides e folículos testiculares (Figura 11). As glândulas acessórias são revestidas por células epiteliais e externamente por uma camada delicada de epitélio simples. A vesícula seminal é envolta pelas glândulas acessórias e apresentou secreção vesicular. Pesquisadores acreditam que a composição e a viscosidade das secreções, em conjunto, permitem o deslocamento dos espermatozoides através do ducto da espermateca (FLANDERS, 1939; HAPP, 1992) (Figura 12).

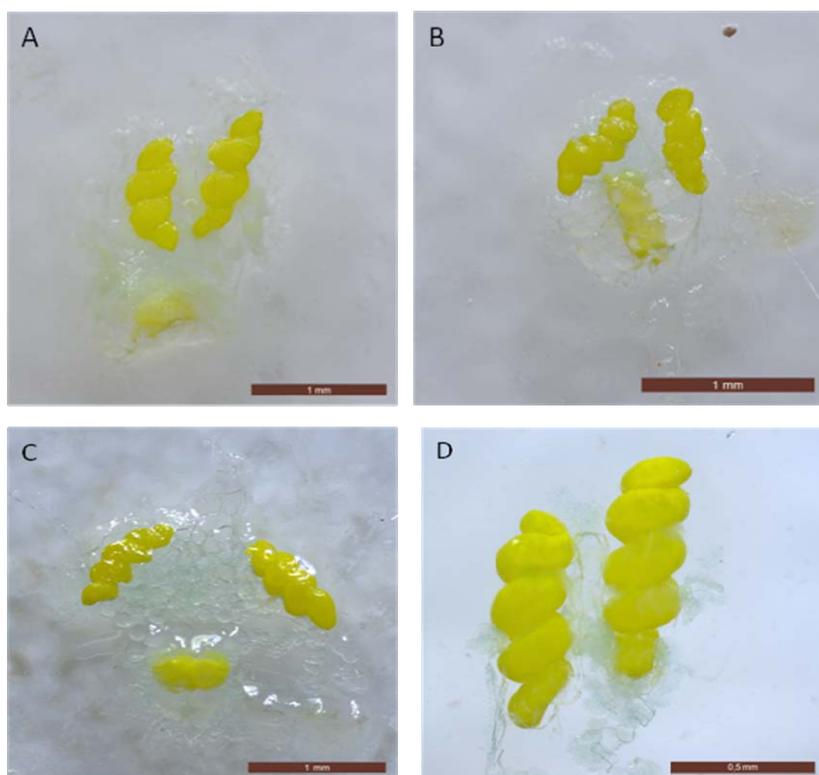


Figura 8. Órgãos reprodutivos de machos de *Chrysoperla externa*. A = 3 dias de emergência; B = 6 dias de emergência; C = 11 dias de emergência; D = 15 dias de emergência.

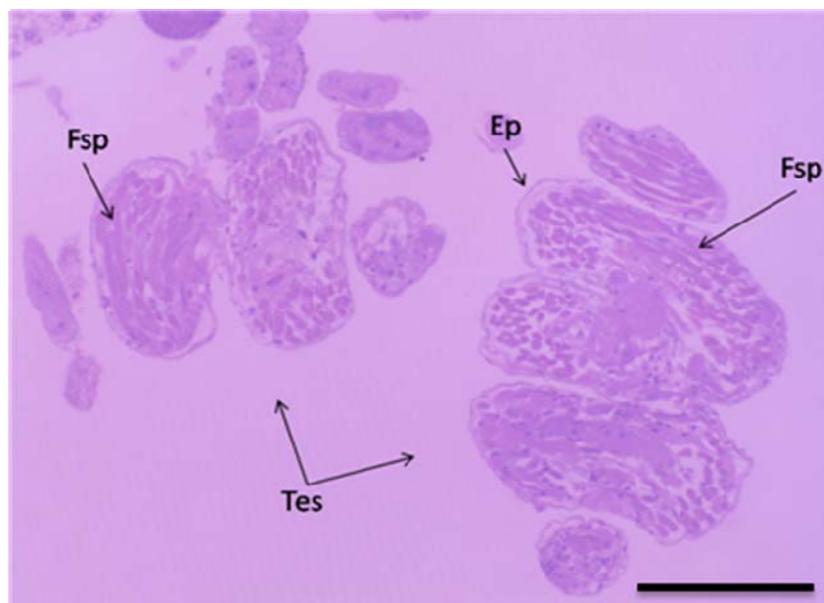


Figura 9. Aparelho reprodutor de macho de *Chrysoperla externa* submetido a técnicas histológicas. Preparação das amostras de testículos coradas com hematoxilina e eosina. (HE). Fsp = feixes de espermatozoides; Ep = epitélio de revestimento; Tes = testículos. Barra = 30  $\mu\text{m}$ .

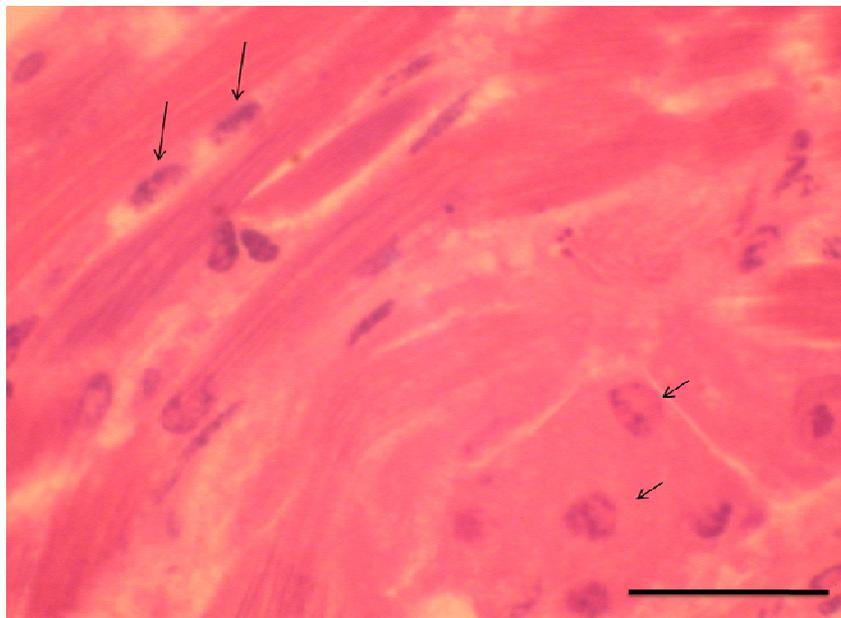


Figura 10. Espermatídes esféricas (setas curtas) e espermatídes alongadas (setas longas). Barra = 30  $\mu$ m.

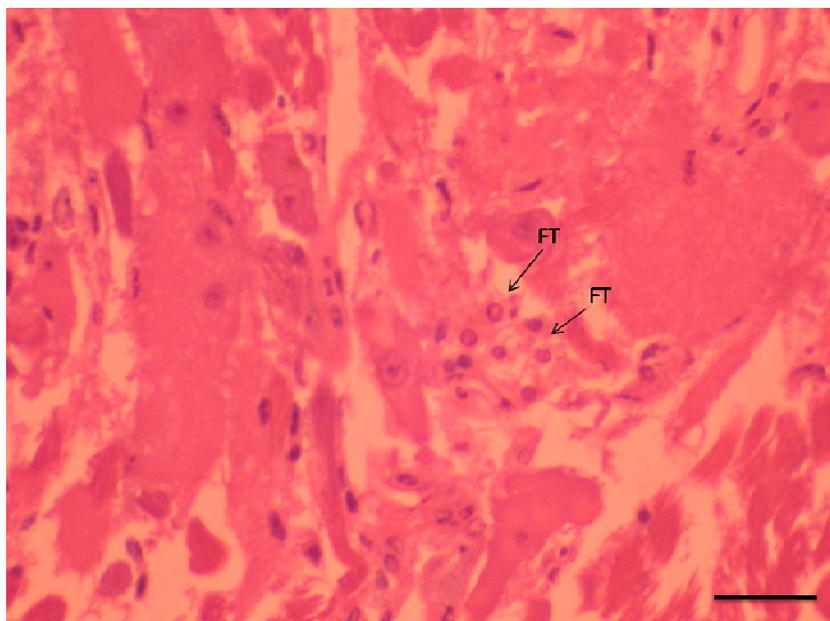


Figura 11. FT=Folículos testiculares. Barra = 30  $\mu$ m.

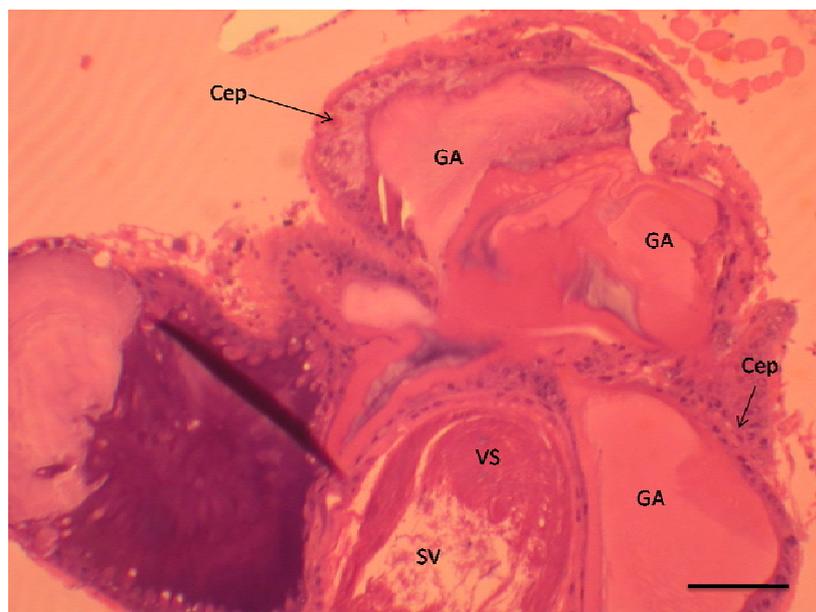


Figura 12. Vesícula seminal envolvida nas glândulas acessórias. Detalhe nos formatos variados das glândulas acessórias. CEP = células epiteliais; GA = glândulas acessórias; VS = vesícula Seminal; SV = secreção vesicular. Barra = 30  $\mu$ m.

### 3.2 Fêmeas

**Descrição morfológica.** As análises morfológicas demonstram que o aparelho reprodutor de fêmeas de *C. externa* está localizado entre os segmentos abdominais 4, 5 e 6, podendo estender-se até o 7 (Figura 13), formado por um par de ovários composto por ovariolos dispostos em série linear, conectados por dois ovidutos laterais e esses a um oviduto comum e uma espermateca. Na área basal do oviduto encontra-se a glândula coletérica (Figura 14).

Nas dissecações diárias realizadas para a observação do desenvolvimento e do amadurecimento dos órgãos reprodutivos femininos, foi constatado que, em fêmeas com 24 horas de emergência, o aparelho reprodutor

não se encontrava desenvolvido, tornando difícil a distinção das estruturas reprodutoras (Figura 15A). O aparelho reprodutor ocupa, ainda, uma pequena porção do abdome, diferente das fêmeas com idade superior. Em fêmeas com idade entre 24 e 48 horas, as estruturas do aparelho reprodutor encontram-se em fase de formação, sendo possível constatar os ovários em tamanho inferior ao das fêmeas de maior idade (Figura 15B). Entre quatro e cinco dias, os ovócitos apresentam-se diminutos, a espermateca, por possuir estrutura esclerotizada, apresenta coloração escura e já pode ser observada, e seu diâmetro é uniforme em toda a sua extensão. Isto também foi observado em *Nusalala tessellata* (Gerstaecker, 1888) (Neuroptera, Hemerobiidae) (LARA; FREITAS, 2002), *C. oculata* (HWANG; BICKLEY, 1961) e *C. septempunctata* (PRINCIPI, 1949) (Figura 15C).



Figura 13. Disposição dos ovaríolos de fêmeas de *Chrysoperla externa*, entre o 4º e o 7º segmentos abdominais.

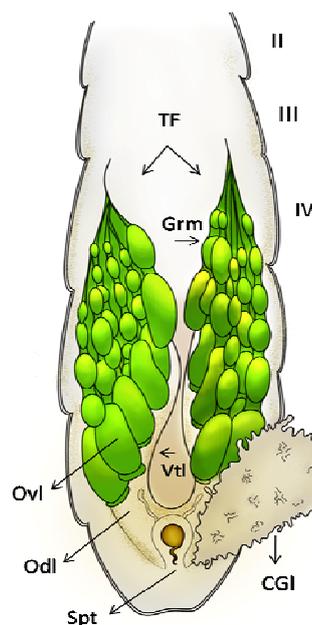


Figura 14. Representação esquemática do aparelho reprodutor feminino de *Chrysoperla externa*. TF = filamento terminal; Grm = germário; Ovl = ovário; Vtl = vitelário; Odl = oviduto lateral; Spt = espermateca; CGI = glândula coletérica.

Com seis (Figura 15D) e onze dias de idade (Figura 15E), as fêmeas possuem um número reduzido de ovócitos; as estruturas dos ovários apresentam coloração mais clara, diferente da tonalidade verde-brilhante que ocorre nos ovários completamente formados e ocupa, ainda, um número menor de segmentos abdominais, em comparação às fêmeas mais velhas.

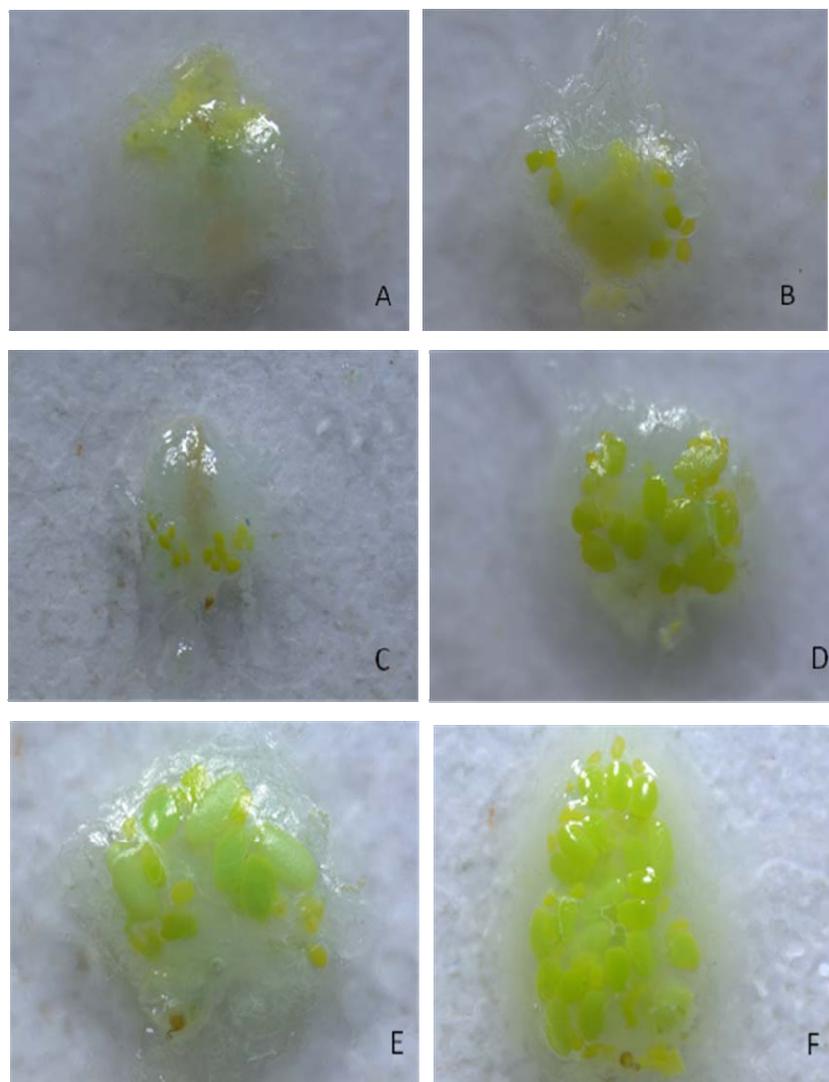


Figura 15. Desenvolvimento do aparelho reprodutor feminino de *Chrysoperla externa* acasalada em função da idade do adulto. A: 12 horas após a emergência; B: Entre 24 e 48 horas; C: 5 dias; D: 6 dias; E: 11 dias; F: a partir de 15 dias.

A partir do 15º dia após a emergência, o aparelho reprodutor forma-se por completo, os ovários apresentam-se organizados num filamento terminal na cavidade abdominal, o número de ovócitos aumenta acentuadamente e os

ovócitos amadurecidos são preparados para serem expelidos na postura. Os ovários tornam-se de coloração verde-brilhante (Figura 15F).

Os órgãos do aparelho reprodutivo das fêmeas sexualmente maduras de *C. externa* são bem desenvolvidos, tornam-se aumentados e ocupam a maior parte da cavidade abdominal, localizando-se entre os segmentos abdominais 4, 5 e 6, podendo estender-se até o 7.

Foram observadas diferenças acentuadas quanto à maturação dos ovários de fêmeas virgens e copuladas. Fêmeas virgens mantiveram o aspecto imaturo dos ovários, enquanto fêmeas acasaladas apresentaram rápido desenvolvimento e maturação de seus ovários. Na comparação do desenvolvimento das estruturas reprodutivas das fêmeas virgens em relação às acasaladas, o desenvolvimento em fêmeas virgens é mais lento, as estruturas do aparelho reprodutor são menores, de coloração mais clara e o número de ovócitos reduzido, ocorrendo dificuldade de diferenciação dos ovariolos. Resultado semelhante foi observado por Dossi e Consoli (2010), em fêmeas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), em que o desenvolvimento ovariano ocorreu após sucessivas cópulas. Segundo Martins e Serrão (2004), a ausência da cópula afeta a formação dos ovários de *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Lepelletier, 1836) (Hymenoptera: Apidae), o que também foi constatado por Patrício e Cruz-Landim (2002), em rainhas virgens de *Apis mellifera* com 12-16 dias de idade, que apresentaram os ovariolos não completamente desenvolvidos.

As fêmeas de *C. externa* são sinovigênicas, pois apenas uma parte de seus ovócitos está desenvolvida após a emergência. Uma fonte comum de nutrientes utilizada por fêmeas sinovigênicas é o fluido seminal produzido pelo macho (FRIEDEL; GILLOTT, 1977; HAYASHI; KAMIMURA, 2002). Assim, além do papel de estimulação hormonal que a cópula pode apresentar, a transferência dos fluidos da vesícula seminal do macho no processo de cópula

pode representar uma fonte essencial de nutrientes para o desenvolvimento do aparelho reprodutor (WHEELER, 1996; GILLOTT, 2003).

Os ovários de *C. externa* são assimétricos, apresentando número variado de ovaríolos, sendo encontrados entre 9 e 11 ovaríolos por ovário, totalizando, em média, 20 ovaríolos e raramente se encontra o mesmo número de ovaríolos nos ovários direito e esquerdo. Estes se encontram repletos de ovócitos em diferentes estágios de formação e maturação. Os ovócitos mais desenvolvidos estão presentes na região basal dos ovaríolos e mais distantes da região do ápice, onde se localiza o germário (Figura 16). O número do ovaríolos varia de acordo com as espécies e, até mesmo, entre indivíduos da mesma espécie. Normalmente, são encontrados de 8 a 12, por exemplo, em *C. perla* e *C. carnea* (CANARD et al., 1984), sendo que, em *C. septempunctata*, Principi (1949) encontrou cerca de 20 ovaríolos, com um número máximo de 24. De acordo com Chapman (1998), o número de ovaríolos por ovário varia em função da ordem e da espécie em que o inseto se encontra. Em alguns casos, pode ser encontrado apenas um ovaríolo, como em espécies de Coleoptera, a mais de mil ovaríolos em um ovário, em rainhas de térmitas (NIJHOUT, 1994)

As fêmeas acasaladas apresentaram, em média,  $30,46 \pm 0,70$  ovócitos nos ovários, enquanto as virgens têm  $17,33 \pm 0,70$  na mesma idade. Em relação às análises dos ovócitos, os que se apresentavam maduros tinham  $0,634 \pm 0,024$  mm de comprimento, enquanto as fêmeas em fase de maturação tinham, em média, de  $0,249 \pm 0,093$  mm de comprimento. Esse dado corrobora a afirmação de que o aparelho reprodutivo das fêmeas copuladas ocupa uma maior porção do abdome em relação às virgens, uma vez que seus ovócitos podem triplicar de tamanho da fase de maturação, até seu desenvolvimento completo.



Figura 16. Aparelho reprodutor feminino de *C. externa*. Ovl = ovariolo; Oo(im) = ovócito imaturo; Oo(m) = ovócito maduro; SDg = sistema digestivo. Barra = 1 mm

Observa-se a presença de uma única e bem desenvolvida glândula coletérica sob a forma de um saco alongado, na parte inferior dos ovários. Essa é forrada por uma camada denominada íntima e se estende até a abertura da câmara genital (Figura 17), estruturas essas também relatadas por Principi (1949) em *C. septempunctata* e por Hawn, Bickley (1961), em *C. oculata*.

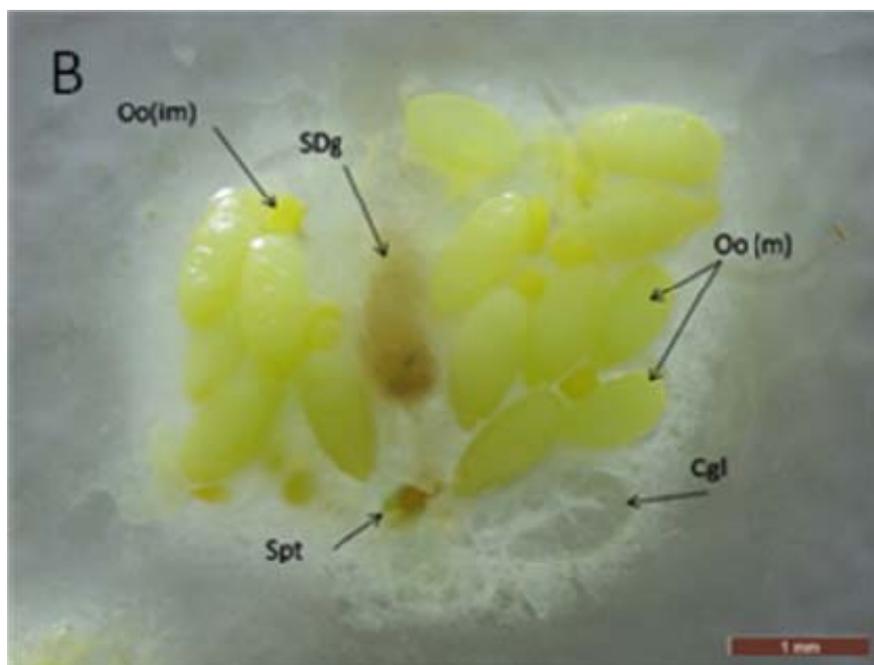


Figura 17. Aparelho reprodutor feminino de *C. externa*. Oo(m) = ovócito maduro; Oo(im) = ovócito imaturo; SDg = sistema digestivo; Spt = espermateca; Cgl = glândula coletérica. Barra =1 mm

Das estruturas do aparelho reprodutor, apenas a espermateca é regularmente descrita em estudos taxonômicos. Em *C. externa* é uma estrutura pigmentada, esclerotizada, circular e achatada dorso-ventralmente e tem uma concavidade na sua face ventral, denominada, por Tjeder (1956), de impressão ventral (Figura 18). A espermateca tem comprimento médio de  $0,285 \pm 0,039$  mm e diâmetro médio de  $0,020 \pm 0,003$  mm<sup>2</sup>.



Figura 18. Detalhe da espermateca de *Chrysoperla externa*. Spt = espermateca; Vi = impressão ventral

**Análise histológica.** Estudos histológicos demonstraram que os ovários de *C. externa* são do tipo meroístico politrófico, sendo cada ovário envolvido por células epiteliais e por uma capa muscular, a membrana peritoneal (Figura 19A). Como característica do tipo de ovário meroístico politrófico, ocorre a presença de células nutridoras associadas a cada ovócito (SNODGRASS, 1956; CHAPMAN, 1998). Os ovócitos são envolvidos por camada única e delgada de células foliculares e possuem núcleos de diferentes formatos, como “meia-lua” e arredondados (Figura 19B). A parte apical de cada ovariolo é formada por uma região denominada germário, na qual se encontram células em processo de diferenciação celular (Figura 19C). Quando os ovócitos se encontram próximo à região do germário (Figura 19D), em fase inicial de desenvolvimento, as células foliculares se apresentam de forma achatada e condensada, e a coloração é mais clara. À medida que os ovócitos desenvolvem-

se, essas células vão se tornando cúbicas e menos compactadas, e sua coloração escurece, tornando-se mais visível a diferenciação das estruturas. Com o desenvolvimento dos ovócitos, eles descem pelo ovariolo em direção ao cálice, aumentando de volume e promovendo o processo de vitelogênese.

Também pôde ser notada, nas secções histológicas, a presença do córion já completamente desenvolvido (processo de coriogênese), bem como a presença de vitelo no seu interior (Figura 19E).

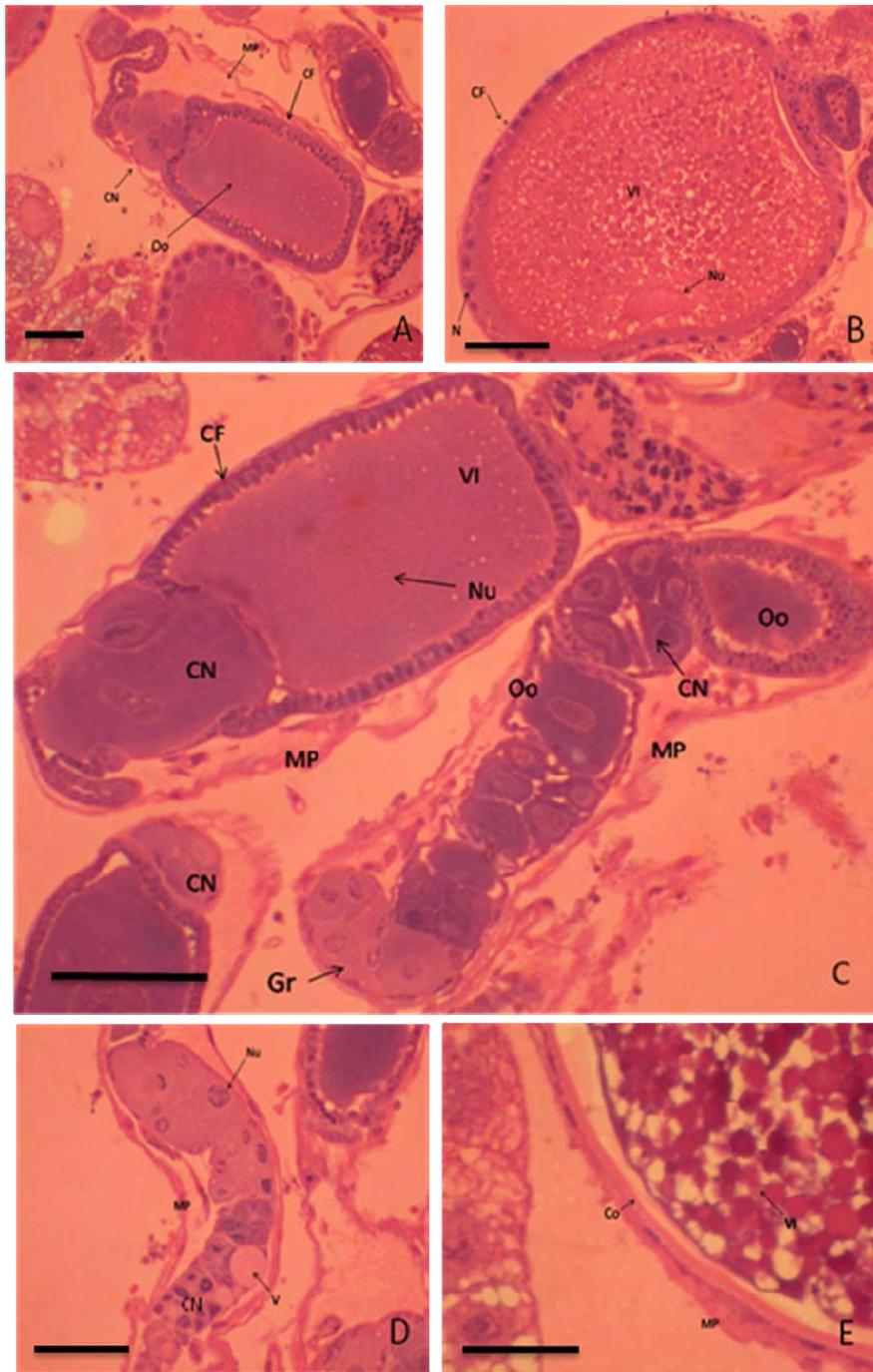


Figura 19. Secção histológica longitudinal dos ovários de *Chrysoperla externa*. A) Detalhes da estrutura dos ovócitos. B) Ovócito em estado completo de desenvolvimento, detalhe no núcleo em formato de “meia-lua”. C) Ovariolo com ovócitos em arranjo linear e em diferentes estágios de desenvolvimento, detalhe do núcleo em formato cúbico. D) Região do germário. E) Detalhes das células foliculares em diferentes estágios de desenvolvimento. CN = células nutridoras; CF = células foliculares; MP = membrana peritoneal; Oo = ovócito; VI = vitelo; Nu = núcleo do ovócito; N = núcleo das células foliculares, Gr = germário; V = vacúolo; Co = córion. Barra = 30  $\mu$ m.

A espermateca de *C. externa* é uma bolsa de forma arredondada, ligada ao oviduto comum pelo ducto da espermateca. Sua parede é constituída de um epitélio delgado revestido por cutícula. Externamente, há uma camada muscular que se apresenta bem desenvolvida na junção com o receptáculo da espermateca (Figura 20).



Figura 20. Secção longitudinal da espermateca, demonstrando camada epitelial fortemente esclerotizada. FM = tecido muscular; Ep = epitélio; CF = células foliculares; DtE = ducto da espermateca. Barra = 30  $\mu$ m.

#### 4. CONCLUSÃO

Não ocorre diferença entre o desenvolvimento do aparelho reprodutor de machos virgens e copulados de *C. externa*.

O aparelho reprodutor das fêmeas acasaladas amadurece em menor tempo em relação ao das fêmeas virgens.

Fêmeas de *C. externa* apresentam modificações morfológicas no aparelho reprodutor, ao longo do processo de maturação sexual.

A cópula influencia a maturação do aparelho reprodutor das fêmeas de *C. externa*.

**REFERÊNCIAS**

ALBUQUERQUE, G. S.; TAUBER, C. A.; TAUBER, M. J. *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life history in Central and South America. **Biological Control**, Orlando, v. 4, n. 1, p. 8-13, Mar. 1994.

BKÜCKNER, W. Geschlechtsorgane und Eibildung des Neuropters *Chrysopo vulgaris* Schneid. **Jenaische Zeitsch für Naturwissenschaft**, Jena, v. 69, p. 469-506, 1935.

BRESSAC, C. Storage of short and long sperm in *D. subobscura*. **Drosophila Information Service**, Lawrence, v. 75, p. 120-121, July 1994.

BRESSAC, C.; FLEURY, A.; LACHAISE, D. Another way of being anisogamous in *Drosophila* subgenus species: giant sperm, one-to-one gamete ratio, and high zygote provisioning. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 91, n. 22, p. 10.399-10.402, Oct. 1994.

CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk, 1984. 294 p.

CHAPMAN, R. F. Reproductive system: female. In: CHAPMAN, R. F. (Ed.). **The Insects: Structure and Function**. Cambridge: Cambridge University, 1998. p. 295-324.

COSTA, R. I. F. et al. Influência da densidade de indivíduos na criação de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera Chrysopidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1.539-1.545, 2003. Suplemento.

DOSSI, F. C. A.; CONSOLI, F. L. Desenvolvimento ovariano e influência da cópula na maturação dos ovários de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 414-419, May/June 2010.

DUELLI, P. Lacewings in field crops. In: McEWEN, P.; NEW, T. R.; WHITTINGTON, A. E. **Lacewings in the crop environment**. New York: Cambridge University Press, 2001. Chap. 8, p. 158-171.

DUSTIN, P. Nuclear and cytoplasmic shaping in spermatogenesis. In: DUSTIN, P. **Microtubules**. Berlin: Springer-Verlag, 1978. Cap. 6, p. 232-241.

FERREIRA, A. et al. Comparative anatomy of the male reproductive internal organs of 51 species of bees. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 569-576, Sept./Oct. 2004.

FIORILLO, B. S.; LINO-NETO, J.; BÁO, S. N. Structural and ultrastructural characterization of male reproductive tracts and spermatozoa in fig wasps of the genus *Pegoscapus* (Hymenoptera, Chalcidoidea). **Micron**, New York, v. 39, n. 8, p. 1.271-1.280, Dec. 2008.

FLANDERS, S. E. Environmental control of sex in hymenopterous insects. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 32, n. 1, p. 11-26, Mar. 1939.

FREITAS, S. **Criação de crisopídeos (Bicho-lixeiro) em laboratório**. Jaboticabal: Funep, 2001. 20 p.

FREITAS, S.; FERNANDES, O. A. Crisopídeos em agroecossistemas. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5., 1996, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Embrapa-CNPSO, 1996. p. 283-293.

FRIEDEL, T; GILLOTT, C. Contribution of male-produced proteins to vitellogenesis in *Melanoplus sanguinipes*. **Journal Insect Physiology**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 145-151, 1977.

GILLOTT, C. Male accessory gland secretions: modulations of female reproductive physiology and behaviour. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 48. p. 163-184, Jan. 2003.

HAPP, G. M. Maturation of the Male Reproductive System and Its Endocrine Regulation. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 37, p. 303-320, 1992.

HAYASHI, F.; KAMIMURA, Y. The potential for incorporation of male derived proteins into developing eggs in the leafhopper *Bothrogonia ferruginea*. **Journal Insect Physiology**, Oxford, v. 48, n. 2, p. 153-159, Feb. 2002.

HWANG, J. C.; BICKLEY, W. E. The reproductive system of *Chrysopa oculata* (Neuroptera, Chrysopidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 54, n. 3, p. 422-429, May 1961.

JOLY, D. et al. The sperm roller: a modified testicular duct linked to giant sperm transport within the male reproductive tract. **Journal Structure Biology**, Oxford, v. 142, p. 348-355, 2003.

KERR, W. E. Some aspects of the evolution of social bee (Apidae). **Evolucionary Biology**, East Norwalk, v. 3, p. 119-175, 1969.

KUBLI, E. Sex-peptide is the molecular basis of the sperm effect in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 17, p. 9.929-9.933, Aug. 2003.

LARA, R. I. R.; FREITAS, S. de. Caracterização morfológica de adultos de *Nusalala tessellata* (Gerstaecker, 1888) (Neuroptera, Hemerobiidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 523-530, 2002.

LEMOS, W. P. et al. Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 129-138, Jan. 2005.

MARTINS, G. F.; SERRÃO, J. E. Changes in the reproductive tract of *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera: Apidae),

Meliponini) queen after mating. **Sociobiology**, Chico, v. 44, n. 2, p. 241-254, 2004.

NIJHOUT, H. F. **Reproduction**. In: NIJHOUT, H. F. (Ed.). **Insect Hormone**. Princeton: Princeton University, 1994. p. 142-159.

PATRICIO, K.; CRUZ-LANDIM, C. Mating influence in the ovary differentiation in adult queens of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 62, p. 641-649, nov. 2002

PHILIPPE, R. Biologic de la reproduction de *Chrysopa perla* (L.) (Neuroptera, Chrysopidae) en fonction de l'alimentation imaginaire. **Annales de Zoologie Ecologie Animale**, Paris, v. 4, p. 213-227, 1972.

PRINCIPI, M. M. Contributi allo studio dei neurotteri italiani. VIII. Morfologia, anatomia e funzionamento degli apparati genitali nel gen. *Chrysopa* Leach. **Bollettino dell'Istituto di Entomologia dell'Universita di Bologna**, Bologna, v. 17, p. 314-362, 1949.

SCHRANKEL, K. R.; SCHWALM, F. E. Structures associated with the nucleus during chromatin condensation in *Coelopa frigida* (Diptera) spermiogenesis. **Cell and Tissue Research**, New York, v. 153, n. 1, p. 45-53, 1974.

SCUDELER, E. L.; NANYA, S.; CONTE, H. Morfologia interna do aparelho reprodutor de pupa e adulto macho de *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae). In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: Ed. UEM, 2009. 1 CD-ROM.

SNODGRASS, R. E. **Anatomy of honey bee**. Ithaca: Comstock, 1956. 334 p.

SNODGRASS, R. E. **Principles of insect morphology**. New York: McGraw-Hill Book, 1935. 667 p.

STEFANINI, M.; DE MARTINO, C.; ZAMBONI, L. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. **Nature**, London, v. 216, p. 173-174, Oct. 1967.

STITZ, H. Zur Kenntnis der Genitalapparats der Neuropteren. **Zoologische Jahrbuecher Abteilung fuer Anatomie**, Jena, v. 27, p. 337-448, 1909.

TJEDER, B. Genital structures and terminology in the order Neuroptera. **Entomologiske Meddelelser**, Kjobenhavn, v. 27, p. 23-40, 1954.

TJEDER, B. Neuroptera. In: TUXEN, S. L. **Taxonomist's Glossary**. Copenhagen: E. Munksgaard, 1956. p. 76-83.

TJEDER, B. Schwedisch-Chinesische wissenschaftliche Expedition nach den nordwestlichen Provinzen Chinas. 62. Neuroptera. **Arkiv for Zoologi**: 29A, Stockholm, v. 8, p. 1-36, 1936.

WHEELER, D. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 407-431, 1996.

## **2º CAPÍTULO**

**Efeito de doses subletais do inseticida thiamethoxam no aparelho reprodutor de adultos de *Chrysoperla externa***

## RESUMO

Dentre os crisopídeos, *Chrysoperla externa* é comumente encontrada na região neotropical, ocorrendo em várias culturas de interesse econômico. Apesar da ação de inimigos naturais, o controle de pragas ainda é dependente do uso de inseticidas e as aplicações de compostos de largo espectro de ação podem reduzir populações de inimigos naturais. Por isso faz-se necessária a utilização de produtos que sejam seletivos aos insetos benéficos. O presente trabalho foi realizado com a finalidade de avaliar possíveis impactos do uso de dose subletais do inseticida thiamethoxam no aparelho reprodutor de adultos de *C. externa*. Por meio de bioensaios realizados em laboratório, foi avaliada a toxicidade das concentrações 160 ng i.a/ $\mu$ L; 120 ng i.a/ $\mu$ L; 80 ng i.a/ $\mu$ L; 40 ng i.a/ $\mu$ L; 20 ng i.a/ $\mu$ L; 10 ng i.a/ $\mu$ L e 2 ng i.a/ $\mu$ L, por meio de aplicação tópica. Os insetos provenientes deste tratamento foram dissecados diariamente, durante 15 dias consecutivos. O tratamento que ocasionou menor quantidade de ovos foi o de 10 ng i.a/ $\mu$ L. Os insetos tratados com thiamethoxam não apresentaram diferenças significativas nas estruturas reprodutoras em relação aos não tratados. A singularidade que pode ser observada nos tratamentos foi a presença de uma camada espessa de tecido gorduroso, de coloração esbranquiçada nos insetos tratados.

### ABSTRACT

Among the lacewings, *Chrysoperla externa* is commonly found in the Neotropical region, occurring in various crops of economic interest. Pest control is still dependent on the use of insecticides; As the application of broad spectrum compounds of action may reduce populations of natural enemies is necessary to use products that are selective to beneficial insects. This study aimed to evaluate possible impacts of using sublethal doses of thiamethoxam in reproductive tract of adult *C. externa*. By bioassays in laboratory was evaluated toxicity of the concentrations 160 ng i.a/ $\mu$ L; 120 ng i.a/ $\mu$ L; 80 ng i.a/ $\mu$ L; 40 ng i.a/ $\mu$ L; 20 ng i.a/ $\mu$ L; 10 ng i.a/ $\mu$ L e 2 ng i.a/ $\mu$ L, by topical application. The insects from this treatment were dissected daily for 15 consecutive days. The treatment resulted in fewer eggs was 10 ng i.a/ $\mu$ L. The insects treated with thiamethoxam showed no significant differences in reproductive structures in relation to untreated. The singularity in the treatments was the presence of a thick layer of white fat tissue in the treated insects.

## 1 INTRODUÇÃO

Os insetos pertencentes à família Chrysopidae têm tido importante atuação no equilíbrio e na regulação de densidades populacionais de muitos artrópodes-praga. Dentre os crisopídeos, *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) é comumente encontrada na região neotropical, ocorrendo em várias culturas de interesse econômico (CARVALHO; SOUZA, 2000).

Esse predador é um inseto polífago e é frequentemente encontrado em diversos agroecossistemas (DE BORTOLI et al., 2006), constituindo um importante inimigo natural de ácaros, cochonilhas, pulgões e ovos de lepidópteros e muitos outros tipos de presas (FREITAS, 2002).

Apesar da ação de inimigos naturais, o controle de pragas ainda é dependente do uso de inseticidas, devido a uma série de fatores, como, por exemplo, o efeito imediato. Entretanto, aplicações de compostos de largo espectro de ação e de forma intensa podem reduzir populações de inimigos naturais, além de contaminar o ambiente (FRAGOSO et al., 2002; REIS et al., 2002).

Dentre os inseticidas, o neonicotinoide thiamethoxam vem sendo utilizado em diversas culturas, como café, algodão e cana-de-açúcar (BOINA et al., 2009) e alcançando sucesso no controle de pragas, como o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (DIEZ-RODRIGUEZ, 2006; SOUZA et al., 2006), a cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900) (SOUZA et al., 2007) e a cigarrinha *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (DINARDO-MIRANDA et al., 2000; 2002; GONÇALVES et al., 2003). Entretanto, tem, como desvantagem, efeito negativo sobre inimigos naturais, como *C. externa*, já que esse predador tem ocorrência em muitas dessas culturas (DE BORTOLI et al., 2006).

Uma vez que o uso de produtos fitossanitários ainda é o método de controle de pragas mais utilizado nas culturas, faz-se necessária a utilização de produtos que sejam seletivos aos insetos benéficos, entre os quais se incluem os inimigos naturais das pragas, para que assim o manejo integrado de pragas (MIP) seja viabilizado (CARVALHO, 2002).

Trabalhos de seletividade com thiamethoxam em *C. externa* foram realizados para frutíferas, como macieira (MOURA et al., 2009), citros (GODOY et al., 2004) e pêssego (CASTILHOS et al., 2011), porém, não se tem conhecimento a respeito dos efeitos subletais do inseticida thiamethoxam nesse inseto.

Os inseticidas são capazes de ocasionar não só a mortalidade em organismos benéficos, a qual é facilmente avaliada em testes de toxicidade aguda, mas também muitos efeitos subletais que não devem ser desprezados. Os efeitos subletais podem ser causados pela absorção de resíduos, contato direto com gotículas de inseticidas durante os tratamentos, ingestão de plantas contaminadas ou transferência na cadeia alimentar e é importante que esses efeitos sejam avaliados (DESNEUX et al., 2007).

As pesquisas mais recentes com *C. externa* abrangem parâmetros biológicos (BEZERRA et al., 2006; CORRALES; CAMPOS, 2004), potencial reprodutivo (ANGELINI; FREITAS, 2006; MACEDO, 2003; PESSOA; FREITAS, 2008), estratégias e capacidade de oviposição, adequação de temperaturas e dietas de criação massal (LAVAGNINI; FREITAS, 2008; OLIVEIRA, 2010; PESSOA et al., 2010).

Têm sido realizadas pesquisas relacionadas à morfologia externa de adulto, da genitália de machos e fêmeas de *C. externa* para fins taxonômicos e/ou filogenéticos (ASPOK, 2008; FREITAS, 2003; TAUBER et al., 2011), e o impacto de inseticidas em laboratório tem sido igualmente conduzido (CASTILHOS et al., 2011; CARVALHO et al., 2002; GODOY, 2010; VOGT,

2000). Entretanto, apesar da importância desse predador, avaliações de possíveis modificações ocorridas no aparelho reprodutor desta espécie em função da aplicação de inseticidas não são, ainda, conhecidas.

Em consequência da alta gama de trabalhos sobre efeitos de doses letais de inseticidas em *C. externa*, fazem-se necessários estudos sobre alterações de doses subletais nos parâmetros biológicos e reprodutivos deste predador, a fim de gerar subsídios para a utilização do mesmo em programas de manejo integrado de pragas. Dessa forma, o presente trabalho teve como finalidade a avaliação de possíveis impactos do uso de dose subletais do inseticida thiamethoxam no aparelho reprodutor de adultos de *C. externa*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os insetos utilizados nos bioensaios (geração F3) eram provenientes da criação de manutenção estabelecida no laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras, sob temperatura de  $25\pm 1$  °C, umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase 14 horas, conforme descrito por Carvalho e Souza (2000) e Vogt et al. (2000).

O experimento foi dividido em três fases: primeiramente, foi realizado um ensaio de toxicidade, a fim de estabelecer a concentração que causava mortalidade ( $DL_{50}$ ) para adultos de *C. externa*. A determinação das concentrações foi feita por meio da diluição de uma solução estoque composta do inseticida thiamethoxam técnico (92,5% pureza), obtido na Syngenta CropProtection (Brasil), com acetona (proporção 5mg:5mL). As concentrações utilizadas foram 160 ng i.a/ $\mu$ L; 120 ng i.a/ $\mu$ L; 80 ng i.a/ $\mu$ L; 40 ng i.a/ $\mu$ L; 20 ng i.a/ $\mu$ L; 10 ng i.a/ $\mu$ L e 2 ng i.a/ $\mu$ L. O bioensaio foi realizado por meio de aplicação tópica com auxílio de uma microsseringa de 5  $\mu$ L, em que uma

alíquota de 0,5  $\mu\text{L}$  de solução inseticida em cada uma das concentrações foi aplicada na região dorsal dos insetos. Cada tratamento foi composto por 45 adultos, sendo 15 adultos em cada uma das 3 repetições. Os tratamentos foram avaliados por 72 horas e o número de mortos contabilizado e submetido a análises estatísticas, a fim de determinar as doses subletais.

As concentrações utilizadas nos ensaios de intoxicação dos adultos com o inseticida thiamethoxam foram de 10 ng i.a/ $\mu\text{L}$  e 2 ng i.a/ $\mu\text{L}$ . A segunda fase consistiu na observação da influência das doses subletais 10 ng i.a/ $\mu\text{L}$  e 2 ng i.a/ $\mu\text{L}$  na produção de ovos. Foram utilizados adultos com 15 dias de emergência, pois, nesse período, os mesmos se encontram com os aparelhos reprodutores completamente desenvolvidos e as fêmeas no período efetivo de oviposição. O bioensaio foi composto por três tratamentos, sendo duas concentrações de thiamethoxam 10 ng i.a/ $\mu\text{L}$  (T10) e 2 ng i.a/ $\mu\text{L}$  (T2) e uma testemunha negativa (ausência de inseticida).

Os insetos adultos foram separados em casais e distribuídos na proporção de um casal por gaiola de PVC de 10 cm de diâmetro x 10 cm de altura, revestidas internamente com papel filtro, tendo as bases superior e inferior sido vedadas com filme laminado e as superiores, fechadas com tecido tipo “voile”. Os insetos foram alimentados com dieta constituída de lêvedo de cerveja e mel (1:1), conforme metodologia de Freitas (2001). Foram utilizados 30 casais, 10 em cada um dos 3 tratamentos. Cada tratamento foi composto por 10 repetições. Durante 15 dias consecutivos, efetuou-se a contagem dos ovos depositados, determinando-se sua média diária de oviposição.

Os dados referentes à oviposição foram submetidos à análise para o desenvolvimento de modelos, por meio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011) e analisados utilizando-se distribuição de Poisson com função de ligação “log”. As curvas de oviposição obtidas para cada tratamento foram separadas pelo teste de contraste.

Na última e terceira fase testou-se a concentração que demonstrou diferença significativa no índice de oviposição, em relação aos insetos do tratamento controle. Em 15 gaiolas idênticas àquelas utilizadas na segunda fase experimental e nas mesmas condições descritas, foram acondicionados 10 insetos por recipiente (5♂:5♀), totalizando 150 insetos. Foi realizada a aplicação tópica com auxílio de uma microseringa de 5 µL, em que uma alíquota de 0,5 µL de solução inseticida da concentração foi aplicada na região dorsal do inseto. As dissecações foram realizadas por 15 dias consecutivos, e em cada uma das gaiolas contendo os 5 casais a dissecação era feita a cada 24 horas.

A dissecação foi realizada sob microscópio estereoscópico acoplado a um sistema de automontagem. Os aparelhos reprodutores retirados foram armazenados em tubos de microcentrifugação de 1,5 mL, imersos em solução fixadora Zamboni (paraformaldeído 4% e ácido pícrico 0,4% em tampão fosfato) (STEFANINI et al., 1967), para uma necessidade eventual de futuras pesquisas histológicas e/ou celulares.

Fez-se a contagem do número de ovócitos, bem como foram medidos o comprimento dos testículos e a área das glândulas acessórias, além da vesícula seminal em todos os indivíduos do tratamento em que ocorreu menor produção de ovos. O comprimento dos ovócitos maduros e imaturos de *C. externa* foi mensurado com auxílio do programa Leica Application Suite, (version 3.7.0). Foram realizadas as descrições anatômicas e das características morfológicas dos órgãos reprodutivos dos insetos.

Para análise estatística, a normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Entretanto, os dados não atenderam à pressuposição de normalidade. Assim, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Em seguida, optou-se por realizar análise descritiva, sendo os dados expressos em box plot. Todas as análises foram realizadas empregando-se o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Produção de ovos.** Nos resultados referentes à capacidade de oviposição, a produção total de ovos no período de avaliação foi significativamente maior no controle, com média de 12,2 ovos/dia. O tratamento que ocasionou menor quantidade de ovos foi o tratamento 10 ng i.a/ $\mu$ L (T10) (Figura 1), com média de 3,47 ovos/dia, não ultrapassando o número de 14 ovos/dia durante a avaliação. Os resultados do presente experimento corroboraram os encontrados por Godoy et al. (2010), para adultos de *C. externa* submetidos a doses de milbemectina 700 WG, 0,07 e imidacloprido 50 CE, 0,008, em concentrações recomendadas pelos fabricantes, cujo princípio ativo pertence ao mesmo grupo químico do thiamethoxam (neonicotinoide), tendo os produtos interferido no número de ovos/dia. Tem sido relatada a diminuição na capacidade de oviposição de *C. externa* submetido a tratamentos com diversos inseticidas (GODOY et al., 2004; MOURA et al., 2009), entretanto, há carência de resultados sobre a utilização de doses subletais em *C. externa*.

Vilela (2009), utilizando compostos de diferentes grupos químicos, como fenpropatrina 0,15 g i.a./L, enxofre 4,0 g i.a./L e abamectina 0,0067 g i.a./L, verificou que eles causaram redução no número de ovos/fêmea/dia em *C. externa*, apresentando médias que variaram de 8,9 a 10,3 ovos/dia.

Resultados obtidos por Moura et al. (2010) diferem dos obtidos no presente trabalho, em que a capacidade de oviposição de *C. externa* não foi reduzida com aplicação de triclorfon, enxofre ou abamectina. Essa diferença pode ser explicada pelo tipo de inseticida empregado, os quais pertencem a diferentes grupos químicos e apresentam modo de ação diferente dos neonicotinoides.

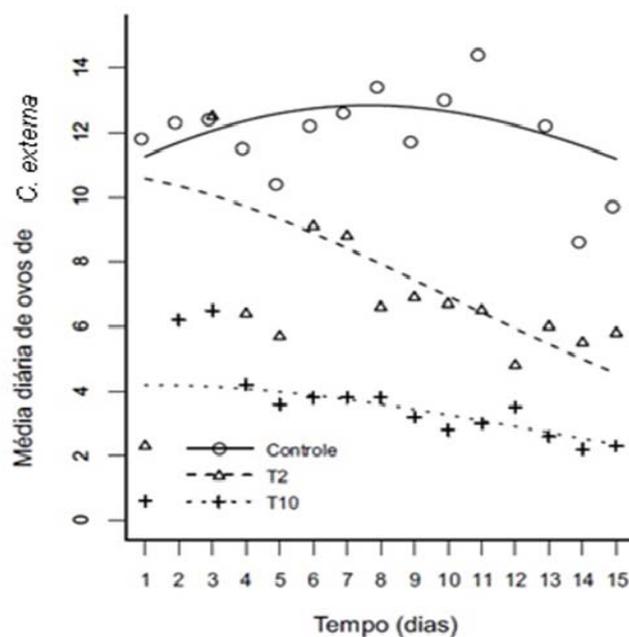


Figura 1. Número médio de ovos produzidos por *Chrysoperla externa* submetidos a tratamentos com duas concentrações subletais de thimathoxam.

Em virtude da alta porcentagem de mortalidade de adultos de crisopídeos demonstrada em alguns trabalhos, alguns pesquisadores não realizaram avaliações de fertilidade, pois os inseticidas imidacloprido e thiamethoxam (mesmo grupo químico) ocasionaram 100% de mortalidade (BUENO; FREITAS, 2003; ROCHA, 2008). O thiamethoxam é muito tóxico a adultos de *Ceraeochrysa cubana* (Neuroptera: Chrysopidae), com 100% de mortalidade em apenas um dia após pulverização sobre os insetos (GODOY et al., 2010).

**Características morfológicas.** Com relação à morfologia, os machos tratados com thiamethoxam apresentaram similaridade nos órgãos reprodutivos

dos indivíduos em todos os 14 dias de avaliação. Os testículos apresentam formato espiralado, o comprimento foi de 0,835 mm no esquerdo ( $x^2= 24,42$ ;  $p = 0,02$ ), e 0,844 mm no direito ( $x^2= 30,94$ ;  $p = 0,003$ ), com área total de 0,162 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 26,47$ ;  $p = 0,01$ ), e 0,167 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 29,11$ ;  $p = 0,006$ ), respectivamente. Os testículos e a vesícula seminal apresentam cor amarela, ocorrem glândulas acessórias de coloração esbranquiçada, não ocorrendo diferença aparente em relação aos dias de avaliação. A área mensurada nas análises das glândulas acessórias foi de 0,344 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 22,19$ ;  $p = 0,05$ ), e das vesículas seminais, 0,107 mm<sup>2</sup> ( $x^2= 23,55$ ;  $p = 0,03$ ), respectivamente (Figura 2).

A diferença que pode ser observada nos tratamentos foi a presença de uma camada densa de tecido gorduroso, de coloração esbranquiçada, nos machos tratados com thiamethoxam, formada, possivelmente, de uma massa compacta de células, conforme relatado com Chapman (1998) (Figura 3).

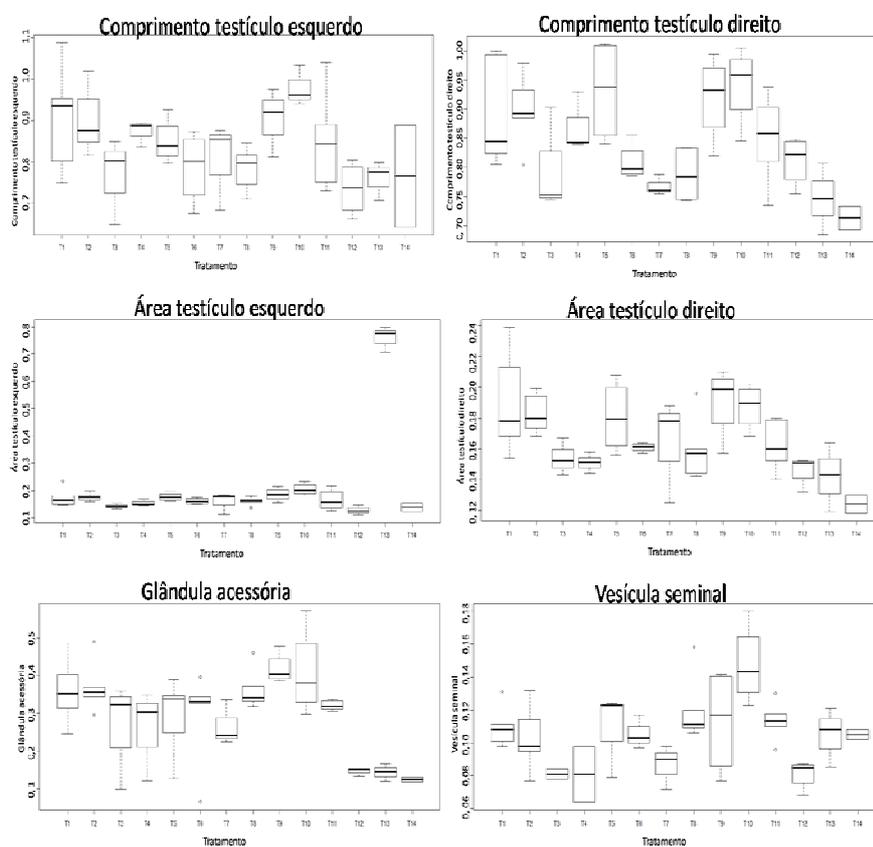


Figura 2. Figura 6. Box plot das medidas dos órgãos do aparelho reprodutor: comprimento e áreas dos testículos, área das glândulas acessórias e vesícula seminal dos insetos tratados com thiamethoxam e avaliados durante 14 dias consecutivos.

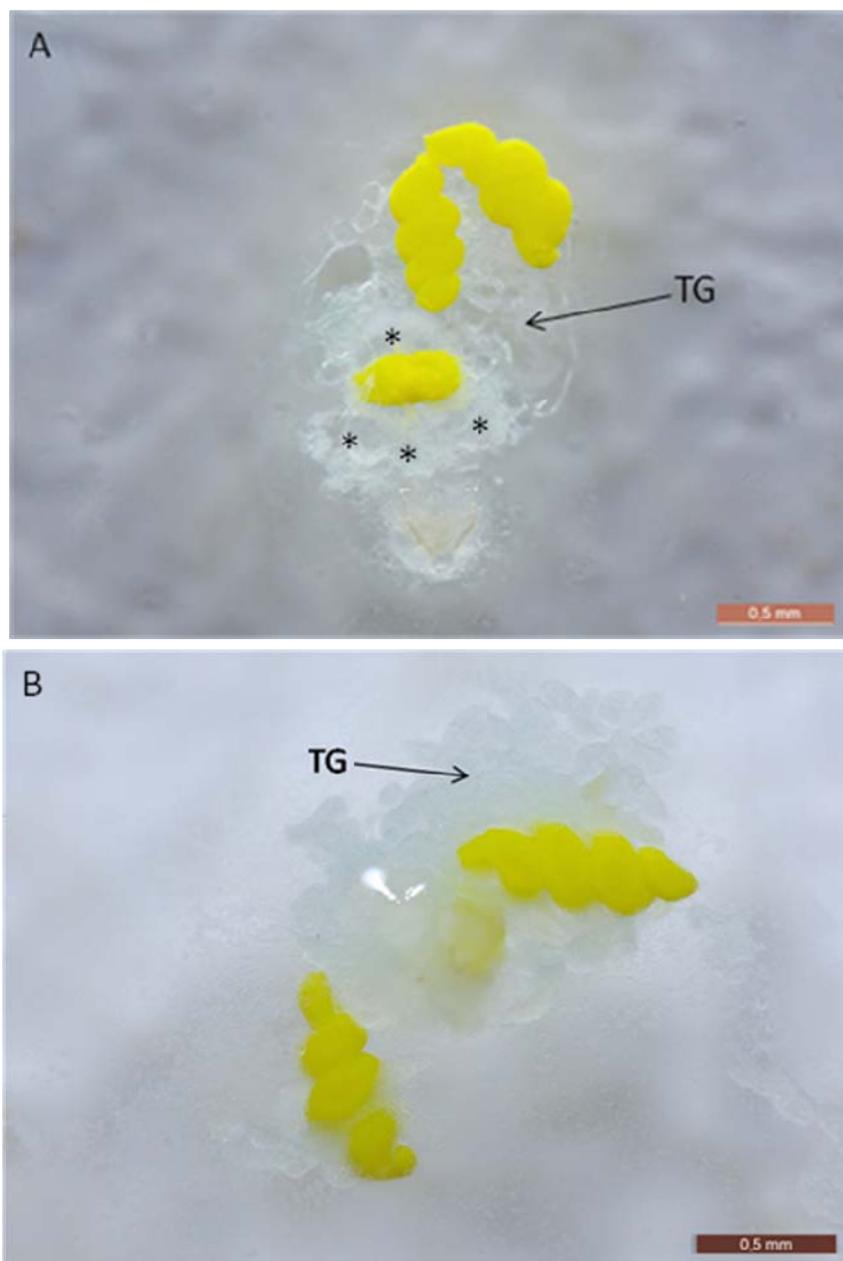


Figura 3. Diferença do tecido gorduroso presente em machos de *Chrysoperla externa* tratados com thimathoxam. A= machos não tratados; B = machos tratados. TG = tecido gorduroso; (\*) = glândulas acessórias. Barra de 0,5 mm.

Em relação às características morfológicas das fêmeas, não foi observada diferença entre os tratamentos. Os ovócitos imaturos variaram, em média, de  $0,192 \pm 0,02$  mm e  $0,324 \pm 0,02$  mm de comprimento, enquanto os maduros entre de  $0,662 \pm 0,09$  mm e  $0,789 \pm 0,09$  mm. Durante o período de avaliação dos órgãos do aparelho reprodutor das fêmeas, os ovariolos apresentaram coloração verde e ovócitos em diferentes estágios de maturação. Com relação ao número total de ovócitos presentes nos ovários, nas fêmeas apresentaram  $30,6 \pm 0,7$  ovos/fêmea.

Durante o período de avaliação, em que foram realizadas as dissecações diárias, não foi observada diferença estrutural ou de coloração no aparelho reprodutor de fêmeas de *C. externa*. Entretanto, foi observada uma quantidade maior de tecido gorduroso e a coloração da substância apresentou-se diferenciada, de cor branca em vez de translúcida e aparentando consistência viscosa. Em algumas das fêmeas dissecadas, a camada gordurosa apresentou-se tão espessa que dificultou consideravelmente a contagem de ovócitos e a observação de estruturas anatômicas (Figura 4A, B).

Uma hipótese que poderia explicar o aumento no tecido gorduroso seria as modificações metabólicas provocadas pelas doses subletais de produtos químicos, ocasionando uma atividade fisiológica modificada frente ao inseticida. A degradação do inseticida pode ocorrer por vários processos metabólicos, nos quais o princípio ativo do produto é convertido em uma forma não tóxica ou, mesmo, eliminado rapidamente do corpo do inseto (FUKUTO; MALLIPUDI, 1983)

Absorção de doses subletais de inseticida implica em trocas na alocação de fontes entre diferentes processos fisiológicos com incremento ou diminuição de um deles, como a reprodução (SIBLY; CALOW, 1986). Este fator pode esclarecer a relação entre o número alto de ovócitos maduros presentes no

aparelho reprodutor das fêmeas tratadas com thimethoxam e o número inferior de oviposições, uma vez que, realizadas cópulas, os ovócitos maturam e tornam-se prontos para oviposição, ocorrendo a probabilidade de que as fêmeas tenham desviado energia para se detoxificar.

Considerando que todos os processos biológicos são atividades que requerem energia e a energia é limitante, é esperado que haja balanços energéticos entre os processos fisiológicos. Assim sendo, a energia utilizada para o processo de detoxificação diminui a energia disponível para suprir os outros, como a oviposição (CALOW; SIBLY, 1990).

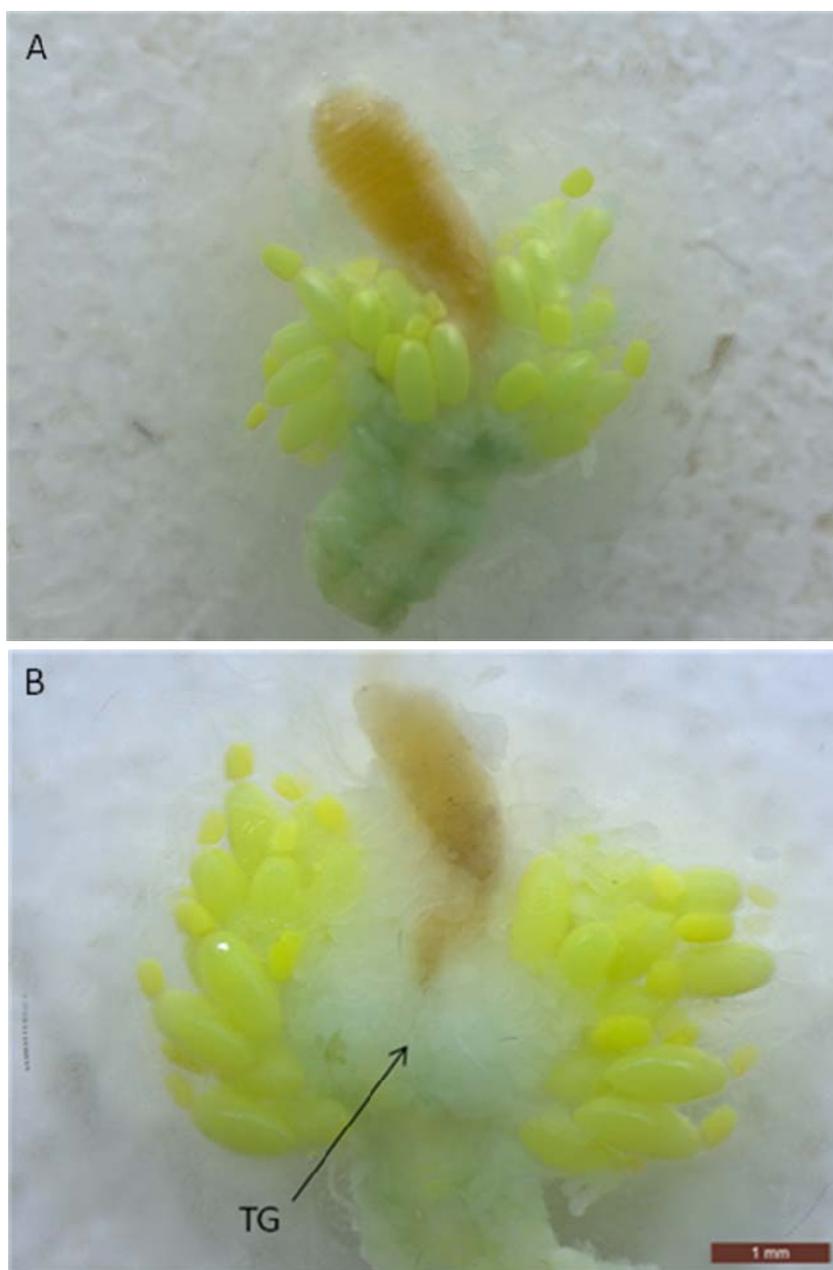


Figura 4. Tecido gorduroso presente em fêmeas de *Chrysoperla externa*. A = fêmeas não tratadas; B = fêmeas tratadas. TG= tecido gorduroso.

É importante salientar que esta hipótese deve ser estudada mais profundamente, a fim de estabelecer informações que auxiliem no entendimento dos efeitos de doses subletais de determinados inseticidas em inimigos naturais, como *C. externa*. De todos os trabalhos consultados envolvendo inseticida com esta espécie, não foram estudadas modificações metabólicas ou nos sistemas enzimáticos envolvidos nos mecanismos de resistência, sendo estes detalhes pouco estudados em pesquisas desta natureza. Porém, estudos deste tipo são imprescindíveis, pois podem resultar em importante informação para o manejo integrado de pragas.

#### **4 CONCLUSÃO**

O inseticida thiamethoxam, na subdose 10 ng i.a/ $\mu$ L, ocasiona diminuição do índice de oviposição de *C. externa*.

O thiamethoxam não provoca mudanças estruturais nos aparelhos reprodutores de machos e fêmeas de *C. externa*.

O número médio de ovócitos não difere em relação aos dias de avaliação.

Os insetos apresentam um acúmulo de tecido gorduroso abdominal, demonstrando modificação nos processos fisiológicos.

**REFERÊNCIAS**

- ANGELINI, R. M.; FREITAS, S. Efeito da escassez de alimento no desenvolvimento pós-embriônico e no potencial reprodutivo de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 65, n. 1, p. 129-137, 2006.
- ASPÖCK, H. Phylogenetic relevance of the genital sclerites of Neuropterida (Insecta: Holometabola). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 97-127, Jan. 2008.
- BEZERRA-SILVA, G. C. D. et al. Aspectos biológicos da fase adulta de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) oriunda de larvas alimentadas com *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 603-610, jul./ago. 2006.
- BOINA, D. R. et al. Influence of posttreatment temperature on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 2, p. 685-691, Apr. 2009.
- BUENO, A. F.; FREITAS, S. Efeito do hexythiazox e imidacloprid sobre ovos larvas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ecosistema**, Espírito Santo, v. 26, p. 74-77, 2003.
- CALOW, P.; SIBLY, R. M. A physiological basis of population processes: ecotoxicological implications. **Functional Ecology**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 283-288, 1990.
- CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2000. p. 91-109.
- CARVALHO, G. A. et al. Seletividade de inseticidas a *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 615-621, out./dez. 2002.

CASTILHOS, R. V. et al. Seletividade de agrotóxicos utilizados em pomares de pêssego a adultos do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 73-80, mar. 2011.

CHAPMAN, R. F. Reproductive system: female. In: CHAPMAN, R. F. (Ed.). **The Insects: Structure and Function**. Cambridge: Cambridge University, 1998. p. 295-324.

CORRALES, N.; CAMPOS, M. Populations, longevity, mortality and fecundity of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) from olive orchards with different agricultural management systems. **Chemosphere**, Oxford, v. 57, n. 11, p. 1.613-1.619, Dec. 2004.

DE BORTOLI, S. A. et al. Desenvolvimento e capacidade predatória de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 6, n. 1, p. 145-152, 2006.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 81-106, 2007.

DIEZ-RODRIGUEZ, Gabriela I. et al . Resíduos de tiametoxam, aldicarbe e de seus metabólitos em folhas de cafeeiro e efeito no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 257-263, Mar./Apr. 2006.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FERREIRA, J. M. G.; CARVALHO, P. A. M. Influência das cigarrinhas das raízes, *Mahanarva fimbriolata*, sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. **Stab**, Piracicaba, v. 19, n. 2, p. 34-35, 2000.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; GARCIA, V.; PARAZZI, V. J. Efeito de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 609-614, 2002.

FRAGOSO, D. B. et al. Ação de inseticidas organofosforados utilizados no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) sobre o ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 463-467, 2002.

FREITAS, S. *Chrysoperla* Steinmann, 1964 (Neuroptera, Chrysopidae): descrição de uma nova espécie do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 385-387, 2003.

FREITAS, S. **Criação de crisopídeos (Bicho-lixeiro) em laboratório**. Jaboticabal: Funep, 2001. 20 p.

FREITAS, S. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P. et al. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 13, p. 209-224.

FUKUTO, T. R.; MALLIPUDI, N. M. Suppression of metabolic resistance through chemical structure modification. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Ed.). **Pest resistance to pesticides: challenges and prospects**. New York: Plenum Press, 1983. p. 557-578.

GODOY, M. S. et al. Seletividade de seis inseticidas utilizados em citros a pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 359-364, 2004.

GODOY, M. S. et al. Seletividade fisiológica de inseticidas em duas espécies de crisopídeos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 45, n. 11, p. 1.253-1.258, 2010.

GONÇALVES, T. D. et al. Qualidade da matéria-prima em função de diferentes níveis de danos promovidos pela cigarrinha-das-raízes. **Stab**, Piracicaba, v. 22, n. 2, p. 29-33, 2003.

LAVAGNINI, T. C.; FREITAS, S. Fecundidade de *Chrysoperla raimundoi* Freitas & Penny, 2001 (Neuroptera: Chrysopidae) oriundos de

larvas criadas com diferentes temperaturas. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 82, n. 3, p. 249-253, mar. 2008.

MACEDO, L. P. M. et al. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento e reprodução de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 91-96, jan./mar. 2003.

MOURA, A. P. et al. Selectivity of pesticides used in integrated apple production to the lacewing, *Chrysoperla externa*. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 10, p. 121, 2010.

MOURA, A. P. et al. Toxicidade de pesticidas recomendados na Produção Integrada de Maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 3, p. 395-404, maio/jun. 2009.

OLIVEIRA, S. A. de et al. Effect of temperature on the interaction between *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) and *Sipha flava* (Hemiptera: Aphididae). **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 107, n. 2, p. 183-188, 2010.

PESSOA, L. G. A.; FREITAS, S. Potencial reprodutivo de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) em função do número de indivíduos por unidade de criação. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 52, n. 3, p. 463-466, set. 2008.

PESSOA, L. G. A.; FREITAS, S.; LOUREIRO, E. S. Adequação de dietas para criação de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen)(Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 723-725, out./dez. 2010.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 214/215, p. 83-89, 2002.

ROCHA, L. C. D. **Seletividade fisiológica de inseticidas utilizados em cultura cafeeira sobre os predadores *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Cryptolaemus montrouzieri***

**Mulsant, 1853 (Coleoptera: Coccinellidae).** 2008. 133 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SIBLY, R. M.; CALOW, P. **Physiological ecology of animals: an evolutionary approach.** Oxford: Blackwell, 1986. 179 p. (Scientific Publications).

SOUZA, J. C. et al. Controle químico da cochonilha-da-raiz, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 29-37, 2007.

SOUZA, J. C. et al. Eficiência de Thiamethoxam no Controle do Bicho-Mineiro do Cafeeiro. I - Influência da Modalidade de Aplicação. **Coffee Science**, Lavras, v. 1, n. 2, p. 143-149, jul./dez. 2006.

STEFANINI, M.; DE MARTINO, C.; ZAMBONI, L. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. **Nature**, London, v. 216, p. 173-174, Oct. 1967.

TAUBER, C.; ALBUQUERQUE, G.; TAUBER, M. Nomenclatorial changes and redescriptions of three of Navás' *Leucochrysa* (Nodita) species (Neuroptera: Chrysopidae). **ZooKeys**, Sofia, n. 92, p. 9-33, 2011.

VILELA, M. **Seletividade de acaricidas usados em cafeeiro para *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae).** 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

VOGT, H. et al. Laboratory method to test effects of plant protection products on larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). In: CANDOLFI, M. P. et al. (Ed.). **Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods.** Reinheim: IOBC/WPRS, 2000. p. 27-44.