



**NÍVIA BORGES PALHARI**

**COMPORTAMENTO, RESPOSTA FUNCIONAL E  
EXPOSIÇÃO DE CRISOPÍDEOS AO FRIO VISANDO AO  
CONTROLE BIOLÓGICO DO BICHO-MINEIRO DO  
CAFEEIRO**

**LAVRAS – MG  
2023**

**NÍVIA BORGES PALHARI**

**COMPORTAMENTO, RESPOSTA FUNCIONAL E EXPOSIÇÃO DE CRISOPÍDEOS  
AO FRIO VISANDO AO CONTROLE BIOLÓGICO DO BICHO-MINEIRO DO  
CAFEEIRO**

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

Profa. Dra. Brígida Souza  
Orientadora

Profa. Dra. Lêda Gonçalves Fernandes  
Coorientadora

Dr. Leopoldo Ferreira de Oliveira Bernardi  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Palhari, Nívia Borges.

Comportamento, resposta funcional e exposição de crisopídeos  
ao frio visando ao controle biológico do bicho-mineiro do cafeeiro /  
Nívia Borges Palhari. - 2023.

71 p.

Orientador(a): Brígida de Souza.

Coorientador(a): Lêda Gonçalves Fernandes, Leopoldo Ferreira  
de Oliveira Bernardi.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Chrysopidae. 2. *Leucoptera coffeella*. 3. *Coffea arabica*. I.  
Souza, Brígida de. II. Fernandes, Lêda Gonçalves. III. Bernardi,  
Leopoldo Ferreira de Oliveira. IV. Título.

**NÍVIA BORGES PALHARI**

**COMPORTAMENTO, RESPOSTA FUNCIONAL E EXPOSIÇÃO DE CRISOPÍDEOS  
AO FRIO VISANDO AO CONTROLE BIOLÓGICO DO BICHO-MINEIRO DO  
CAFEIEIRO**

**BEHAVIOR, FUNCTIONAL RESPONSE AND EXPOSURE OF GREEN  
LACEWINGS TO COLD AIMING THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE  
COFFEE LEAF MINER**

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

APROVADA em 18 de janeiro de 2023.

Dr. Ivan Franco Caixeita

IFSULDEMINAS

Dra. Rosângela Cristina Marucci

UFLA

Profa. Dra. Brígida Souza  
Orientadora

Profa. Dra. Lêda Gonçalves Fernandes  
Coorientadora

Dr. Leopoldo Ferreira de Oliveira Bernardi  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2023**

Dedico à minha família, em especial, Benedita Gregório (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao Departamento de Entomologia da UFLA, e aos professores que o integram, por toda ajuda e conhecimento compartilhado ao longo dessa jornada.

Aos meus pais, Izidoro e Francione, e irmãos, Natália e Nicolas, por todo amparo, incentivo e carinho.

Ao meu companheiro, Kauê, por ter acreditado e incentivado meu sonho, e por compartilhar a vida comigo, com muito amor e respeito. A vida ao seu lado tem sido uma aventura.

À minha querida orientadora, Brígida Souza, por todo conhecimento dividido, tanto quanto à vida pessoal, quanto profissional. Pelos bons momentos e risadas, e pela confiança em mim. Me alegra fazer parte da sua equipe e ser uma de suas “menininhas”.

Ao Dr. Alexandre dos Santos, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso – Campus Cáceres, por aceitar o convite para colaborar nas análises dos dados deste trabalho.

À Dra. Lêda Gonçalves Fernandes, por toda ajuda fornecida desde a graduação, pelo incentivo em trilhar o caminho acadêmico.

Às minhas amigas Delane e Marcela, por fazerem a vida mais iluminada, mesmo nos dias mais escuros. À minha amiga Emanuelle, pelos bons momentos e conexão, mesmo com a distância que nos separa.

À técnica de laboratório Elaine Aparecida Louzada Rodrigues, por todos os “cafezinhos”, risadas e apoio nos experimentos.

E não menos importante, às minhas parceiras, que me forneceram muito amor e diversão: Tica, Shiva e Magri.

O maior de todos os erros é não fazer nada só porque se pode fazer pouco. Faça o que lhe for possível.

**(Sydney Smith)**

## RESUMO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo estudar o comportamento, resposta funcional e exposição de crisopídeos ao frio visando ao controle biológico do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), um dos principais desafios para a cafeicultura brasileira. Já há registros sobre a habilidade de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) predarem os estágios imaturos de *L. coffeella*, e tal fato implica na necessidade de mais investigações a respeito da sua biologia, interação com o inseto-praga, comportamento e dispersão em campo. Tendo em vista que o comportamento de um inimigo natural pode ser limitante para sua seleção como agente de controle biológico, a primeira linha de pesquisa investiga o comportamento de *C. externa* e *C. cubana* frente a pupas do bicho-mineiro. Disponibilizou-se uma pupa de *L. coffeella* para larvas do primeiro, segundo e terceiro instar de ambos predadores e monitorou-se o comportamento das larvas por 25 minutos. Avaliou-se a taxa de predação e os tempos de forrageamento, pausa e manipulação da presa. Adicionalmente, avaliou-se a resposta funcional da larva de segundo instar de *C. cubana* frente às densidades de 1, 2, 4, 8, 16 e 32 pupas do bicho-mineiro. Concluiu-se que as espécies de crisopídeos possuem características comportamentais diferentes, e ambas são capazes de se alimentar das pupas de *L. coffeella*. Ademais, as larvas de segundo instar de *C. cubana* apresentam resposta funcional do Tipo II. A segunda linha abordada se relaciona com anestesia de adultos de *C. externa* para marcação e aplicação da técnica de liberação-recaptura, para estudos sobre a dispersão. Marcar um inseto de tamanho reduzido, como os crisopídeos, pode ser desafiador. Para isso, a anestesia é uma alternativa para proceder a marcação de forma a garantir a qualidade da marca, bem como a integridade morfofisiológica e a sensibilidade dos espécimes submetidos ao processo. Dessa forma, a anestesia através da exposição ao frio é um meio viável de paralisar exemplares para manipulação. Sendo assim, foi desenvolvida uma metodologia que poderá ser facilmente replicada. Nossos resultados apontaram a viabilidade da exposição por quatro minutos a  $-19^{\circ}\text{C}$ , condição que proporciona de 103 a 208 segundos para a manipulação e marcação, sem a perda de insetos.

**Palavras-chave:** Imobilização; Etologia; Chrysopidae; *Leucoptera coffeella*; *Coffea arabica*.

## GENERAL ABSTRACT

The present work aimed to study the behavior, functional response and exposure of green lacewings to cold aiming at the biological control of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), one of the main challenges for the Brazilian coffee growing. There are already records about the ability of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) and *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) to prey on the immature stage of *L. coffeella*, and this fact implies the need for further treatment regarding its biology, interaction with the insect pest, behavior and dispersion in the field. Having in mind that the behavior of a natural enemy can limit its selection as a biological control agent, the first line of research investigates the behavior of *C. externa* and *C. cubana* against the coffee leaf miner pupae. A pupae of *L. coffeella* was available to the first, second and third instar larvae of both predators and the behavior of the larvae was monitored for 25 minutes. It was evaluated the predation rate and the times of foraging, pause and prey manipulation. In addition, the functional response of the second instar larvae of *C. cubana* to the densities of 1, 2, 4, 8, 16 and 32 leaf miner pupae was evaluated. It was concluded that both green lacewings species have different behavioral characteristics, and both are capable of feeding on *L. coffeella* pupae. Furthermore, the second-instar larvae of *C. cubana* present a Type II functional response. The second line addressed is related to anesthesia of adults of *C. externa* for marking and application of the release-recapture technique, for studies about distribution. Marking a small-sized insect such as green lacewings can be challenging. For this, anesthesia is an alternative to proceed with the marking in order to guarantee the quality of the mark, as well as the morphophysiological integrity and the sensitivity of the specimens treated in the process. Thus, anesthesia through exposure to cold is a viable means of paralyzing specimens for manipulation. Therefore, a methodology was developed that can be easily replicated. Our results indicated the viability of exposure for four minutes at -19°C, a condition that provides 103 to 208 seconds for manipulation and marking, without the loss of insects.

**Keywords:** Immobilization; Ethology; Chrysopidae; *Leucoptera coffeella*; *Coffea arabica*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Taxa de predação (%) obtida para os três instares de <i>Ceraeochrysa cubana</i> e <i>Chrysoperla externa</i> frente a pupas do bicho-mineiro, <i>Leucopetera coffeella</i> .....	41
<b>Figura 2.</b> Tempo de forrageamento (segundos) obtido para larvas de <i>Ceraeochrysa cubana</i> e <i>Chrysoperla externa</i> frente a pupas do bicho-mineiro, <i>Leucopetera coffeella</i> , durante o período de 25 minutos.....	43
<b>Figura 3.</b> Tempo de pausa (segundos) obtido para os três instares de <i>Ceraeochrysa cubana</i> e <i>Chrysoperla externa</i> frente a pupas do bicho-mineiro, <i>Leucopetera coffeella</i> .....	44
<b>Figura 4.</b> Tempo de manipulação (segundos) obtido para larvas de <i>Ceraeochrysa cubana</i> e <i>Chrysoperla externa</i> durante o consumo de pupas do bicho-mineiro, <i>Leucopetera coffeella</i> ....	45
<b>Figura 5.</b> Curva da resposta funcional obtida para larvas de segundo instar de <i>Ceraeochrysa cubana</i> alimentadas com pupas do bicho-mineiro, <i>Leucopetera coffeella</i> . .....	47
<b>Figura 6.</b> Tempo de anestesia (segundos) obtido para fêmeas de <i>Chrysoperla externa</i> após exposição a diferentes períodos e temperaturas, conforme os tratamentos T1 a T9, e seus respectivos agrupamentos de médias pelo teste de Tukey. T1: 2', -19°C; T2: 2', 0°C; T3: 2', 12,5 °C; T4: 4', -19°C; T5: 4', 0 °C ; T6: 4', 12,5 °C ; T7: 6', -19°C ; T8: 6', 0 °C ; T9: 6', 12,5 °C. ....	60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Consumo (maior e média) obtido para larvas de segundo instar de <i>Ceraeochrysa cubana</i> alimentadas com pupas do bicho-mineiro, <i>Leucoptera coffeella</i> , ofertado em diferentes densidades.....	47
<b>Tabela 2.</b> Tempo de anestesia (segundos) mínimo, máximo e médio obtido para fêmeas de <i>Chrysoperla externa</i> , em função da duração e da temperatura de exposição, conforme os tratamentos T1, T4 e T7. ....	61

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	16
2.1 A produção de café no Brasil .....	16
2.2 <i>Leucoptera coffeella</i> : o bicho-mineiro .....	17
2.3 Controle Biológico Aumentativo.....	19
2.4 Crisopídeos e o potencial para agroecossistemas cafeeiros.....	20
2.5 Comportamento alimentar e resposta funcional .....	21
2.6 Exposição ao frio como tática de imobilização .....	22
REFERÊNCIAS .....	25
CAPÍTULO 1 .....	34
RESUMO.....	34
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1 Comportamento de larvas de <i>C. externa</i> e <i>C. cubana</i> alimentadas com pupas de <i>L. coffeella</i> .....	38
2.2 Resposta funcional de larvas de <i>C. cubana</i> alimentadas com pupas de <i>L. coffeella</i> .....	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.1 Comportamento de larvas de <i>C. externa</i> e <i>C. cubana</i> alimentadas com pupas de <i>L. coffeella</i> .....	41
3.2 Resposta funcional de larvas de <i>C. cubana</i> alimentadas com pupas de <i>L. coffeella</i> .....	46
4. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS .....	50
CAPÍTULO 2 .....	55
RESUMO.....	55
1. INTRODUÇÃO.....	56
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60

4. CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS .....	66

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é destaque mundial quando se fala sobre café. A cafeicultura é de extrema importância no setor agrícola e influencia no desenvolvimento socioeconômico do país. As terras brasileiras são responsáveis por 37% da produção e 35% das exportações mundiais, gerando aproximadamente 8,4 milhões de empregos em toda sua cadeia produtiva (CNC, 2021; SINGULANO; HIGGINS, 2021). Um dos estados com maior representatividade na produção desse grão é Minas Gerais, apontada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), no último Censo Agropecuário, como líder em café arábica, dado reafirmado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2022), em que a produção total para o estado é de 21.960,1 mil sacas de café beneficiado, na safra 2022, mesmo enfrentando adversidades climáticas.

Embora o cultivo do café seja consolidado no Brasil, existem desafios ao longo de seu ciclo de produção os quais podem limitar a sua produtividade, como o clima, solo, doenças e pragas (VELMOUROUGANE; BHAT, 2017), como o bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), um dos principais problemas da cafeicultura na região Neotropical. Os danos infligidos à planta derivam da fase larval desse microlepidóptero, uma vez que, nessa fase, o inseto se instala no mesófilo foliar onde alimenta-se do parênquima paliçádico, o que implica diretamente na redução da área fotossintética. Posteriormente, as folhas sofrem senescência e caem, influenciando na longevidade da planta. O cafeeiro pode levar, em média, dois anos para ser recuperado (REIS et al., 2002; BORGES et al., 2016; CASTELLANI et al., 2016).

Atualmente, o controle de *L. coffeella* é, majoritariamente, feito através de inseticidas químicos, que podem elevar o custo de produção, além de possuírem risco em potencial para a saúde humana e contaminação ambiental (NASRALA; LACAZ; PIGNATI, 2014; MATIELLO et al., 2015). Ademais, o uso inadequado desses inseticidas pode selecionar insetos resistentes, sendo que, para o bicho-mineiro, é relatada a ocorrência de populações resistentes a fosforados, como clorpirifós e diamida antranílica chlorantraniliprole (FRAGOSO; GUEDES; LADEIRA, 2003; LEITE et al., 2020b). Uma alternativa viável para redução de custos e riscos desse método de controle, e que está de acordo com o manejo integrado de pragas (MIP), é o uso de produtos seletivos e biológicos (BUENO et al., 2012). No Brasil, o mercado de biológicos tem crescido ano após ano, contando, atualmente, com 484 produtos registrados (CROPLIFE BRASIL, 2022) e, nesse contexto, as espécies *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae), que já possui registro e é comercializada, e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861)

(Neuroptera: Chrysopidae), cuja ocorrência e presença em agroecossistemas cafeeiros também são registradas para o Brasil, estão em evidência.

*Chrysoperla externa* tem recebido atenção especial devido a já estar registrada junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso no controle de pulgões, cochonilhas, ácaros e tripes em diversos sistemas produtivos (MAPA, 2022). Pesquisas básicas apontam a eficiência de *C. externa* contra pragas da cafeicultura, como *L. coffeella*, a cochonilha *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae), o ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae) e, mais recentemente, imaturos da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae), o que abriu precedentes para o interesse de empresas comercializarem esse crisopídeo no país (ECOLE et al., 2002; SILVA et al., 2006; BONANI et al., 2009; BOTTI et al., 2021). A espécie *C. cubana* também é uma forte candidata para inclusão como agente de controle biológico, tendo já sido verificada sua habilidade em predar ovos, larvas e pupas de bicho-mineiro (RIBEIRO et al., 2014; MARTINS et al., 2019; MARTINS et al., 2021).

A constatação da habilidade de *C. externa* e *C. cubana* para atuarem como inimigos naturais do bicho-mineiro implica na necessidade de mais investigações a respeito da sua biologia, interação com o inseto-praga, comportamento e dispersão em campo (MAIA et al., 2014). Dessa forma, o presente trabalho investigou duas linhas de interesse cujos resultados poderão ser explorados em pesquisas futuras. A primeira linha estuda o comportamento dessas espécies frente ao bicho-mineiro, e a segunda se relaciona com o desenvolvimento de um método de anestesia para estudos de dispersão em campo.

O comportamento de uma espécie pode ser um fator limitante para a seleção de um inimigo natural para uso no controle biológico, principalmente em se tratando de insetos predadores generalistas, como é o caso dos crisopídeos (LOOMANS, 2021). A compreensão do comportamento desses insetos pode funcionar como uma ferramenta para manipulação do agente em favor do controle biológico. Estudos que avaliam a resposta funcional buscam responder possíveis mudanças no consumo e alterações nas preferências alimentares em relação à disponibilidade de presas (ENRÍQUEZ-GARCIA; NANDINI; SARMA, 2013). Dessa forma, no primeiro capítulo, estudou-se o comportamento alimentar de larvas de *C. externa* e de *C. cubana* frente a pupas de *L. coffeella*, e a resposta funcional para o segundo instar de *C. cubana* alimentada com pupas do bicho-mineiro.

A dispersão é considerada uma característica universal na vida de todos os organismos, e impacta sua dinâmica espacial e temporal (MAZZI E DORN, 2012). A compreensão dos padrões de dispersão é fundamental para os programas de controle biológico aumentativo haja

vista a necessidade de definição de metodologias de liberação em campo. Nesse sentido, o uso do método marcar-liberar-recapturar auxilia no entendimento da dispersão (HAGLER et al., 2002; CULBERT et al., 2020; KIRKPATRICK et al., 2020). A marcação de insetos pode ocorrer de forma individual ou em massa, entretanto, cada espécie pode requerer uma metodologia que atenda à demanda com mais facilidade (HAGLER E JACKSON, 2001; LORU et al., 2013). A imobilização de indivíduos diminutos pode ser necessária para manipulação e marcação sem ocasionar danos, e uma das formas de anestesia aplicada em diversas espécies é através do coma frio, um estado reversível de paralisia (HAZELL E BALE, 2011). Assim, no segundo capítulo, investigou-se uma metodologia de anestesia através do frio para adultos de crisopídeos, fácil e possível de ser replicada em qualquer lugar, com a finalidade de auxiliar em estudos de dispersão desses insetos.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A produção de café no Brasil

O café é uma planta pertencente à família Rubiaceae e ao gênero *Coffea* Linnaeus, 1753 e especula-se que seu centro de origem genética seja o sudoeste da Etiópia. Nesse gênero existem três espécies utilizadas para a produção comercial: *C. arabica*, *C. canephora* e *C. liberica*, entretanto, no Brasil, apenas duas são mais utilizadas para a produção, a arábica e canéfora (DAVIS et al., 2006; MELESE; KOLECH, 2021). Através dos grãos de café se produz uma das bebidas mais apreciadas, seja pelo sabor, aroma ou propriedades estimulantes. Além disso, é uma das bebidas mais consumidas, sendo que em 2019, o consumo diário de xícaras de café foi estimado em 2,25 bilhões ao redor do mundo (TORRES-VALENZUELA; SERNA-JIMÉNEZ; MARTÍNEZ, 2019).

Dados da Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2021) indicam que o Brasil é o maior consumidor de cafés nacionais, com um consumo per capita, em 2021, de 6,06 kg/hab.ano de café cru e 4,84 kg/hab.ano de café torrado, com o consumo interno se consolidando em 21,5 milhões de sacas. Segundo Carvalho et al. (2018), entre 20 e 25 milhões de famílias, em mais de 5 milhões de fazendas, em 50 países em desenvolvimento, atuam com a produção e comercialização do café. Para o Brasil, a cafeicultura é considerada uma atividade de extrema importância no setor agrícola, executando uma função de destaque para o desenvolvimento socioeconômico do país (FEHR et al., 2012). O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador de café, responsável por 37% da produção e 35% das exportações mundiais. Segundo o Conselho Nacional do Café (CNC), a produção dessa *commodity* gera aproximadamente 8,4 milhões de empregos, distribuídos em toda cadeia produtiva, gerando cerca de 5,6 bilhões em divisas para o país (CNC, 2021; SINGULANO; HIGGINS, 2021).

No último Censo Agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017) foi apontada a liderança do estado de Minas Gerais como maior produtor de café arábica do país. Este dado é reafirmado pelo quarto levantamento da safra 2022, elaborado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2022), em que a produção, mesmo com redução de 0,8% em comparação ao volume total colhido na safra anterior, ainda é maior comparado com outros estados.

Ainda segundo a CONAB (2022), a produção de arábica em todo país está estimada em 32.720,8 mil sacas de café beneficiado, um incremento de 4,1% em relação à safra anterior. Já para a produção de conilon, totalizaram-se 18.199,3 mil sacas de café, evidenciando um

aumento de 11,7% em relação à obtida na safra 2021. Essas duas espécies, *C. arabica* e *C. canefora*, são utilizadas na indústria para a fabricação dos chamados *blends*, misturas para que o produto chegue ao consumidor com um preço mais atraente, fato que justifica a grande produção de ambas no Brasil (CAGLIANI et al., 2013).

Embora a produção de café no Brasil seja a maior do mundo, o seu cultivo enfrenta adversidades que podem ser limitantes à sua produtividade: o clima, a temperatura, o solo, a adubação, variedades utilizadas, doenças e pragas (VELMOUROUGANE; BHAT, 2017). Segundo Parra e Reis (2013), até meados de 1970 a cafeicultura brasileira possuía, como maior desafio, o controle da broca-do-café, *H. hampei*, entretanto, com o surgimento e disseminação do agente patológico *Hemileia vastatrix*, a ferrugem do café, o sistema precisou passar por modificações. Essas alterações acarretaram na modificação do agroecossistema cafeeiro e, conseqüentemente, na entomofauna, com o surgimento de novas pragas, como o bicho-mineiro, *L. coffeella*.

## **2.2 *Leucoptera coffeella*: o bicho-mineiro**

Dentre as principais pragas do cafeeiro na região Neotropical, e particularmente no Brasil, está *L. coffeella*, conhecido popularmente como bicho-mineiro. A disseminação da espécie na América do Sul é desconhecida, entretanto, o primeiro registro desse microlepidóptero está associado às Antilhas do Caribe (GREEN, 1984; PANTOJA-GOMEZ et al., 2019; LEITE et al., 2020a). O bicho-mineiro é uma espécie monófaga, portanto, se alimenta exclusivamente das plantas de café. Os danos são causados pelo hábito alimentar das larvas, estágio cuja duração é diretamente influenciada por condições climáticas, de modo que regiões que enfrentam regimes de estiagem, podem sofrer mais com esta praga (GUERREIRO FILHO, 2006).

O bicho-mineiro é um inseto holometábolo, ou seja, passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulta, sendo que as larvas passam por quatro instares. A mariposa mede cerca de 6,5 mm de envergadura, possui coloração prateada, asas anteriores e posteriores franjadas. O ciclo de vida dura entre 19 e 87 dias, dependendo, especialmente, da temperatura e umidade relativa do ar. À 25°C, esse período corresponde, em média, a 22 dias (SILVA et al., 2014; DANTAS et al., 2021; MOTTA et al., 2021).

Na fase larval, esses insetos se alojam no mesófilo foliar e se alimentam do parênquima paliçádico, ocasionando uma mina, comportamento que concede o nome popular ao inseto. Ao final do desenvolvimento larval, abandonam a mina e produzem um fio de seda que serve como

auxílio para migrar para a região baixa da planta, onde, na face dorsal das folhas, constroem sua crisálida em formato de X e passam para a fase de pupa (SILVA et al., 2014). Os prejuízos causados decorrem da redução da área fotossintética, seguida pelo definhamento e queda das folhas, que influenciam negativamente na longevidade da planta e podem reduzir a produção de frutos em até 50%. A desfolha ocasionada pode impactar as plantas de tal forma que se estima uma média de dois anos para que possam se recuperar (REIS et al., 2002; BORGES et al., 2016; CASTELLANI et al., 2016). Além disso, apontam-se perdas entre 30 e 70% na produção, acarretando em danos econômicos, uma vez que compromete a produção e qualidade dos grãos, com conseqüente impacto sobre a cadeia produtiva (ALMEIDA et al., 2020).

É comum o aumento da abundância de bicho-mineiro em plantações de café com maior espaçamento, devido ao maior arejamento, condição que favorece seu desenvolvimento e sobrevivência. Em regiões mais quentes, o número de indivíduos aumenta, sendo necessário maior atenção no monitoramento e controle (SOUZA; REIS; RIGITANO, 1998; CUSTÓDIO et al., 2008; PARRA; REIS, 2013). Além da temperatura e da umidade relativa do ar, outros fatores, como o uso excessivo de produtos cúpricos e de baixa seletividade, podem favorecer a instalação e aumento populacional do bicho-mineiro (MESQUITA et al., 2016).

Atualmente, o método mais utilizado para o controle desse inseto é por meio de inseticidas químicos, entretanto, o uso de produtos sintéticos representa potencial risco de contaminação ambiental e humana (NASRALA; LACAZ; PIGNATI, 2014; MATIELLO et al., 2015). Segundo Castellani et al. (2016), durante um ano podem ocorrer até duas aplicações de inseticidas sistêmicos via solo (*drench*) e mais 15 pulverizações, totalizando 17 aplicações visando ao controle dessa praga.

O uso inadequado e a forma indiscriminada de aplicação de inseticidas podem selecionar populações resistentes ao princípio ativo utilizado no controle. Pode-se definir que a resistência é decorrente da seleção de indivíduos que possuem a predisposição gênica a sobreviver sob doses que são consideradas letais para a maioria da população suscetível (LI et al., 2007). Na literatura, é possível encontrar diversos relatos a respeito da resistência do bicho-mineiro a inseticidas fosforados, como o clorpirifós, dissulfotom, etiom e paratiom-metílico, e a diamida antranílica chlorantraniliprole (FRAGOSO; GUEDES; LADEIRA, 2003; LEITE et al., 2020b).

O uso excessivo de defensivos agrícolas também afeta diretamente os pilares do manejo integrado de pragas (MIP), que visa promover o equilíbrio do agroecossistema através da associação de diversas táticas de manejo (PANIZZI, 2006; NOGUEIRA; MELVILE, 2020). A utilização do MIP possibilita a redução do uso de defensivos sintéticos; ademais, há a

valorização do uso de produtos seletivos e biológicos (BUENO et al., 2012), num momento em que a certificação de cafés possibilita a ocupação de novos mercados, inclusive o internacional, com base, especialmente, na sustentabilidade da produção (CERTIFICA MINAS, 2023).

### 2.3 Controle Biológico Aumentativo

Entre as estratégias de manejo que menos impactam o meio ambiente e a saúde humana, e que são coerentes com preceitos do MIP, está o controle biológico aumentativo. Essa estratégia utiliza inimigos naturais, tais como entomopatógenos, parasitoides e predadores, que são criados de forma massal em laboratórios e liberados em campo visando ao controle de artrópodes pragas (COCK et al., 2010; VAN LENTEREN, 2012).

Nos últimos anos, no Brasil, houve um incremento de bio defensivos aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de modo que, em 2020, o percentual de agentes de controle biológico eram de 85% em relação a 15% de substâncias químicas naturais, em que os insetos participavam com 15,5%. Atualmente, o cenário de macrorganismos representa 17% dos bio defensivos registrados no país (CROPLIFE BRASIL, 2020; CROPLIFE BRASIL, 2022). Segundo Van Lenteren et al. (2018), o acréscimo anual do mercado de agentes de controle biológico é resultante de uma série de fatores, a começar pelo fato de que são menos prejudiciais à saúde da comunidade agrícola, não há intervalo de colheita ou período de reentrada na área, e ausência de fitotoxidez para a cultura.

No Brasil, há diversos casos de sucesso de controle a partir do uso de macrobiológicos, como os parasitoides *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) no cultivo da cana-de-açúcar e *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) contra espécies da ordem Lepidoptera, e os predadores *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Hemiptera: Anthocoridae) para o controle de tripes (Thysanoptera) e, mais recentemente, o crisopídeo *C. externa* para o controle da mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), pulgão-verde, *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae), pulgão do algodoeiro, *Aphis gossypii* Glöver, 1877 (Hemiptera: Aphididae), entre outros (PARRA, 2019; BRASIL, 2021). Os crisopídeos são predadores enquanto larvas, alimentando-se de diversos artrópodes com status de pragas economicamente relevantes (CARVALHO; SOUZA, 2009; PAPPAS; BROUFAS; KOVEOS, 2011).

Dados revelam que, até novembro de 2022, haviam sido registrados mais sete bio defensivos, sendo um microrganismo, dois bioquímicos e quatro macrorganismos. Ao todo, o Brasil conta com 484 produtos biológicos registrados (CROPLIFE BRASIL, 2022). Para que

esses números continuem crescendo, é preciso que haja novas pesquisas que visem o uso de potenciais inimigos naturais de ocorrência no país, e que sirvam de fundamento para a aplicação do manejo de pragas.

#### **2.4 Crisopídeos e o potencial para agroecossistemas cafeeiros**

Dentre os indivíduos da ordem Neuroptera estão os crisopídeos. Esses insetos pertencem à família Chrysopidae, a qual apresenta uma relativa abundância na quantidade de gêneros registrados para a região Neotropical. Essa família contém, aproximadamente, 1400 espécies e subespécies, com mais de 80 gêneros e subgêneros, sendo *Chrysoperla* o gênero mais aplicado no controle biológico aumentativo em diversos países (OSWALD; MACHADO, 2018).

De acordo com Freitas e Morales (2009), o gênero *Chrysoperla* possui ao menos 36 espécies, sendo que, no Brasil, são registradas *C. externa* (Hagen, 1861), *C. defreitasi* (Brooks, 1994), *C. raimundoi* (Freitas e Penny, 2001) e *C. genanigra* (Freitas, 2003). A importância desse grupo deve-se ao fato de utilizar diversas espécies de pragas como presa, aliado à alta capacidade predatória e adaptação em diversos ecossistemas, o que o caracteriza positivamente como um agente de controle. A espécie *C. externa* está distribuída geograficamente desde o sul dos Estados Unidos até o sul da América do Sul, e há registros de seu uso em diversos sistemas produtivos, como em frutas, ornamentais, vegetais e cultivos protegidos, para o controle de pulgões, cochonilhas, ácaros, mosca-branca e tripes (ADAMS; PENNY, 1985; BROOKS, 1994; FREITAS, 2002; COSTA et al., 2010).

Já o gênero *Ceraeochrysa* abriga em torno de 60 espécies, sendo apontado como o maior e talvez o mais bem estudado da região Neotropical. Pesquisas realizadas nos últimos quarenta anos investigam caracteres taxonômicos, buscam elucidar a biologia e fornecer informações que possam embasar o uso de espécies do gênero no manejo de pragas (SOSA-DUQUE; TAUBER, 2021). Dentre tais espécies, está *C. cubana*, originária de Cuba, com ocorrência na América Central, em países como Nicarágua, Guatemala e Panamá, e na América do Sul, com registro para o Brasil, Guiana e Bolívia (FREITAS; PENNY; ADAMS, 2009). A espécie se caracteriza pela alta voracidade, estando associada ao controle populacional de afídeos, psilídeos, cochonilhas, ácaros e mosca-branca (CARVALHO; SOUZA, 2009; PAPPAS; BROUFAS; KOVEOS, 2011).

Os ovos de crisopídeos são tipicamente ovais, fixos em um delicado fio, que por sua vez, fixa-se ao substrato. O tamanho dos ovos varia de acordo com a espécie, mas geralmente está entre 0,7 e 2,3 mm. A eclosão dá origem a uma larva campodeiforme, a qual passa por três

instares antes de empupar. Da pupa emerge um adulto tipicamente verde, apesar de ser possível a variação da cor, com asas membranosas e corpo delicado (GEPP, 1984; BARNARD, 1984).

Algumas espécies de crisopídeos apresentam o comportamento característico de alocar fragmentos encontrados no ambiente e resquícios de suas presas sobre o dorso, como ocorre nas espécies do gênero *Ceraeochrysa*. Devido a esse hábito, esses insetos recebem o nome popular de “bicho-lixeiro”. Entretanto, as larvas do gênero *Chrysoperla* não possuem esse comportamento, sendo conhecidas por larvas nuas (ADAMS; PENNY, 1985; LIRA; LUNA, 2006).

A partir de pesquisas desenvolvidas no Brasil, demonstrou-se a capacidade de *C. externa* em predar pragas relevantes na cafeicultura, como *L. coffeella* (ECOLE et al., 2002), a cochonilha *P. citri* (BONANI et al., 2009), o ácaro *B. phoenicis* (SILVA et al., 2006) e, mais recentemente, a fase imatura da broca-do-café (BOTTI et al., 2021). Essas constatações abriram precedente para um maior interesse em incluir esse crisopídeo na lista de agentes de controle biológico a serem comercializados para aplicação em lavouras cafeeiras. Aliado a isso, a intensa demanda por alternativas ao manejo convencional na cafeicultura, instituições de pesquisa e empresas têm demonstrado empenho em desenvolver estudos com *C. externa*, a fim de gerar um protocolo para a comercialização e liberação em campo. Atualmente, em 2023, três empresas possuem número de registro para a comercialização dessa espécie, sendo elas: Topbio – Insumos Biológicos, Indústria e Comércio Ltda, Associação Mineira dos Produtores de Algodão – AMIPA, e JB Biotecnologia Ltda (AGROFIT, 2022).

Além de *C. externa*, a espécie *C. cubana* é uma forte candidata para a utilização em estratégias de manejo de pragas no Brasil. A sua presença em agroecossistemas cafeeiros já foi constatada por Ribeiro et al. (2014) e Martins et al. (2019), além da sua habilidade em predar ovos, larvas e pupas de bicho-mineiro já ter sido verificada por Martins et al. (2021). Todos esses estudos apontam para o potencial do uso de ambas espécies de crisopídeos em agroecossistemas cafeeiros, entretanto, são necessárias mais investigações a respeito da biologia, interação com o inseto-praga, comportamento e a dispersão desses predadores em campo.

## **2.5 Comportamento alimentar e resposta funcional**

A busca por soluções biológicas para o controle de pragas tem crescido nos últimos anos, com foco em agentes micro e microbiológicos. Para selecionar indivíduos com potencial para exercer tal função, é necessário investigar possíveis riscos e eficácia, incluindo a descrição

de características morfológicas, fisiológicas e, principalmente, comportamentais, que podem ser um fator limitante para a seleção (LOOMANS, 2021).

O comportamento alimentar dos insetos pode ser distinguido em especialista e generalista. Com relação ao controle biológico aumentativo, Parshad et al. (2016) discutem sobre algumas teorias sobre o estabelecimento de predadores generalistas como agentes de controle devido à interferência intraguilda. Entretanto, evidências demonstram a habilidade positiva desses indivíduos para o controle de pragas, tanto que, nos últimos 20 anos, o uso de espécies generalistas tem crescido de forma significativa (KRUIDHOF; ELMER, 2020). Com relação à dispersão de insetos, e citando-se os crisopídeos como exemplo, relata-se que o sucesso da colonização desses insetos em diferentes regiões ao redor do mundo pode estar associado ao seu comportamento alimentar generalista (LUNA et al., 2018).

De acordo com Evangelin, Horne e Jino (2015), a compreensão sobre o comportamento alimentar de insetos predadores e sua relação com a presa é relevante para a manipulação dessa relação em benefício do controle biológico, além de auxiliar em protocolos para um bom posicionamento do agente em campo por ocasião das liberações. Estudos que avaliam esse tipo de comportamento buscam responder dois pontos fundamentais, quais sejam, possíveis mudanças no consumo da presa e alterações nas preferências alimentares em relação à disponibilidade de presas (ENRÍQUEZ-GARCIA; NANDINI; SARMA, 2013).

A alteração no comportamento decorrente da maior ou menor oferta de presa é chamada de resposta funcional. Conforme descrito por Holling (1959), existem três tipos de resposta: Tipo I) aponta um acréscimo linear no número de presas consumidas até que alcance um valor máximo, à medida que a densidade de presa aumenta; Tipo II) há um crescimento no número de presas consumidas em função da maior oferta, até que se atinja uma determinada densidade a partir da qual o consumo diminui até estabilizar; Tipo III) o consumo cresce de forma sigmoide devido ao aumento do consumo no início, seguido de um decréscimo associado ao aumento da densidade de presas.

Apesar dos estudos existentes, que tratam do consumo de bicho-mineiro pelas espécies *C. externa* e *C. cubana* (DAMI et al., 2018; MARTINS et al., 2021), até o momento, não há a descrição do comportamento desses predadores frente a essa praga. A compreensão do comportamento de agentes de controle biológico assume relevância na medida em que auxilia sobremaneira em programas de liberação em campo (BATOOL et al., 2014).

## **2.6 Exposição ao frio como tática de imobilização**

Entre os estudos de importância e que pouco se têm relato para crisopídeos está a dispersão em campo. Segundo Mazzi e Dorn (2012), a dispersão é uma característica universal na vida dos organismos, que impacta diretamente a dinâmica espacial e temporal das populações. A capacidade de deslocamento de um inseto exerce influência sobre sua sobrevivência e colonização das áreas a serem exploradas, e pode estar relacionada com sinais químicos dispersos no ambiente, como voláteis de plantas e feromônios, e outros voláteis responsáveis pela descoberta de hospedeiros e presas (ELKINTON; CARDÉ, 1984; LOXDALE E LUSHAI, 1999). Entretanto, é necessário considerar que a dispersão também está ligada a diversos outros fatores, como os distúrbios ambientais, causados por processos e interferência humana, mudanças climáticas, perda ou fragmentação dos habitats, para fins de driblar a competição e a endogamia. Dessa forma, o impulso de dispersão não ocorre necessariamente por um fator, mas muitas vezes pela ação conjunta desses (LÉNA et al., 1998; CLOBERT et al., 2001).

A compreensão dos padrões de dispersão é fundamental para o uso eficiente em programas de controle biológico aumentativo, no entanto, os estudos desses padrões estão concentrados em parasitoides, sendo necessária a investigação para predadores. Nesse sentido, ensaios utilizando o método de marcar-liberar-recapturar podem auxiliar no entendimento da dispersão, padrões de movimento e taxas de mortalidade nas áreas de liberação (HAGLER et al., 2002; CULBERT et al., 2020; KIRKPATRICK et al., 2020).

Diversos são os estudos utilizando a marcação em insetos para, posteriormente, liberar e recapturar, sendo notoriamente mais aplicado para espécies da ordem Diptera, como *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Culicidae) e *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Drosophilidae). Entretanto, há um crescente empenho em aplicar essa técnica para outras ordens, como Coleoptera, Hymenoptera e Lepidoptera (BELLINI et al., 2010; WILLIAMS; COPPEN; WILLIAMS, 2018; VACAS et al., 2019; GURDASANI et al., 2021; BRIGGS et al., 2022).

A marcação de insetos pode ocorrer de forma individual ou em massa, sendo, essa última, geralmente feita através de pigmento em pó, tinta ou corante. Entretanto, é necessário avaliar as técnicas para cada táxon, pois a marcação não é prática para todas as espécies, tornando-se necessário o desenvolvimento de metodologias de acordo com as necessidades da pesquisa (HAGLER e JACKSON, 2001; LORU et al., 2013). Para que a marcação seja feita com maior precisão, para determinadas espécies é necessário que haja a imobilização do inseto de modo a facilitar a manipulação. A imobilização pode ser feita através da exposição ao frio ou por meio de anestésicos, como o clorofórmio e o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). No entanto,

estudos apontam que a aplicação desses anestésicos pode ter impactos negativos sobre os insetos (BUSVINE, 1957; HARRIS et al., 1965).

Por outro lado, quando expostos ao frio, a maioria dos insetos tende a diminuir sua atividade e perde sua capacidade de movimentação e, em uma dada temperatura, eles entram em um estado reversível de paralisia: o coma frio (HAZELL; BALE, 2011). O coma frio pode ser entendido como uma perda inicial da função neuromuscular e está associada à diminuição do potencial de membrana e redução da excitação do sistema neuromuscular (OVERGAARD; MACMILLAN, 2017). Diversos estudos demonstram a possibilidade de exposição ao frio para a imobilização de insetos de forma a auxiliar no manuseio, como em *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) (HORI et al., 2006), *A. albopictus* (ZHANG et al., 2020), *Anopheles arabiensis* Patton, 1905 (Diptera: Culicidae) (CULBERT et al., 2017) e larvas de *Ulomoides dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae) (HOFFMANN et al., 2005). Para espécies de crisopídeos, inclusive *C. externa*, não há estudos sobre a anestesia com o uso dessa metodologia.

## REFERÊNCIAS

- ABIC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Indicadores da Indústria de Café 2021**. Rio de Janeiro: ABIC, 2021.
- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D. Neuroptera of the amazon basin: part II a. introduction and Chrysopini. **Acta Amazonica**, v. 15, n. 3/4, p. 413-79, 1985.
- AGROFIT – Sistema de agrotóxicos fitossanitários. **Consulta aberta**. [S.I.]. Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 02 dez. 2022.
- ALMEIDA, J. D. de; MOTTA, I. de O.; VIDAL, L. de A.; BÍLIO, J. F.; PUPE, J. M.; VEIGA, A. D.; CARVALHO, C. H. S. de; LOPES, R. B.; ROCHA, T. L.; SILVA, L. P. da; PIJOL-LUZ, J. R. P.; FREIRE, E. V. S. A. **Bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*): uma revisão sobre o inseto e perspectivas para o manejo da praga**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020. 39p.
- BARNARD, P. C. Adult morphology related to classification. In: CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk Publishes, p. 09-18, 1984.
- BATOOL, A.; ABDULLAH, K.; MAMOON-UR-RASHID, M.; KHATTAK, M. K.; ABBAS, S. S. Effect of prey density on biology and functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 46, n. 1, 2014.
- BELLINI, R.; ALBIERI, A.; BALESTRINO, F.; CARRIERI, M.; PORRETTA, D.; URBANELLI, S.; ... & MAINI, S. (2014). Dispersal and survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) males in Italian urban areas and significance for sterile insect technique application. **Journal of Medical Entomology**, v.47, n. 6, p. 1082-1091, 2014.
- BONANI, J. P.; SOUZA, B.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; CORREA, L. R. B. Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) e *Toxoptera citricida* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 31-38, 2009.
- BORGES, F.R.P.; PASQUALOTTO, A.T.; CINTRA, W.; PARENTI, M.; FERNANDES, L.H.M. Avaliação do controle da broca do café e bicho mineiro com o uso de inseticidas do grupo químico das diamidas antranílicas. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 42., Serra Negra, 2016. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2016. (1 CD-ROM), 2p.
- BRASIL. Portaria nº 363, de 14 de julho de 2021. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 136, 21 jul. 2021. ISSN 1677-7042.
- BRIGGS, E. L.; BARANSKI, C.; MÜNZER SCHAETZ, O.; GARRISON, G.; COLLAZO, J. A.; YOUNGSTEADT, E. Estimating bee abundance: can mark-recapture methods validate common sampling protocols?. **Apidologie**, v. 53, n. 1, p. 1-24, 2022.

BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L.; HIROSE, E.; MOSCARDI, F.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; ROGGIA, S. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Org.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, p. 37-74, 2012.

BUSVINE, J.R. A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. **Commonwealth Institute of Entomology**, London. 1957. 208 p.

CAGLIANI, L. R.; PELLEGRINO, G.; GIUGNO, G.; CONSONNI, R. Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends. **Talanta**, v.106, p. 169-173, 2013.

CARVALHO, A. C.; CARVALHO, D. F.; FILGUEIRAS, G. C.; ARAÚJO, A. C.; DE CARVALHO, A. V. Panorama e importância econômica do café no mercado internacional de commodities agrícolas: uma análise espectral. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 2, p. 223-249, 2018.

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. 430p.

CASTELLANI, M. A.; MELO, T. L.; MENEZES, M. A. P. Desafios para o Manejo do Bicho- mineiro. **Aiba Rural**, Barreiras, n. 5, p. 40-41, 2016.

CERTIFICA MINAS. **Certifica Minas Café**. [S.I.]. 2023. Disponível em: <http://www.agricultura.mg.gov.br/certificaminas/website/index.php/pages/cert-cafe> . Acesso em 5 jan. 2023.

CLOBERT J.; DANCHIN E.; DHONDT A. A.; NICHOLS J. D. **Dispersal**. New York, NY, USA: Oxford University Press, 2001.

CNC – CONSELHO NACIONAL DO CAFÉ. **Relatório de gestão 2021: avanços, desafios e conquistas**. Brasília, DF, 2021. 74p. Disponível em: <https://cncafe.com.br/wp-content/uploads/RELATORIO-DE-GESTAO-CNC-2021.pdf>. Acesso em 03 set. 2022.

COCK, M. J.; VAN LENTEREN, J. C.; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; CÔNSOLI, F.L.; HASS, F.; MASON, P.G.; PARRA, J. R. P. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control?. **BioControl**, v. 55, n. 2, p. 199-218, 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café**. Brasília, DF, v.9, n. 4, 2022. 52p.

CROPLIFE BRASIL. **Novos produtos biológicos aprovados no Brasil**. [S.I.] 2020. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/novos-produtos-biologicos-aprovados-no-brasil/>. Acesso em 10 out. 2021.

CROPLIFE BRASIL. **Produtos biológicos registrados no Brasil**. [S.I.] 2022. Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/wp-content/uploads/2020/11/2022-04-Produtos-biologicos-registrados.pdf>>. Acesso em 14 nov. 2022.

CULBERT, N.J.; KAISER, M.; VENTER, N.; VREYSEN, M. J; GILLES, J.R.; BOUYER, J. A standardized method of marking male mosquitoes with fluorescent dust. **Parasites & vectors**, v.13, p.1-11, 2020.

CULBERT, N.J.; LEES, R.S.; VREYSEN, M.J.B; DARBY, A. C.; GILLES, J.R. Optimized conditions for handling and transport of male *Anopheles arabiensis*: effects of low temperature, compaction, and ventilation on male quality. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.164, p.276–283, 2017.

CUSTÓDIO, A. A.; MORAES, J. C.; LIMA, L. A.; DE FARIA, M. A.; GOMES, N. M. Incidência do bicho-mineiro do cafeeiro em lavoura irrigada sob pivô central. **Coffee Science**, v. 4, n. 1, p. 16-26, 2009.

DAMI, B.G; ALVES, E.E.S.; SILVA, V.P.; OLIVEIRAS, R.H.R; VACARI A.M. Comportamento dos predadores *Chrysoperla externa* e *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) consumindo bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 44., 2018, Franca. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2018, 1p.

DANTAS, J.; MOTTA, I. O.; VIDAL, L. A.; NASCIMENTO, E. F.; BILIO, J., PUPE, J. M.; ... & ALBUQUERQUE, É. V. A comprehensive review of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) - a major pest for the coffee crop in Brazil and others neotropical countries. **Insects**, v. 12, n. 12, p. 1130.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 4, p. 465-512, 2006.

ECOLE, C. C.; SILVA, R. A.; LOUZADA, J. N.; MORAES, J. C.; BARBOSA, L. R.; AMBROGI, B. G. Predação de ovos, larvas e pupas do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) por *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 318-324, mar./abr. 2002.

ELKINTON, J. S.; CARDÉ, R. T. Odor dispersion. In: BELL, W. J.; CARDÉ, R. T. (Ed.) **Chemical Ecology of Insects**. Chapman and Hall, p. 73-91, 1984.

ENRÍQUEZ-GARCÍA, C.; NANDINI, S.; SARMA, S. S. S. Feeding behavior of *Acanthocyclops americanus* (Marsh) (Copepoda: Cyclopoida). **Journal of Natural History**, v. 47, n. 5, p. 853–862, 2013.

EVANGELIN, G.; HORNE, B.; JINO, M. Feeding behavior of *Antilochus coquebertii* (Hemiptera: Pyrrhocoridae) and its systematic positioning. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 1, p. 199-203, 2015.

FEHR, L. C. F.; DUARTE, S.L; TAVARES, M; REIS, E. A. Análise temporal das variáveis de custos da cultura do café arábica nas principais regiões produtoras do Brasil. **Custos e Agronegócio**, v. 8, n. 1, 2012.

FRAGOSO, D. B.; GUEDES, R. N. C.; LADEIRA, J. A. Seleção na evolução de resistência a organofosforados em *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 329-334, 2003. LEITE et al., 2020a

FREITAS, S.; PENNY, N. D.; ADAMS, P. A. A revision of the new world genus *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Proceedings of the California Academy of Sciences**, v. 60, n. 15, p.503, 2009.

GEPP, J. Morphology and anatomy of the preimaginal stages of Chrysopidae: a short survey. In: CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk Publishes, p. 09-18, 1984.

GREEN, D. S. A proposed origin of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Guerin-Meneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Bulletin of the Entomological Society of America**, v. 30, p. 30–31, 1984.

GUERREIRO FILHO, O. Coffee leaf miner resistance. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 109-117, 2006.

GURDASANI, K.; LI, L.; RAFTER, M. A.; DAGLISH, G. J.; WALTER, G. H. Nanoparticles as potential external markers for mark–release–recapture studies on *Tribolium castaneum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 169, n. 6, p. 575-581, 2021.

HAGLER, J.R.; JACKSON, C.G. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. **Annual review of entomology**, v.46, p. 511-543, 2001.

HAGLER, J.R.; JACKSON, C.G.; HENNEBERRY, T.J.; GOULD, J.R. Parasitoid mark-release-recapture techniques-II. Development and application of a protein marking technique for *Eretmocerus* spp., parasitoids of *Bemisia argentifolii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p.661-675, 2002.

HARRIS, R.L.; HOFFMAN, R.A.; FRAZAR, E.D. Chilling vs. other methods of immobilizing flies. **Journal of Economic Entomology**, v.58, p.379-380, 1965.

HOFFMANN, L.G.; TEXEIRA, J.S.G; CORSEUIL, E. Imobilização de larvas de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) sob baixa temperatura. **Biociências**, v.13, p.119-121, 2005.

HOLLING, C.S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 91, n. 7, p. 385-398, 1959.

HORI, S.; TAKEUCHI, H.; ARIKAWA, K.; KINOSHITA, M.; ICHIKAWA, N.; SASAKI, M.; KUBO, T. Associative visual learning, color discrimination, and chromatic adaptation in the harnessed honeybee *Apis mellifera* L.. **Journal of Comparative Physiology**, v. 92, p.691–700, 2006.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: [https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo\\_agro/resultadosagro/index.html](https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html). Acesso em 03 set. 2022.

KIRKPATRICK, D.M.; RICE, K.B.; IBRAHIM, A.; FLEISCHER, S.J.; TOOKER, J.F.; TABB, A.; MEDEIROS, H.; MORRISON, W.R.; LESKEY, T.C. The Influence of Marking Methods on Mobility, Survivorship, and Field Recovery of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) Adults and Nymphs. **Environmental Entomology**, v.49, p.1026-1031, 2020.

KRUIDHOF, H. M.; ELMER, W. H. Cultural Methods for Greenhouse Pest and Disease Management. In: GULLINO, M. L.; ALBAJES, R.; NICOT, P. C. (Eds.). **Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops**. Swizerland: Springer, 2009.

LEITE, S. A.; DOS SANTOS, M. P.; RESENDE-SILVA, G. A.; DA COSTA, D. R.; MOREIRA, A. A.; LEMOS, O. L.; GUEDES, R.N.C.; CASTELLANI, M. A. Area-Wide survey of chlorantraniliprole resistance and control failure likelihood of the Neotropical coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 3, p. 1399-1410, 2020b.

LEITE, S. A.; GUEDES, R. N. C.; SANTOS, M. P. D.; COSTA, D. R. D.; MOREIRA, A. A.; MATSUMOTO, S. N.; LEMOS, O.L.; CASTELLANI, M. A. Profile of coffee crops and management of the Neotropical coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. **Sustainability**, v. 12, n. 19, 2020a.

LÉNA J.P., CLOBERT J., DE FRAIPONT M., LECOMTE J., GUYOT G. The relative influence of density and kinship on dispersal in the common lizard. **Behavioral Ecology**, v. 9, p. 500-507, 1998.

LI, X.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 231-253, 2007.

LIRA, R. S.; LUNA BATISTA, J. de. Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* alimentados com pulgões da erva-doce. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 20-35, 2006.

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

LÓPEZ-ARROYO, J. I., TAUBER, C. A. & TAUBER, M. J. Effects of prey on survival, development, and reproduction of trash-carrying chrysopids (Neuroptera: *Ceraeochrysa*). **Environmental Entomology**, v. 28, n.6, p. 1183–1188, 1999.

LORU, L.; FOIS, X.; SASSU, A.; PANTALEONI, R.A. An individual marking technique for green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae). *The Florida Entomologist*, v.96, p.628-630, 2013.

- LOXDALE, H.D.; LUSHAI, G. Slaves of the environment: the movement of herbivorous insects in relation to their ecology and genotype. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences**, v.354, p.1479-1495, 1999.
- LUNA, R. F.; BESTETE, L. R.; TORRES, J. B.; DA SILVA-TORRES, C. S. A. Predation and behavioral changes in the neotropical lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) exposed to lambda-cyhalothrin. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 6, p. 689-702, 2018.
- MAIA, W. J. M.; CARVALHO, C. F.; SOUZA, B.; CRUZ, I.; MAIA, T. J. Capacidade predatória e aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1259-1268, 2004.
- MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica**. Brasília: MAPA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/produtos-fitossanitarios>. Acesso em 26 dez. 2022.
- MARTINS, C. C.; SANTOS, R. S.; SUTIL, W. P.; OLIVEIRA, J. F. A. de. Diversity and abundance of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in a Conilon coffee plantation in Acre, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 49, p. 173-178, 2019.
- MARTINS, E. F.; FRANZIN, M. L.; PEREZ, L. A.; SCHMIDT, J. M.; VENZON, M. Is *Ceraeochrysa cubana* a coffee leaf miner predator? **Biological Control**, v. 160, 2021.
- MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R. D.; SILVA, M. B. D.; FERREIRA, I. B.; CARVALHO, C. H. S. D. Siriema AS1, cultivar de cafeeiro com resistência à ferrugem e ao bicho mineiro. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 9., 2015, Curitiba. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2015, 2p.
- MAZZI, D.; DORN, S. Movement of insect pests in agricultural landscapes. **Annals of Applied Biology**, v. 160, n. 2, p. 97-113, 2012.
- MELESE, Y. Y.; KOLECH, S. A. Coffee (*Coffea arabica* L.): Methods, objectives, and future strategies of breeding in Ethiopia. **Sustainability**, v. 13, n. 19, p. 10814, 2021.
- MESQUITA, C. M. D.; REZENDE, J. D.; CARVALHO, J. S.; FABRI JUNIOR, M. A.; MORAES, N. C.; DIAS, P. T.; CARVALHO, R.M.; ARAÚJO, W. G. (2016). **Manual do café: distúrbios fisiológicos, pragas e doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Belo Horizonte: EMATER-MG, p. 22-42, 2016. 62 p.
- MOTTA, I. O.; DANTAS, J.; VIDAL, L.; BÍLIO, J.; PUJOL-LUZ, J. R.; ALBUQUERQUE, É. V. The coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae): identification of the larval instars and description of male and female genitalia. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 65, n.3, p. 1-7, 2021

NASRALA, E.; LACAZ, F. A. D. C.; PIGNATI, W. A. Vigilância em saúde e agronegócio: os impactos dos agrotóxicos na saúde e no ambiente. Perigo à vista!. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, p. 4709-4718, 2014.

NOGUEIRA, L.; MELVILLE, C.C. Insetos e ácaros: resistência a pesticidas e estratégias de manejo OLIVEIRA, I.P.; OLIVEIRA, L.C.; MOURA, C.S.F.T. Cultivo de café: pragas, doenças, correção do solo, adubação e consórcio. **Revista Eletrônica Faculdades Montes Belos**, v. 5, n. 4, 2012.

OSWALD, J. D.; MACHADO, R. J. Biodiversity of the Neuropterida (Insecta: Neuroptera, Megaloptera, and Raphidioptera). **Insect Biodiversity: science and society**, v. 2, p. 627-672, 2018.

OVERGAARD, J.; MACMILLAN, H. A. The integrative physiology of insect chill tolerance. **Annual Review of Physiology**, v. 79, p. 187-208, 2017.

PANIZZI, A. R. Abandono do MIP pode ter consequências desastrosas. **Revista Visão Agrícola**, n. 5, p. 81-84, 2006.

PANTOJA-GOMEZ, L. M.; CORRÊA, A. S.; DE OLIVEIRA, L. O.; GUEDES, R. N. C. Common origin of Brazilian and Colombian populations of the neotropical coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 2, p. 924-931, 2019.

PAPPAS, M. L.; BROUFAS, G. D.; KOVEOS, D. S. Chrysopid predators and their role in biological control. **Journal of Entomology**, v. 8, n. 3, p. 301-326, 2011.

PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agrícola**, v.71, n.5, p. 420-429. 2014.

PARRA, J. R. P.; REIS, P. R. Manejo integrado para as principais pragas da cafeicultura, no Brasil. **Visão Agrícola**, v. 8, n. 12, p. 47-50, 2013.

PARRA, J.R.P. Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications**, v. 1, ec01002, dez. 2019. 3p.

PARSHAD, R. D.; BHOWMICK, S.; QUANSAH, E.; BASHEER, A.; UPADHYAY, R. K. Predator interference effects on biological control: The “paradox” of the generalist predator revisited. **Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation**, v. 39, p. 169-184, 2016.

REIS, P.R.; SOUZA, J.C. de.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.214/215, p.83-99. Jan./abr. 2002.

RIBEIRO, A. E. L.; CASTELLANI, M. A.; PÉREZ-MALUF, R.; MOREIRA, A. A.; LEITE, S. A.; COSTA, D. R. Occurrence of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in two coffee cropping systems. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 1597-1603, 2014.

SILVA, R. A.; REIS, P. R.; CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Predatory capacity of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) on *Brevipalpus phoenicis*

(Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae). **Coffee Science**, Lavras, v. 1, n. 1, p. 50-54, abr./jun. 2006.

SILVA, R. A.; SOUZA, J. C. de; REIS, P. R.; CARVALHO, T. A. F. de; ALVES, J. P.; MATOS, C. S. M. Bicho-mineiro-do-cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.280, p.14-22, 2014.

SINGULANO, M. A.; HIGGINS, S. S. Formas de adaptação de produtores de café à liberalização mercantil: proposta de uma tipologia analítica a partir de um estudo de caso na região das Matas de Minas. **Estudos Sociedade e Agricultura**, v. 29, n. 2, 2021.

SOSA-DUQUE, F. J.; TAUBER, C. A. The Neotropical green lacewing genus *Ceraeochrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae) — New synonymies and combinations, a new species, and an updated key to species. **Zootaxa**, v. 4970, n. 1, p. 1–52-1–52, 2021.

SOUZA, J. C. de; REIS, P. R.; RIGITANO, R. L. de O. **Bicho-mineiro do cafeeiro: biologia, danos e manejo integrado**. 2.ed. rev. aum. Belo Horizonte: EPAMIG, 1998. (EPAMIG. Boletim Técnico, 54). 48 p.

TAUBER, M. J., TAUBER, C. A., DAANE, K. M., & HAGEN, K. S. Commercialization of predators: recent lessons from green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae: *Chrysoperla*). **American Entomologist**, v. 46, n. 1, p. 26-38, 2000.

TORRES-VALENZUELA, L. S.; SERNA-JIMÉNEZ, J. A.; MARTÍNEZ, K. Coffee By-Products: Nowadays and Perspectives. In: CASTANHEIRA, D. T. (Ed.). **Coffee-Production and Research**. IntechOpen: London, p. 115-126, 2019.

VACAS, S.; PRIMO, J.; MANCLÚS, J. J.; MONTOYA, Á.; NAVARRO-LLOPIS, V. Survey on *Drosophila suzukii* natural short-term dispersal capacities using the mark–release–recapture technique. **Insects**, v. 10, n. 9, 2019.

VAN LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, v. 57, n.1, p.1-20, 2012.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018.

VELMOUROUGANE, K; BHAT, R. Sustainability challenges in the coffee plantation sector. In: BHAT, R. (Ed.). **Sustainability Challenges in the Agrofood Sector**. 1º. ed. John Wiley & Sons: West Sussex, p. 616-642, 2016.

WILLIAMS, A. A.; COPPEN, R. A.; WILLIAMS, M. R. A method for conducting mark-release-recapture studies of the graceful sun-moth *Synemon gratiosa* (Lepidoptera: Castniidae). **Records of the Western Australian Museum**, v. 33, n. 2, 2018.

ZHANG, D.; XI, Z.; LI, Y.; WANG, X.; YAMADA, H.; QIU, J.; LIANG, Y.; ZHANG, M.; WU, Y.; ZHENG, X. Toward implementation of combined incompatible and sterile insect techniques for mosquito control: Optimized chilling conditions for handling *Aedes albopictus* male adults prior to release. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.14, p.1-23, 2020.



## CAPÍTULO 1

### Comportamento alimentar e resposta funcional de espécies de Chrysopidae (Neuroptera) associadas ao bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*).

#### RESUMO

Atualmente, o Brasil é reconhecido como líder mundial na adoção de biodefensivos e, anualmente, tem ocorrido um acréscimo na demanda por agentes de controle biológico. Dentre os agentes já comercializados no país está *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), recomendado para o controle de diversas espécies de pragas em vários cultivos, e que tem sido utilizada, também, para o controle do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), uma das pragas-chave da cafeicultura. *Ceraeochrysa cubana*, uma espécie pertencente à mesma família taxonômica, também foi observada consumindo o bicho-mineiro do café. Embora existam registros da predação do bicho-mineiro por ambos os crisopídeos, são necessários estudos que sirvam de fundamento para a aplicação bem-sucedida desse inimigo natural nos agroecossistemas cafeeiros. Os estudos existentes abordam a capacidade desses predadores em consumir imaturos do bicho-mineiro, entretanto, faltam muitas informações sobre as interações entre essas espécies, as quais contribuem para o sucesso de programas de controle biológico, podendo-se mencionar, como exemplo, o comportamento alimentar e a resposta funcional. Sendo assim, nesta pesquisa buscou-se responder perguntas acerca do comportamento das duas espécies de crisopídeos frente à pupas do bicho-mineiro, bem como sobre a resposta funcional de *C. cubana* quando alimentada com pupas desse minador. O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e, tanto as larvas dos crisopídeos quanto as pupas do bicho-mineiro foram obtidas das criações existentes no Laboratório de Controle Biológico com Entomófagos (LCBE). Para a avaliação do comportamento, foram fornecidas folhas contendo uma pupa do bicho-mineiro para larvas de primeiro, segundo e terceiro instar de *C. externa* e de *C. cubana*. Observou-se, por 25 minutos, os seguintes parâmetros: predação e os tempos de forrageamento, de pausa e de manipulação da presa. O registro das atividades comportamentais foi feito por meio do software BORIS. Já para a resposta funcional, foram fornecidas as densidades de 1, 2, 4, 8, 16 e 32 pupas de bicho-mineiro para larvas de segundo instar da *C. cubana*. Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento, em ambos experimentos. Verificou-se que as espécies *C. externa* e *C. cubana*, em seus diferentes instares, apresentam parâmetros comportamentais diferentes, entretanto, ambas são capazes de predação de pupas de *L. coffeella* e, assim, poderão contribuir para o controle populacional de *L. coffeella*. Com relação à resposta funcional, verificou-se que larvas de segundo instar de *C. cubana* apresentam o Tipo II. Este estudo confirma que esses predadores podem ser eficientes no controle populacional do bicho-mineiro, apontando para a necessidade de pesquisas adicionais.

**Palavras-chave:** Etologia; Crisopídeos; *Coffea arabica*.

## 1. INTRODUÇÃO

A preocupação com a sustentabilidade na agricultura, particularmente na produção de alimentos, tem crescido anualmente (GARCÍA-OLIVEIRA et al., 2022) e, concomitantemente ao aumento dessa demanda, tem ocorrido o incremento nos estudos que propõem alternativas que contribuam para um modelo agrícola mais sustentável. Como resultado, as pesquisas envolvendo o controle biológico aplicado, como estratégia componente do Manejo Integrado de Pragas (MIP), têm sido ainda mais valorizadas. Apesar da grande influência das empresas fornecedoras de defensivos agrícolas, que habituaram produtores rurais ao uso de produtos químicos para o controle de pragas, a aplicação do controle biológico, na esfera mundial, tem apresentado um incremento anual entre 10% e 15% (PARRA, 2019). Em 2018, uma das vertentes do controle biológico aplicado, o controle biológico aumentativo, era implementado em mais de 30 milhões de hectares ao redor do mundo (VAN LENTEREN et al., 2018). Atualmente, o Brasil é líder mundial na adoção de biodefensivos, tendo apresentado, em 2020, um crescimento superior à média global, um equivalente de 30% contra 14,4% (CROPLIFE, 2021).

Dentre as opções de agentes de controle biológico estão os microrganismos (fungos, bactérias, etc.) e os macrorganismos, que contemplam insetos e ácaros (GEREMIAS, 2018). Os entomófagos *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) figuram entre os insetos que atuam como inimigos naturais de diversas espécies de pragas agrícolas, ambos reconhecidos por apresentarem elevada capacidade predatória. *Chrysoperla externa* já tem registro como bioinsumo junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e *C. cubana*, apesar do elevado potencial para uso como agente de controle biológico aplicado, ainda carece de registro. Esses insetos possuem hábito alimentar generalista e são predadores somente enquanto larvas, uma vez que os adultos se alimentam de recursos como pólen e *honeydew* (FREITAS, 2002; CARVALHO E SOUZA, 2009). Esses crisopídeos apresentam elevada plasticidade ecológica, ocorrendo tanto em sistemas agrícolas quanto em ecossistemas preservados. Um dos habitats agrícolas em que se nota a ocorrência de *C. externa* e *C. cubana* são as lavouras de café (FREITAS E PENNY, 2001; RIBEIRO et al., 2014; MARTINS et al., 2019).

Dentre as principais pragas do cafeeiro na região Neotropical, e particularmente no Brasil, está *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), conhecida popularmente como bicho-mineiro (PANTOJA-GOMEZ et al., 2019; LEITE et al., 2020). Estudos recentes apontam que os crisopídeos são promissores para o

controle biológico desse microlepidóptero. A predação de larvas de bicho-mineiro por *C. externa* foi demonstrada por Dami et al. (2018), enquanto Martins et al. (2021) observaram a habilidade de *C. cubana* em predação ovos, larvas e pupas da praga. Cabe salientar que as larvas de *C. cubana* apresentam o comportamento de se cobrirem com detritos diversos afim de se camuflarem, ao passo que as larvas de *C. externa* não possuem tal hábito (LIRA; LUNA, 2006).

Devido à demanda por novos agentes de controle biológico e à comprovação da capacidade predatória apresentada por ambos crisopídeos, estudos envolvendo esses predadores relacionados com o bicho-mineiro cresceu no último ano. Grande parte dessas pesquisas abordaram aspectos relacionados à biologia e à habilidade em consumir imaturos desse microlepidóptero. Entretanto, estudos sobre o comportamento alimentar e resposta funcional fornecem importante contribuição para a eficiência de programas de controle biológico (SHAUKAT, 2018). Segundo Enríquez-García, Nandini e Sarma (2013), o comportamento alimentar geralmente busca responder duas questões fundamentais relacionadas a mudanças no consumo de presas e mudanças nas preferências alimentares em relação à disponibilidade de presas. Essas possíveis alterações no consumo em decorrência da maior ou menor oferta de presas é conhecida por resposta funcional.

A resposta funcional pode ser representada por três categorias, como descrito por Holling (1959): Tipo I) crescimento linear no número de presas consumidas até que se atinja um valor máximo, em função do aumento na densidade da presa; Tipo II) crescimento no número de presas consumidas em função da maior disponibilidade delas, até que se atinja determinada densidade e, então, o consumo se mantém estável; Tipo III) o consumo cresce de forma sigmoide devido ao maior consumo inicial, seguido de um decréscimo com o aumento da densidade de presas.

As mudanças no comportamento podem afetar o padrão de liberação do predador em campo, como apontam Batoool et al. (2014), e precisam ser estudadas para melhor compreensão do uso do agente em programas de liberação. As larvas do bicho-mineiro empupam na parte baixa da planta de café, o que pode dificultar o manejo da praga, ademais, tradicionalmente, os produtos comercializados possuem os adultos e larvas como alvo do controle. Assim, o uso de ambos crisopídeos pode ser uma solução para o controle de pupas, devido à capacidade que esses predadores têm de forragear toda a planta. No presente trabalho, buscou-se conhecer aspectos comportamentais (tempo de busca, tempo de pausa na busca, tempo de manipulação da presa e ação predatória) durante a predação de pupas do bicho-mineiro pelos três instares de *C. externa* e de *C. cubana*. Adicionalmente, elaborou-se a resposta funcional para o segundo instar de *C. cubana*, uma vez que larvas no primeiro estágio consomem menor número de presas

(MARTINS et al., 2021) e são mais vulneráveis às condições naturais ocorridas em campo. Além disso, considerou-se a possível liberação de larvas de crisopídeos no segundo instar, as quais irão garantir maior tempo de atuação contra a praga em relação àquelas liberadas no terceiro estágio.

Com esse experimento buscou-se responder as seguintes perguntas: (i) as espécies *C. externa* e *C. cubana* apresentam o mesmo comportamento frente a pupas de *L. coffeella*? (ii) qual o tipo de resposta funcional apresentado pelo segundo instar de *C. cubana* quando alimentada com pupas do bicho-mineiro?

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Comportamento de larvas de *C. externa* e *C. cubana* alimentadas com pupas de *L. coffeella*

As larvas de *C. externa* e *C. cubana* foram obtidas das criações existentes no Laboratório de Controle Biológico com Entomófagos (LCBE), da Universidade Federal de Lavras (UFLA), a qual é conduzida conforme a metodologia de Carvalho e Souza (2009). Larvas de ambas as espécies, no 1º, 2º e 3º estádios, recém-eclodidas e logo após a mudança de ínstar, foram individualizadas em tubos de ensaio (8,5 × 2,5 cm) e mantidas por 6 horas sem alimento. Esse período de jejum visou standardizar as larvas e criar um incentivo para a busca da presa (ZAREI et al., 2019).

As pupas do bicho-mineiro foram provenientes da criação existente no LCBE/UFLA, a qual é conduzida em gaiolas de 80 cm de altura × 45 cm de largura × 45 cm de comprimento, constituídas por armação de plástico (PVC) revestida com tecido nylon, sob condições de 27°C ± 3°C, umidade relativa de 70% ± 10% e fotoperíodo de 12 horas. Os adultos do bicho-mineiro foram alimentados com uma solução de sacarose a 10% (NANTES; PARRA, 1978) e a cultivar de café (*Coffea arabica*) utilizada para a criação foi a Catuaí Vermelho 144 IAC. Foram utilizadas pupas abrigadas nos casulos confeccionados em folhas e, previamente, sob microscópio estereoscópico, confirmou-se se estavam viáveis, ampliando-se a imagem de modo que permitisse observar a pupa intacta. Verificou-se a possível presença de ovos do bicho-mineiro ou outros organismos nas folhas, os quais foram retirados quando constatados. Outros materiais, como grânulos de terra e pequenos fragmentos de folha seca, foram deixados para que *C. cubana* demonstrasse seu comportamento de coleta de detritos.

As folhas de café infestadas pelas pupas do bicho-mineiro foram individualizadas em placas de Petri com diâmetro de 10 cm, já contendo uma larva do crisopídeo previamente liberada na placa. Foram aguardados 2 minutos entre a alocação da larva e da folha contendo a pupa do bicho-mineiro, de modo a proporcionar um tempo para que a larva do predador reconhecesse e se habituasse com o ambiente. O comportamento das larvas foi observado durante 25 minutos a partir do momento em que as folhas infestadas foram adicionadas às placas. Esse tempo de observação foi determinado a partir de testes realizados preliminarmente.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa de predação (%) (consumiu ou não a pupa), tempo de forrageamento, tempo de pausa e tempo de manipulação da presa, em segundos. O tempo de manipulação da presa foi considerado como o período compreendido

entre o início da tentativa de ataque pela larva do crisopídeo, o ataque propriamente e o consumo completo da pupa do bicho-mineiro. O experimento foi realizado em condições laboratoriais de  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70\pm 10\%$ , 12L:12E.

O registro das atividades comportamentais foi obtido por meio do software BORIS (FRIARD; GAMBÀ, 2016), que permite obter, em tempo real, a duração de cada comportamento estudado. Para isso são utilizadas as letras do teclado de modo a registrar o início e final de cada atividade, conforme as siglas atribuídas a cada uma delas. Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. As análises foram feitas através do software RStudio (R CORE TEAM, 2022). Para todos os parâmetros avaliados procedeu-se o ajuste de modelos lineares generalizados mistos (GLMM), usando-se a distribuição de erros mais adequada a cada variável (CRAWLEY, 2012). Para o parâmetro predação utilizou-se a distribuição Binomial, enquanto para o tempo de forrageamento aplicou-se a Binomial negativa. Já para o tempo de pausa utilizou-se a distribuição Binomial negativa inflacionado por zeros, e para o tempo de manipulação da presa foi feita a distribuição de Poisson inflacionado por zeros. Inicialmente foram ajustados modelos lineares generalizados mistos completos e, posteriormente, apenas as variáveis significativas foram adotadas no modelo final, quando significativo, se comparado ao modelo nulo ( $\chi^2$ ;  $p < 0,05$ ). Os modelos finais foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e, se significativo, realizou-se o contraste de médias marginais (*least-square means*) entre os efeitos fixos testados com o intervalo de confiança (IC) de 95% (TÜZÜN et al., 2017).

## **2.2 Resposta funcional de larvas de *C. cubana* alimentadas com pupas de *L. coffeella***

A avaliação da resposta funcional de *C. cubana* associada às pupas de *L. coffeella* foi realizada a  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70\pm 10\%$ , 12L:12E, utilizando-se larvas com 12-24 horas após a mudança para o segundo instar. As larvas permaneceram sem alimento por duas horas antes do início do teste, conforme proposto por Hassanpour et al. (2015). Tanto as larvas do crisopídeo como as pupas do bicho-mineiro foram obtidas das criações existentes do LCBE/UFLA.

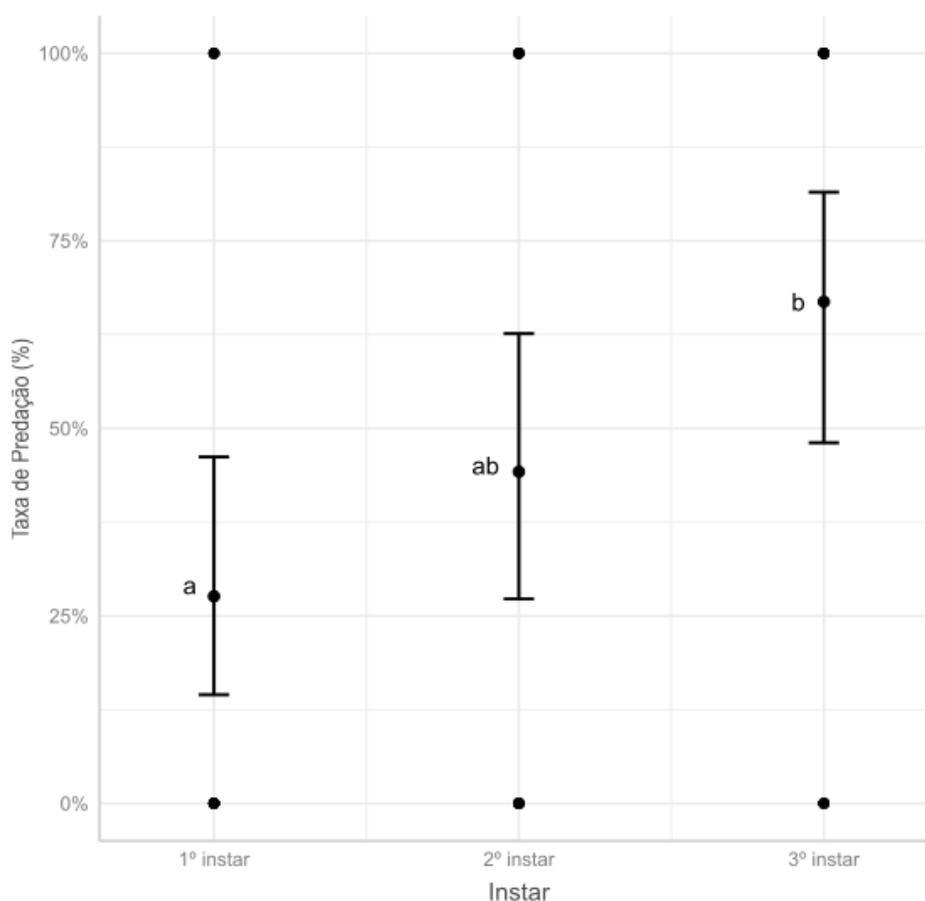
O experimento foi conduzido em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, onde foram disponibilizadas as folhas de café infestadas pelas pupas do bicho-mineiro, fornecidas nas densidades de 1, 2, 4, 8, 16 e 32 indivíduos. O número de folhas colocadas nas placas variou em função do número de pupas/folha, sendo que o mínimo foi uma e o máximo oito folhas/placa. Em alguns casos, as folhas foram recortadas para se adequarem ao interior da placa. As placas foram vedadas com plástico filme com micro furos para permitir a circulação do ar no interior.

As avaliações ocorreram após 24 horas do início do experimento, contabilizando-se as presas consumidas em cada densidade. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com 20 repetições para cada densidade de presa fornecida. As análises foram feitas através do software RStudio (R CORE TEAM, 2022). A análise da resposta funcional foi determinada conforme o ajuste da curva que melhor representou o número médio de presas consumidas em função da densidade ofertada, utilizando-se o pacote `frair` (PRITCHARD et al., 2017).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Comportamento de larvas de *C. externa* e *C. cubana* alimentadas com pupas de *L. coffeella*

Quanto à predação, não houve diferença entre as duas espécies de crisopídeos ( $X^2=0.16$ ,  $GL=1$ ,  $p=0.68$ ), mas o consumo diferiu entre os instares ( $X^2=9.97$ ,  $GL=2$ ,  $p<0$ ). No segundo e terceiro instar, as larvas de *C. externa* e *C. cubana* apresentaram maior taxa de predação em relação ao primeiro instar. Para o primeiro, segundo e terceiro instar, a taxa predatória para ambas espécies foi de 27,60%, 44,21% e 66,87%, respectivamente (Figura 1), sendo diferentes quanto ao agrupamento das médias.



**Figura 1.** Taxa de predação (%) obtida para os três instares de *Ceraeochrysa cubana* e *Chrysoperla externa* frente a pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*.

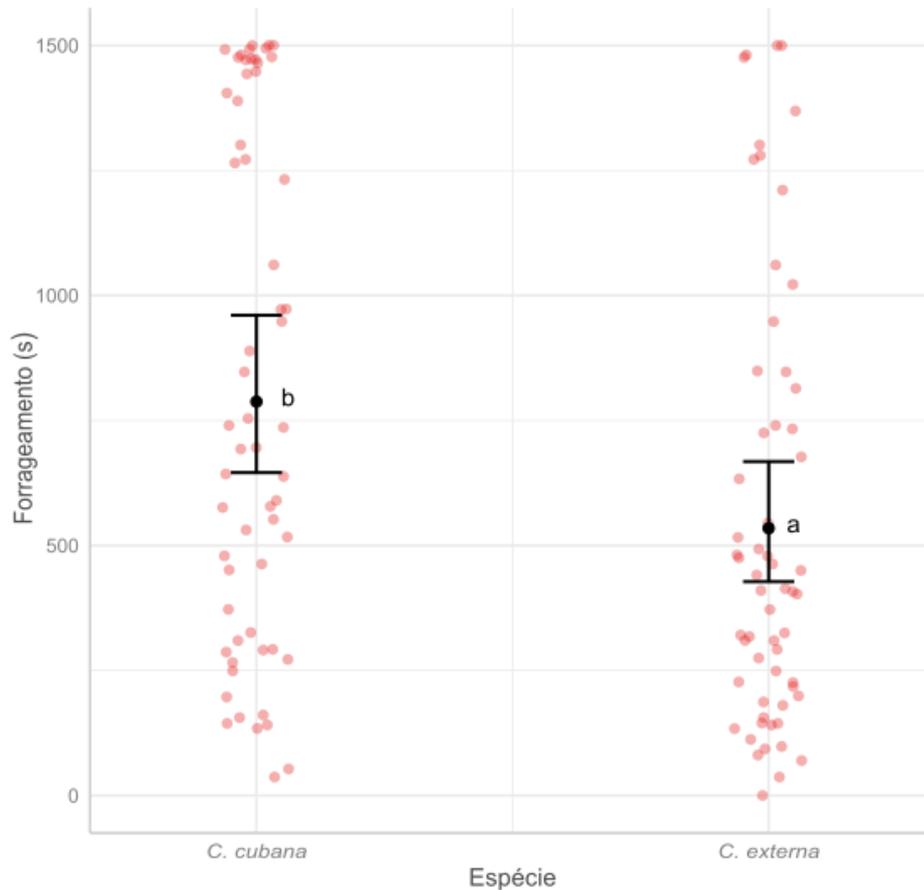
Esses resultados são semelhantes a outros obtidos por vários autores, em diferentes combinações de espécies da família Chrysopidae, utilizando diferentes presas. O consumo de *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) (Thysanoptera: Thripidae) em plantas de tomate,

por larvas de *Chrysoperla comanche* (Banks, 1938) e *C. externa*, apresentou o mesmo padrão (LUNA-ESPINO; JIMÉNEZ-PÉREZ; CASTREJÓN-GÓMEZ, 2020). O mesmo comportamento foi constatado para larvas de *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836), as quais foram apresentando maior voracidade no consumo dos afídeos (Hemiptera: Aphididae) *Aphis gossypii* Glöver, 1877 e *Aphis craccivora* (Koch, 1854), e de *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1863) (Lepidoptera: Pyralidae), à medida que foram avançando os instares (KUMAR; DWIVEDI; KUMAR, 2019). Para *C. cubana* frente a ovos e lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) recém-eclodidas, também se observou maior consumo por larvas de segundo e terceiro instar (NUNES et al., 2017).

Os resultados obtidos ainda corroboram aqueles de Martins et al. (2021), que apontam que larvas de *C. cubana* no primeiro instar consumiram menos pupas de *L. coffeella* em relação aos outros instares. Conforme os autores, o menor consumo no primeiro instar pode ser decorrente da maior fragilidade das peças bucais, o que dificulta a perfuração do tegumento e aumenta a dificuldade para se alimentar da pupa. O consumo da pupa por larvas de *C. externa* e *C. cubana* interrompe o ciclo de vida do bicho-mineiro na medida em que impede a emergência de adultos, contribuindo para a redução da densidade populacional dessa praga no campo. Outro ponto a ser considerado refere-se ao maior tamanho corporal e à necessidade de acumular maior quantidade de substâncias para atender às demandas nutricionais e fisiológicas, o que torna as larvas de terceiro instar mais vorazes em relação aos instares mais jovens (PALOMARES-PÉREZ et al., 2021; MENDOZA et al., 2022).

Quanto ao parâmetro tempo de forrageamento, houve diferença entre as espécies de crisopídeos estudadas ( $X^2=9.31$ ,  $GL=1$ ,  $p<0$ ), mas, esse tempo não diferiu entre os instares de cada uma delas ( $X^2=0.65$ ,  $GL=2$ ,  $p=0.72$ ). O tempo de forrageamento obtido para *C. cubana* foi, em média, 787,59 segundos (13,12 minutos), enquanto *C. externa* explorou a área por 534,51 segundos (8,06 minutos) em média (Figura 2). O maior tempo de busca pode aumentar as chances de encontro com a presa, mas deve-se considerar que o período utilizado para

localizar a presa pode influenciar negativamente no *fitness* do predador, uma vez que envolve gasto de energia (MILLS; HEIMPEL, 2018).

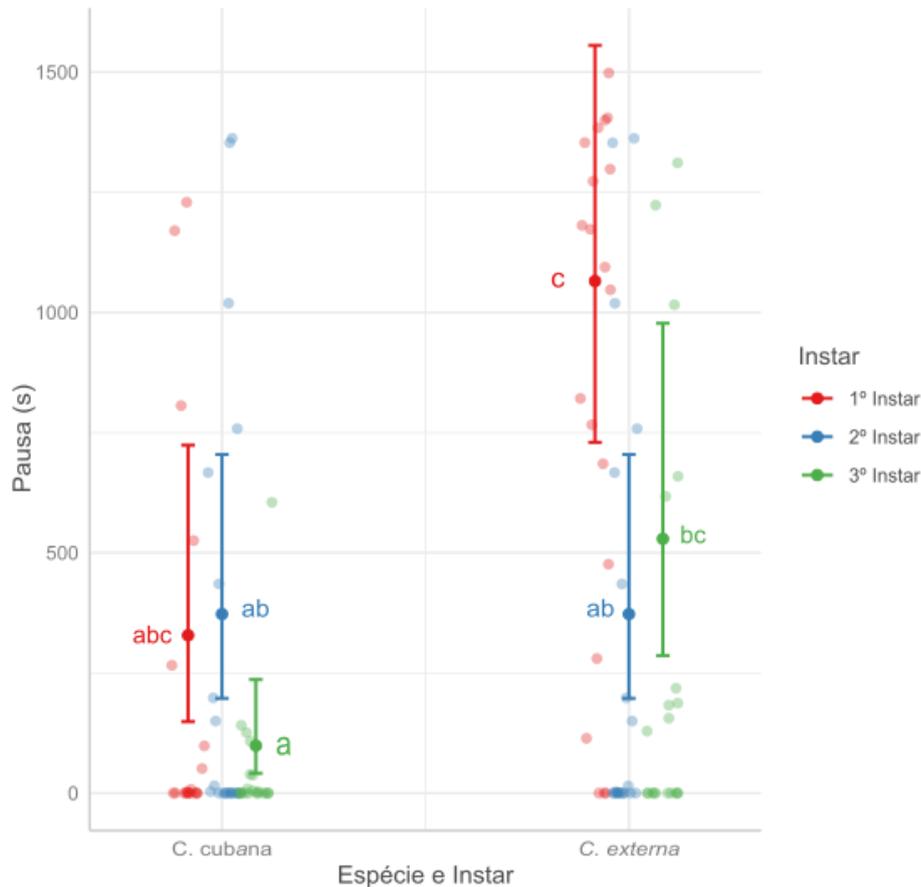


**Figura 2.** Tempo de forrageamento (segundos) obtido para larvas de *Ceraeochrysa cubana* e *Chrysoperla externa* frente a pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*, durante o período de 25 minutos.

Verificou-se que as larvas de *C. cubana*, exibindo seu comportamento de busca por detritos para se camuflarem, caminharam e exploraram mais a arena, coletando pequenos fragmentos presentes nas folhas de café. Esse comportamento contribuiu para o encontro da presa, uma vez que as larvas buscavam coletar os fios da crisálida do bicho-mineiro. Nesse momento, observou-se que a pupa realizava uma leve contração corporal, o que reitera observações que indicam que esse movimento, produzido por diversas pupas de lepidópteros, pode ser uma forma de evitar predadores (HAWES, 2018). Entretanto, nesse caso, o movimento de contração da pupa denunciou sua presença ao crisopídeo, que deixava de coletar os fios da seda dos casulos e passava a atacá-la. A taxa de predação e o tempo de forrageamento diferem entre predadores e com o tipo de presa, entretanto, essa variação pode contribuir para uma ação conjunta, reduzindo populações de pragas no campo e incrementando a taxa de sucesso de um programa de manejo biológico (MORADI et al., 2020). Assim, apesar da diferença entre os

tempos de forrageamento obtidos para *C. externa* e *C. cubana*, pode-se inferir que o trabalho sinérgico entre elas no agroecossistema cafeeiro pode contribuir para a redução populacional do bicho-mineiro.

Com relação ao período em que os crisopídeos permaneceram parados (tempo de pausa), sem demonstrar qualquer tipo de comportamento predatório, verificou-se diferença entre as espécies ( $X^2=11.4$ ,  $GL=1$ ,  $p<0$ ), instares ( $X^2=11.9$ ,  $GL=2$ ,  $p<0$ ) e interação entre espécie e instar ( $X^2=8.4$ ,  $GL=2$ ,  $p<0$ ) (Figura 3).



**Figura 3.** Tempo de pausa (segundos) obtido para os três instares de *Ceraeochrysa cubana* e *Chrysoperla externa* frente a pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*.

Larvas de terceiro instar de *C. cubana* foram as que menos permaneceram em pausa (média de 98,58s). A elevada capacidade de busca, habilidade em localizar o alvo e facilidade para manipular a presa tendem a aumentar de acordo com seu instar e constituem-se em características inerentes às larvas de terceiro instar dos crisopídeos (COSTA et al., 2020), levando-as a permanecerem menos tempo paradas. Para o segundo instar, ambas as espécies foram agrupadas, com média de 372,41s em que se mantiveram paradas. Já para o primeiro instar, *C. cubana* permaneceu, em média, 328,14s parada, enquanto *C. externa* atingiu a média

de 1065,29s de intervalo entre as buscas. O registro dessa ocorrência foi devido ao instinto da coleta de detritos exibido pelas larvas de *C. cubana*, o qual foi nitidamente observado durante o monitoramento. Logo que as larvas desse crisopídeo foram colocadas na arena, começaram a caminhar brevemente para fazerem o reconhecimento da área e, em sequência, iniciaram a busca por materiais para composição do “lixo” usado para se cobrirem. Esse comportamento ágil não aconteceu para *C. externa*, uma vez que não se utilizam dessa estratégia para se protegerem.

Quanto ao tempo de manipulação da presa, houve diferença entre espécies ( $X^2=553.8$ ,  $GL=1$ ,  $p<0$ ), instares ( $X^2=399.2$ ,  $GL=2$ ,  $p<0$ ) e interação entre espécie e instar ( $X^2=1007.36$ ,  $GL=2$ ,  $p<0$ ) (Figura 4).

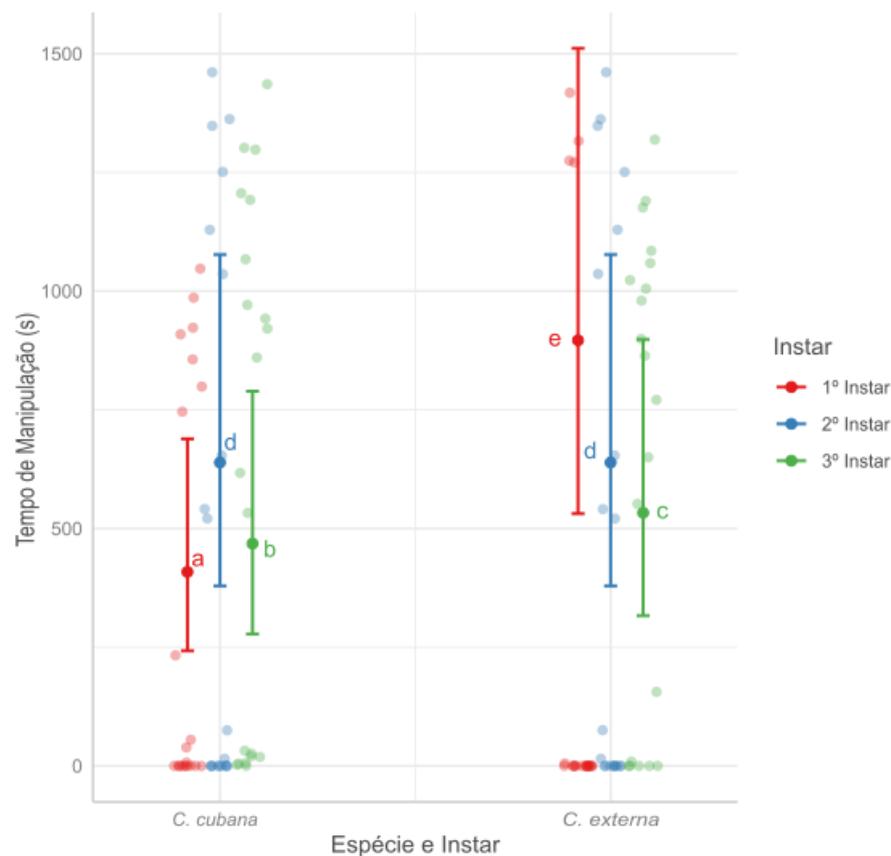


Figura 4.

Tempo de

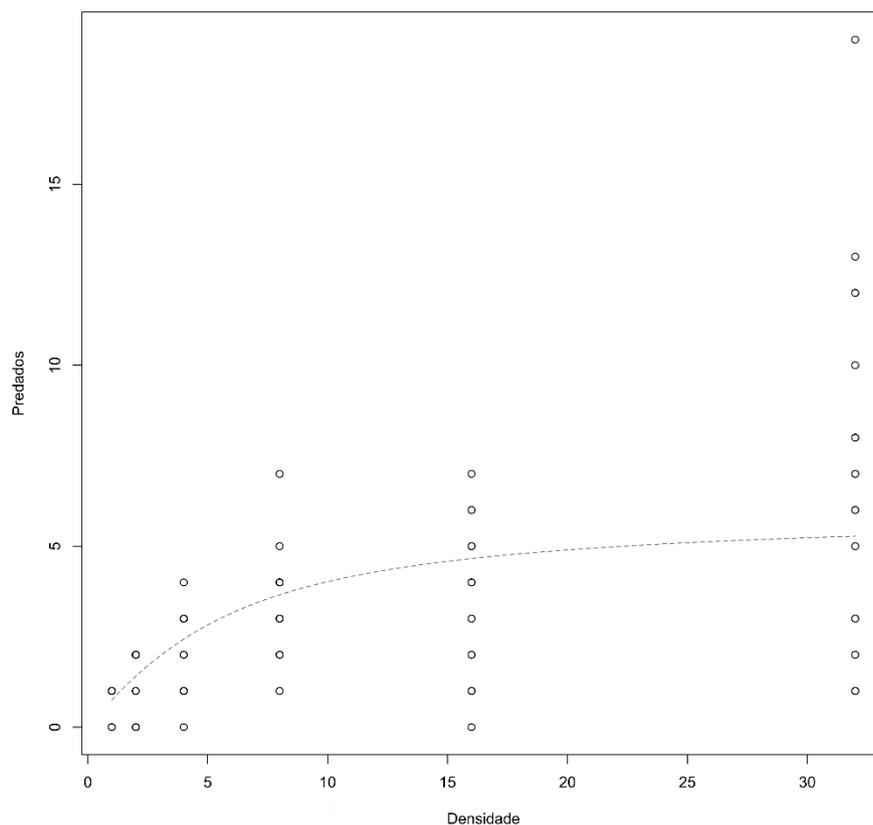
manipulação (segundos) obtido para larvas de *Ceraeochrysa cubana* e *Chrysoperla externa* durante o consumo de pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*.

O tempo de manipulação por larvas de terceiro instar de *C. cubana* foi de 468,25s, enquanto para *C. externa* foi de 533,12s. Já para o segundo instar de ambas espécies, o agrupamento de médias foi o mesmo, com um total de 638,98s manipulando a presa.

Para *C. externa*, o maior tempo de manipulação ocorreu no primeiro instar (896,36s), o que era esperado, devido ao menor tamanho das larvas e devido às peças bucais serem mais frágeis para o consumo da presa (MARTINS et al., 2021). Soma-se, ainda, o fato de o consumo da pupa do bicho-mineiro ser mais oneroso energeticamente devido a estar protegida pelos fios de seda. Para *C. cubana*, o tempo de manipulação pelo primeiro instar foi menor (408,69s), entretanto, salienta-se que a manipulação da presa não implica, necessariamente, no consumo da mesma. Esse menor tempo de manipulação foi decorrente, especialmente, da desistência da larva em tentar predá-la devido à maior dificuldade em lidar com os fios de seda que protegem a pupa, o que demandaria maior gasto energético. De fato, observou-se certa dificuldade para as larvas conseguirem manipular a pupa devido aos fios de seda que a protege e, dessa forma, o predador buscava ajustar a pupa em uma posição que favorecia o ataque. Essa constatação foi verificada para todos os instares de ambas as espécies de crisopídeos, entretanto, observou-se que, quanto maior a larva, maior foi a facilidade em proceder esse ajuste.

### **3.2 Resposta funcional de larvas de *C. cubana* alimentadas com pupas de *L. coffeella***

Verificou-se que o consumo das pupas de *L. coffeella* por larvas de *C. cubana* aumentou com o aumento da densidade de presas (Figura 5). Para todas as densidades ofertadas, o menor número consumido foi de uma pupa. O número máximo consumido na densidade de 16 presas foi de sete pupas, enquanto na densidade de 32, o consumo máximo foi de 19 pupas. O consumo médio foi de 3,3 e 6,95 nessas densidades, respectivamente (Tabela 1). As médias nas densidades de 8 e 16 se mantiveram iguais, assim como o número máximo consumido, e na densidade 32, obteve-se o maior consumo médio.



**Figura 5.** Curva da resposta funcional obtida para larvas de segundo instar de *Ceraeochrysa cubana* alimentadas com pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*.

**Tabela 1.** Consumo (maior e média) obtido para larvas de segundo instar de *Ceraeochrysa cubana* alimentadas com pupas do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*, ofertado em diferentes densidades.

Densidade	Maior consumo	Consumo médio
1	1	0,85
2	2	1,65
4	4	2,3
8	7	3,3
16	7	3,3
32	19	6,95

Ao investigar a resposta funcional de *C. carnea* associada a *Saissetia oleae* (Oliver, 1791) (Hemiptera: Coccidae), Mahzoum et al. (2019) verificaram que as taxas de busca e manipulação por larvas de terceiro instar eram menores do que os obtidos para os estádios mais jovens. Sultan e Khan (2014) também encontraram o mesmo padrão de taxa de busca para *C. carnea* estudada frente a *Aleurolobus barodensis* (Maskell, 1896) (Hemiptera: Aleyrodidae). Para *C. externa* alimentada com *Melanaphis sacchari* (Zehntner, 1897) (Hemiptera: Aphididae), o padrão se repete com o terceiro instar apresentando o menor tempo de

manipulação (PALOMARES-PÉREZ; BRAVO-NÚÑEZ; ARREDONDO-BERNAL, 2019). O primeiro instar de *C. cubana* também requereu maior tempo para buscar e manipular o pulgão *Hyadaphis foeniculi* (Passerini, 1860) (Hemiptera: Aphididae), comparado com o segundo e terceiro instar (MOREIRA et al., 2019).

Presas diminutas, com menor mobilidade e cutícula fina são mais fáceis para serem manipuladas e predadas e, por isso, consideradas adequadas para crisopídeos, como, por exemplo, os hemípteros da subordem Sternorrhyncha que, em geral, possuem tegumento pouco esclerotizado (CARVALHO; SOUZA, 2009; SOUZA et al., 2019). Neste caso, as pupas do bicho-mineiro atendem ao tamanho reduzido e baixa mobilidade, favorecendo o ataque dos crisopídeos.

Observou-se que a resposta funcional das larvas de segundo instar de *C. cubana* foi do Tipo II. De uma maneira geral, predadores tendem a seguir o Tipo II de resposta funcional, a qual se caracteriza pelo aumento do consumo à medida que se aumenta a densidade da presa até uma quantidade, a partir da qual o crescimento diminui lentamente até a saturação (DI et al., 2021). O consumo pode ser influenciado pelo tamanho da presa, de modo que presas maiores tendem a fornecer uma quantidade maior de nutrientes e levar à saciedade com menor número consumido (NUNES et al., 2017), entretanto, exibindo a resposta funcional do Tipo II, o consumo propende aumentar de acordo com o aumento da quantidade de presas fornecidas, até atingir um certo platô (ZHOU et al., 2021).

A obtenção desse tipo de resposta funcional reitera resultados de diversos estudos envolvendo crisopídeos frente a outras presas, os quais também demonstraram o mesmo tipo de resposta. Como exemplos, citam-se o estudo de *Chrysoperla zastrowi sillemi* (Esben-Petersen, 1935) alimentada com *A. gossypii* (KUMARI et al., 2020), *C. carnea* consumindo *S. oleae* (MAHZOUM et al., 2020), *C. externa* frente a *Aleurodicus cocois* (Curtis, 1846) (Hemiptera: Aleyrodidae) (SARAIVA et al., 2022) e *Ceraeochrysa caligata* (Banks, 1945) consumindo o ácaro *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae) (JUMBO et al., 2019).

A habilidade de um predador em procurar e manipular uma presa são características que afetam a dinâmica das populações de praga, e o conhecimento desses aspectos permite estimar a participação do predador no controle da praga (SOUZA et al., 2019). Estudos que investigam a resposta funcional em condições laboratoriais podem auxiliar a compreensão do potencial do predador para atuar como agente de biocontrole, fornecendo informações sobre interações predador-presa (SAJJAD et al., 2021).

#### 4. CONCLUSÃO

As espécies *C. externa* e *C. cubana*, em seus diferentes instares, apresentam comportamentos diferentes, entretanto, ambas podem contribuir para o controle de pupas de bicho-mineiro, interrompendo o ciclo da praga em campo.

Larvas de segundo instar de *C. cubana* apresentam resposta funcional do Tipo II, podendo ser eficaz para o controle de pupas de *L. coffeella*, especialmente em baixas densidades da praga.

## REFERÊNCIAS

- BATOOL, A.; ABDULLAH, K.; MAMOON-UR-RASHID, M.; KHATTAK, M. K.; ABBAS, S. S. Effect of prey density on biology and functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 46, n. 1, 2014.
- 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. 430p.
- COSTA, S. S.; BROGLIO, S. M.; DIAS-PINI, N. S.; SANTOS, D. S.; SANTOS, J. M.; DUQUE, F. J.; SARAIVA, W. V. Developmental biology and functional responses of *Leucochrysa (Nodita) azevedoi* fed with different prey. **Biocontrol Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 42-50, 2020.
- CRAWLEY, M. J. **The R book**. John Wiley & Sons, 2012.
- CROPLIFE BRASIL. **Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros**. [S.I.] 2021. Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adoacao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>>. Acesso em 26 dez. 2022.
- DAMI, B.G; ALVES, E.E.S.; SILVA, V.P.; OLIVEIRAS, R.H.R; VACARI A.M. Comportamento dos predadores *Chrysoperla externa* e *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) consumindo bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 44., 2018, Franca. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2018, 1p.
- DI, N.; ZHANG, K.; XU, Q.; ZHANG, F.; HARWOOD, J. D.; WANG, S.; DESNEUX, N. Predatory ability of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae) for suppression of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 12, n. 12, p. 1063, 2021.
- ENRÍQUEZ-GARCÍA, C.; NANDINI, S.; SARMA, S. S. S. Feeding behavior of *Acanthocyclops americanus* (Marsh) (Copepoda: Cyclopoida). **Journal of Natural History**, v. 47, n. 5, p. 853–862, 2013.
- FREITAS, S. **O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas**. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. cap.13, p.209-224.
- FREITAS, S.; PENNY, N.D. The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, v.52, n.19, p.245-395, 2001.
- FRIARD, O.; GAMBA, M. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 11, p. 1325-1330, 2016.

- GARCÍA-OLIVEIRA, P.; FRAGA-CORRAL, M.; PEREIRA, A. G.; PRIETO, M. A.; SIMAL-GANDARA, J. Solutions for the sustainability of the food production and consumption system. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 7, p.1765–1781, 2022.
- GEREMIAS, L. D. Perspectivas do mercado de controle biológico no Brasil. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.31, n.1, 2018.
- HASSANPOUR, M.; MAGHAMI, R.; RAFIEE-DASTJERDI, H.; GOLIZADEH, A.; YAZDANIAN, M.; ENKEGAARD, A. (2015). Predation activity of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) upon *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae): effect of different hunger levels. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 18, n. 2, p. 297-302, 2015.
- HAWES, T. C. A kicking butterfly chrysalis. **The Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 72, n.1, p. 27-34, 2018.
- HOLLING, C.S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 91, n. 7, p. 385-398, 1959.
- JUMBO, L. O. V.; TEODORO, A. V.; RÊGO, A. S.; HADDI, K.; GALVÃO, A. S.; DE OLIVEIRA, E. E. The lacewing *Ceraeochrysa caligata* as a potential biological agent for controlling the red palm mite *Raoiella indica*. **PeerJ**, v. 7, 2019.
- KUMAR, A.; DWIVEDI, S. K.; KUMAR, V. Effect of different host on biology and feeding potential of green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Plant Archives**, v. 19, n. 1, p. 281-284, 2019.
- KUMARI, D.; VERMA, S. C.; SHARMA, P. L.; NEGI, S. Biology, feeding potential and functional response of *Chrysoperla zastrowi sillemi* to cotton aphid, *Aphis gossypii* glover. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 3, p. 381-386, 2020.
- LEITE, S. A.; GUEDES, R. N. C.; SANTOS, M. P. D.; COSTA, D. R. D.; MOREIRA, A. A.; MATSUMOTO, S. N.; LEMOS, O.L.; CASTELLANI, M. A. Profile of coffee crops and management of the Neotropical coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. **Sustainability**, v. 12, n. 19, 2020.
- LIRA, R. S.; LUNA BATISTA, J. de. Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* alimentados com pulgões da erva-doce. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 20-35, 2006.
- LUNA-ESPINO, H. M.; JIMÉNEZ-PÉREZ, A.; CASTREJÓN-GÓMEZ, V. R. Assessment of *Chrysoperla comanche* (Banks) and *Chrysoperla externa* (Hagen) as biological control agents of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) on tomato (*Solanum lycopersicum*) under glasshouse conditions. **Insects**, v. 11, n. 2, p. 87, 2020.
- MAHZOUM, A. M.; VILLA, M.; BENHADI-MARÍN, J.; PEREIRA, J. A. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) larvae on *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae): Implications for biological control. **Agronomy**, v. 10, n.10, p. 1511, 2020.

- MAHZOUM, A.; VILLA, M.; BENHADI-MARÍN, J.; PEREIRA, J. A. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) to *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae). **Integrated Protection of Olive Crops**, v. 141, p. 172-177, 2019.
- MARTINS, C. C.; SANTOS, R. S.; SUTIL, W. P.; OLIVEIRA, J. F. A. de. Diversity and abundance of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in a Conilon coffee plantation in Acre, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 49, p. 173-178, 2019.
- MARTINS, E. F.; FRANZIN, M. L.; PEREZ, A. L.; SCHMIDT, J. M.; VENZON, M. Is *Ceraeochrysa cubana* a coffee leaf miner predator?. **Biological Control**, v. 160, 2021.
- MENDOZA, J. E.; BALANZA, V.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, A.; CIFUENTES, D.; BIELZA, P. Enhanced biocontrol services in artificially selected strains of *Orius laevigatus*. **Journal of Pest Science**, v. 95, n. 4, p. 1597-1608, 2022.
- MILLS, N. J.; HEIMPEL, G. E. Could increased understanding of foraging behavior help to predict the success of biological control?. **Current opinion in insect science**, v. 27, p. 26-31, 2018.
- MORADI, M.; HASSANPOUR, M.; FATHI, S. A. A.; GOLIZADEH, A. Foraging behaviour of *Scymnus syriacus* (Coleoptera: Coccinellidae) provided with *Aphis spiraecola* and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) as prey: Functional response and prey preference. **European Journal of Entomology**, v. 117, p. 83-92, 2020.
- MOREIRA, M. D.; NUNES, G. S.; DE OLIVEIRA, R.; BATISTA, J. L. Predation of *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) on *Hyadaphis foeniculi* (Passerini) (Hemiptera: Aphididae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 4, p. 1-6, 2019.
- NANTES, J. F. D.; PARRA, J. R. P. Influência da alimentação sobre a biologia de *Perileucoptera coffeella* (Guerin-Meneville, 1842) (Lepidoptera, Lyonetiidae). **Científica**, v. 6, p. 263-268, 1978.
- NUNES, G. S.; DO NASCIMENTO, I. N.; DE SOUZA, G. M. M.; DE OLIVEIRA, R.; DE OLIVEIRA, F. Q.; BATISTA, J. L. Biological aspects and predation behavior of *Ceraeochrysa cubana* against *Spodoptera frugiperda*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p. 20-25, 2017.
- PALOMARES-PÉREZ, M.; BRAVO-NÚÑEZ, M.; ARREDONDO-BERNAL, H. C. (2019). Functional Response of *Chrysoperla externa* (Hagen 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) fed with *Melanaphis sacchari* (Zehntner 1897) (Hemiptera: Aphididae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 121, n. 2, p. 256-264, 2019.
- PALOMARES-PÉREZ, M.; CONTRERAS-BERMÚDEZ, Y.; GRIFALDO-ALCÁNTARA, P. F.; GARCÍA-GARCÍA, R. E.; BRAVO-NÚÑEZ, M.; ARREDONDO-BERNAL, H. C. Predation capacity and larval development of *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae) fed with *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 53, n. 2, p. 225-231, 2021.
- PANTOJA-GOMEZ, L. M.; CORRÊA, A. S.; DE OLIVEIRA, L. O.; GUEDES, R. N. C. Common origin of Brazilian and Colombian populations of the neotropical coffee leaf miner,

*Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 2, p. 924-931, 2019.

PARRA, J. R. P. Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications**, v. 1, p. 2675-1305, 2019.

PRITCHARD, D. W.; PATERSON, R.; BOVY, H. C.; BARRIOS-O'NEILL, D. Frair: an R package for fitting and comparing consumer functional responses. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 8, n. 11, p. 1528-1534, 2017.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2022.

RIBEIRO, A. E. L.; CASTELLANI, M. A.; PÉREZ-MALUF, R.; MOREIRA, A. A.; LEITE, S. A.; COSTA, D. R. Occurrence of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) in two coffee cropping systems. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 1597-1603, 2014.

SARAIVA, W. V. A.; MONTEIRO, N. V.; DA SILVA DIAS-PINI, N.; VASCONCELOS, J. F.; DE GODOY ALVES FILHO, E.; DA SILVA MELO, J. W.; ... DE SOUSA NETO, E. P. *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) is a good candidate for predation of *Aleurodicus cocois* (Curtis) (Hemiptera: Aleyrodidae) in cashew crop. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 1, p. 1-12, 2022.

SHAUKAT, M. A. Feeding behavior and life durations of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) feeding on a variety of hosts. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 1, p. 691-697, 2018.

SOUZA, B.; SANTOS-CIVIDANES, T. M.; CIVIDANES, F. J.; SOUZA, A. L. V. Bioecology of natural enemies used in biological control in the Neotropical region. In: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Ed.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Springer Nature: Switzerland, 2019. 546p.

SULTAN, A.; KHAN, M. F.; KEERIO, I. D.; CHANNA, M. S.; AKBAR, M. F. Biology, life table parameters, and functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on different stages of invasive *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2021.

SULTAN, A.; KHAN, M. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) to sugarcane whitefly *Aleurolobus barodensis* (Maskell) in laboratory conditions. **Journal of insect behavior**, v. 27, n. 4, p. 454-461, 2014.

TÜZÜN, N.; OP DE BEECK, L.; BRANS, K.I.; JANSSENS, L.; STOKS, R. Microgeographic differentiation in thermal performance curves between rural and urban populations of an aquatic insect. **Evolutionary Applications**, v. 10, n. 10, p. 1067-1075, 2017.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018.

ZAREI, M.; MADADI, H.; ZAMANI, A. A.; NEDVĚD, O. Predation rate of competing *Chrysoperla carnea* and *Hippodamia variegata* on *Aphis fabae* at various prey densities and arena complexities. **Bull Insectol**, v. 72, n. 2, p. 273-280, 2019.

ZHOU, J.; LI, Z. Y.; GUAN, Y. X.; PAN, Z. P.; CHEN, K. W. Prey instar preference and functional responses of *Mallada basalis* (Walker) (Neuroptera: Chrysopidae) to different life stages of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 4, p. 1251-1256, 2021.

## CAPÍTULO 2

### Exposição de adultos de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) a baixas temperaturas para anestesia visando aplicações práticas.

#### RESUMO

A liberação de inimigos naturais para o controle de pragas agrícolas tem sido adotada em locais como os Estados Unidos e Europa. No Brasil, essa tendência tem crescido nos últimos anos. O predador *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) é comercializado por empresas de bioinsumos no país e, embora sejam comercializados na fase de ovo, pouco se sabe a respeito da dispersão dos adultos no campo. A dispersão é um dos fatores que podem impactar a colonização da área e estudos que utilizam o método de marcar-liberar-recapturar podem auxiliar na compreensão desse processo. Entretanto, marcar insetos pequenos e de corpo delicado pode ser um desafio e, para isso, a imobilização através da anestesia por exposição ao frio pode facilitar a marcação. Sendo assim, este trabalho buscou desenvolver uma metodologia de anestesia ao frio para a espécie *C. externa*. Conduziu-se o experimento no Laboratório de Controle Biológico com Entomófagos (LCBE), da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando-se fêmeas com idade padronizada. O teste foi realizado em geladeira do tipo Frost Free. Os tratamentos foram baseados no tempo e temperatura de exposição, sendo eles: T1 – 2 minutos a -19°C; T2 – 2 minutos a 0°C; T3 – 2 minutos a 12,5°C; T4 – 4 minutos a -19°C; T5 – 4 minutos a 0°C; T6 – 4 minutos a 12,5°C; T7 – 6 minutos a -19°C; T8 – 6 minutos a 0°C; T9 – 6 minutos a 12,5°C, e a testemunha, em que os adultos foram mantidos à 25°C. Avaliaram-se a mortalidade e a taxa de recuperação pós-exposição. Na etapa seguinte, as fêmeas dos tratamentos submetidas à anestesia e que se recuperaram do coma frio foram transferidas para gaiolas de PVC (10cm Ø) contendo um macho afim de estimular a oviposição. Realizou-se a coleta aleatória de 90 ovos por tratamento para avaliação da viabilidade embrionária, viabilidade das larvas de 1º, 2º e 3º instar e das pupas. Os adultos que emergiram foram sexados e contabilizados. A taxa de mortalidade não diferiu de forma significativa entre os tratamentos, porém, para a duração da anestesia houve diferença significativa, sendo que T1 (2 minutos a -19°C), T4 (4 minutos a -19°C) e T7 (6 minutos a -19°C) proporcionaram um período de anestesia mais longo. Os demais parâmetros avaliados também não foram afetados de forma significativa conforme os tratamentos aplicados. A exposição a -19°C por 4 minutos ocasionou a imobilidade dos adultos durante 103 a 208 segundos, tempo hábil para manipulação e marcação sem perda de exemplares, sendo a condição recomendada para essa finalidade. Esse trabalho fornece informações primárias para o uso da anestesia, por meio da exposição ao frio, para espécies da família Chrysopidae.

**Palavras-chave:** Crisopídeos; Coma frio; Imobilização.

## 1. INTRODUÇÃO

Os crisopídeos (Neuroptera) são insetos predadores pertencentes à família Chrysopidae, a qual abriga cerca de 1400 espécies descritas (OSWALD; MACHADO, 2018). Segundo Freitas e Morales (2009), o gênero *Chrysoperla* possui 36 espécies e, no Brasil, há registro de quatro delas: *C. externa* (Hagen, 1861), *C. defreitasi* (Brooks, 1994), *C. raimundoi* (Freitas e Penny, 2001) e *C. genanigra* (Freitas, 2003). O gênero *Chrysoperla* tem sido considerado um grupo importante de predadores que apresentam alta capacidade predatória e de adaptação a diferentes ecossistemas. Esses insetos são utilizados para o controle biológico em diversos sistemas produtivos, como em frutíferas, ornamentais, olerícolas e cultivos protegidos (TAUBER et al., 2000; SOUZA; CARVALHO, 2002; COSTA et al., 2010). Recentemente, com novas perspectivas para a agricultura, diferentes sistemas de produção têm sido adotados, principalmente na produção de café, em que buscam mais sustentabilidade e adoção de inimigos naturais para o manejo das principais pragas da cultura (SOUZA et al., 2019; CARVALHO; CARVALHO; SOUZA, 2019).

A espécie *C. externa* possui distribuição geográfica ampla, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos (Flórida, Carolina do Sul e Texas) até o sul da América do Sul (ADAMS E PENNY, 1985; BROOKS, 1994). As larvas são predadoras generalistas e alimentam-se de pulgões, cochonilhas, ácaros, tripes, entre outras (CARVALHO; SOUZA, 2009) e, mais recentemente, relatou-se a predação de imaturos da broca do café (BOTTI et al., 2021). Atualmente, no Brasil, ovos de *C. externa* têm sido comercializados por empresas de bioinsumos, entretanto, a recomendação e aplicação são feitas de forma empírica, sem informações embasadas cientificamente. A liberação de adultos de crisopídeos já é realizada em outros países, como nos Estados Unidos, e estudos demonstram que liberações de larvas ou adultos são satisfatórias e podem ser complementares (GÓMEZ-MARCO, 2022). A liberação de adultos pode ser utilizada nos agroecossistemas cafeeiros do Brasil junto a estratégias conservativas, como o uso de plantas companheiras para o fornecimento de abrigo e alimentação (RESENDE et al., 2017; VENZON, 2021), visando a estabilização e manutenção desses insetos em campo. Essa possibilidade constitui-se numa possível alternativa a apenas a liberação de ovos.

A capacidade de deslocamento de um inseto exerce influência sobre sua sobrevivência e colonização das áreas a serem exploradas (LOXDALE; LUSHAI, 1999). Assim como para parasitoides, a compreensão dos padrões de dispersão de predadores assume importância quando se trata de programas de controle biológico aumentativo (HAGLER et al., 2002).

Ensaio utilizando o método de marcar-liberar-recapturar podem auxiliar no entendimento da dispersão, padrões de movimento e taxas de mortalidade nas áreas de liberação (CULBERT et al., 2020; KIRKPATRICK et al., 2020). Os insetos podem ser marcados de forma individual ou em grupo, sendo que a marcação em massa ocorre, geralmente, de forma coletiva por meio de pós, tintas ou corantes (HAGLER; JACKSON, 2001). Contudo, as técnicas de marcação de insetos não são práticas para todas as espécies, tornando-se necessário o desenvolvimento de metodologias de acordo com os objetivos da pesquisa (LORU et al., 2013).

Para que a marcação seja feita com melhor precisão, para determinadas espécies é necessário que haja a imobilização do inseto de modo a facilitar a manipulação. A imobilização pode ser feita através da exposição ao frio ou anestésicos, como o clorofórmio e o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Loru et al. (2010) apontam o acetato de etila como um anestésico sem efeitos adversos sobre a biologia de *Chrysoperla pallida* Henry et al., 2002. No entanto, estudos indicam que a aplicação desses anestésicos pode causar impactos negativos sobre os insetos (BUSVINE, 1957; HARRIS et al., 1965). Por outro lado, quando expostos ao frio, a maioria dos insetos tende a diminuir sua atividade e perder sua capacidade de movimentação, até que, em uma dada temperatura, eles entram em um estado reversível de paralisia que é o coma frio (HAZELL; BALE, 2011).

Diversos estudos demonstram a possibilidade de exposição ao frio para a imobilização de insetos de forma a auxiliar no manuseio, como em *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) (HORI et al., 2006), *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) (ZHANG et al., 2020), *Anopheles arabiensis* Patton, 1905 (Diptera: Culicidae) (CULBERT et al., 2017) e larvas de *Ulomoides dermestoides* (Fairmaire, 1893) (Coleoptera: Tenebrionidae) (HOFFMANN et al., 2005). Entretanto, não há uma metodologia de imobilização desenvolvida para *C. externa*. Dessa forma, objetiva-se propor uma metodologia de exposição de adultos dessa espécie ao frio visando à imobilização para fins de marcação com tinta acrílica ou pigmento em pó, de modo que os adultos marcados e liberados em cultivos possam ser identificados quando na etapa da recaptura. Ademais, objetiva-se verificar possíveis efeitos da exposição ao frio sobre parâmetros biológicos (viabilidade de ovos, larvas, pupas e adultos) da progênie desse crisopídeo. Busca-se através desse experimento estabelecer um protocolo para anestesia de adultos de *C. externa* que possa atender pesquisas com objetivos diversos e, também, responder às seguintes perguntas: (i) a indução da anestesia através do coma frio, nas condições utilizadas no presente trabalho, pode ser letal? (ii) os diferentes tempos de exposição ao frio influenciam no período em que o inseto permanece anestesiado? (iii) o coma frio pode afetar a progênie de *C. externa*?

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Ovos de *C. externa* com até 24 horas após a oviposição foram coletados em gaiolas de criação mantida a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , UR de  $70\pm 10\%$  e fotofase 12:12, no Laboratório de Controle Biológico com Entomófagos (LCBE), da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) e, após emergirem, os adultos foram alimentados com dieta de lêvedo de cerveja e mel (1:1), seguindo a metodologia de Carvalho e Souza (2009).

Após três dias, tempo suficiente para o amadurecimento sexual (CANARD; PRINCIPI, 1984), os adultos foram sexados sob microscópio estereoscópico e as fêmeas foram utilizadas para o teste de anestesia por meio da exposição ao frio. Os tratamentos consistiram em tempo e temperatura de exposição, sendo os seguintes: T1 – 2 minutos a  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T2 – 2 minutos a  $0^{\circ}\text{C}$ ; T3 – 2 minutos a  $12,5^{\circ}\text{C}$ ; T4 – 4 minutos a  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T5 – 4 minutos a  $0^{\circ}\text{C}$ ; T6 – 4 minutos a  $12,5^{\circ}\text{C}$ ; T7 – 6 minutos a  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T8 – 6 minutos a  $0^{\circ}\text{C}$ ; T9 – 6 minutos a  $12,5^{\circ}\text{C}$ , e a testemunha, em que a condução dos adultos se deu nas mesmas condições da criação ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , UR de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas). Foram utilizadas 5 fêmeas/tratamento, as quais foram colocadas em tubos de vidro (8,5cm de altura x 2,5cm de diâmetro) antes de serem submetidas aos tratamentos. As temperaturas testadas foram definidas a partir daquelas que geladeiras comuns conseguem alcançar.

Utilizou-se uma Geladeira Frost Free DFW35 da marca Electrolux<sup>®</sup>, disponível no laboratório, cujas características permitem que a metodologia possa ser facilmente replicada em qualquer outro experimento utilizando a anestesia pelo frio. As temperaturas de  $0^{\circ}\text{C}$  e  $12,5^{\circ}\text{C}$  foram obtidas na parte inferior do equipamento, enquanto a temperatura de  $-19^{\circ}\text{C}$  foi alcançada na parte superior. Após os respectivos tempos de exposição ao frio, os indivíduos eram retirados e mantidos no ambiente do laboratório. Contabilizou-se, por meio de um cronômetro digital, o tempo gasto para a recuperação das fêmeas que entraram no estado de coma frio. Como recuperação adotou-se a capacidade de se erguerem e permanecerem na posição normal, além da realização de um primeiro movimento de caminhar (GOOLEY; GOOLEY, 2021). Avaliou-se, também, o número de insetos que, porventura, morreram durante a exposição às respectivas condições a que foram submetidos. Posteriormente à recuperação da anestesia, as fêmeas foram transferidas para gaiolas de PVC (10 × 10 cm) contendo um macho para que fossem estimuladas a ovipositar (RIBEIRO, 1988).

Na etapa seguinte, prosseguiu-se apenas com o acompanhamento das fêmeas provenientes dos tratamentos que ocasionaram a anestesia de fato. Foram tomadas amostras de

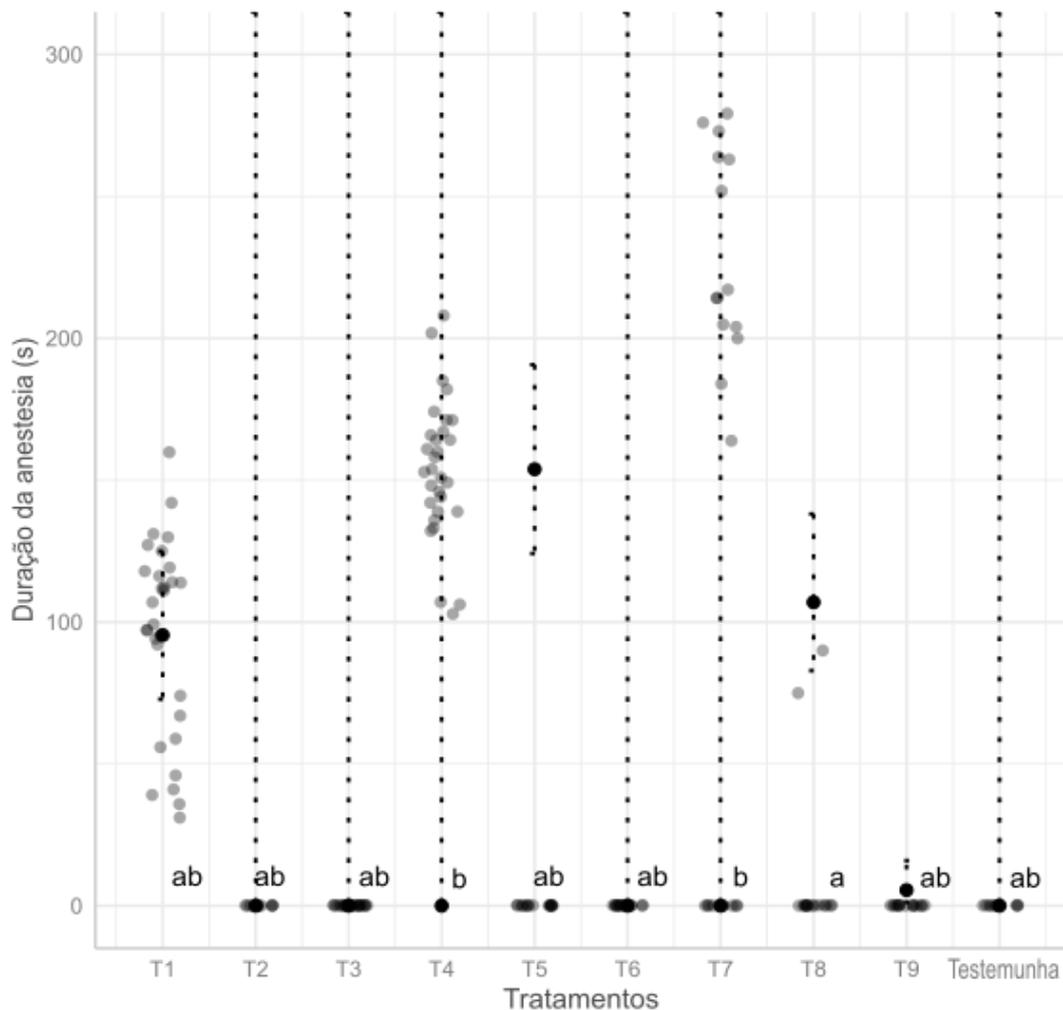
ovos visando acompanhar os efeitos do coma frio sobre a geração descendente. Para isso realizaram-se três coletas semanais (1, 8, 16 dias) de 30 ovos, totalizando 90 ovos/gaiola de cada um dos tratamentos. Esses ovos foram individualizados em tubos de ensaio (8,5 × 2,5 cm) para avaliação da viabilidade embrionária e, após a eclosão, as larvas foram alimentadas *ad libitum* com ovos de *A. kuehniella* para avaliação da viabilidade do 1º, 2º e 3º instar. Posteriormente, avaliou-se a viabilidade das pupas. Após três dias da emergência, quando os adultos atingem a maturidade sexual, procedeu a sexagem e a contabilização dos insetos machos e fêmeas e avaliação da razão sexual.

O delineamento experimental foi blocos inteiramente casualizados, com 6 repetições. As análises foram feitas através do software RStudio (R CORE TEAM, 2022). As coletas foram agrupadas através do Teste de F máximo (PEARSON; HARTLEY, 1956) e os resultados da testemunha foram analisados em conjunto com os outros tratamentos. Para todos os parâmetros avaliados procedeu-se o ajuste de modelos lineares generalizados mistos (GLMM), usando-se a distribuição de erros mais adequada a cada variável (CRAWLEY, 2012). Para o número de mortes ocasionadas pela exposição ao frio, utilizou-se a distribuição Binominal. Para a duração da anestesia, procedeu-se a distribuição Tweedie. Já para a viabilidade dos ovos e das pupas da progênie utilizou-se a distribuição Gamma inflacionada por zeros. Para os parâmetros morte da progênie, no primeiro, segundo e terceiro instar, além da mortalidade total durante o período juvenil, e número de machos, aplicou-se a distribuição de Poisson. Para a emergência de adultos e número de fêmeas, a distribuição utilizada foi a de Poisson inflacionada por zeros. Foram inicialmente ajustados modelos lineares generalizados mistos completos e, posteriormente, apenas as variáveis significativas foram adotadas no modelo final, quando significativo, se comparado ao modelo nulo ( $\chi^2$ ;  $p < 0,05$ ). Os modelos finais foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e, se significativo, realizou-se o contraste de médias marginais (*least-square means*) entre os efeitos fixos testados, com o intervalo de confiança (IC) de 95% (TÜZÜN et al., 2017).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As temperaturas e tempos de exposição testados para fêmeas de *C. externa* não resultaram em diferenças na taxa de mortalidade dos espécimes ( $p=1$ ;  $GL=10$ ;  $X^2<0$ ), mesmo com o tratamento correspondente a 6 minutos de exposição à  $-19^{\circ}\text{C}$  tendo acarretado a morte de 16 indivíduos.

Com relação ao tempo em que os adultos de *C. externa* permaneceram anestesiados, verificou-se que os tratamentos afetaram a taxa de recuperação de forma significativa ( $p<0$ ;  $GL=10$ ;  $X^2=41.02$ ) (Figura 6).



**Figura 6.** Tempo de anestesia (segundos) obtido para fêmeas de *Chrysoperla externa* após exposição a diferentes períodos e temperaturas, conforme os tratamentos T1 a T9, e seus respectivos agrupamentos de médias pelo teste de Tukey. T1: 2',  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T2: 2',  $0^{\circ}\text{C}$ ; T3: 2',  $12,5^{\circ}\text{C}$ ; T4: 4',  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T5: 4',  $0^{\circ}\text{C}$ ; T6: 4',  $12,5^{\circ}\text{C}$ ; T7: 6',  $-19^{\circ}\text{C}$ ; T8: 6',  $0^{\circ}\text{C}$ ; T9: 6',  $12,5^{\circ}\text{C}$ .

Os tratamentos T2 (2 minutos a 0°C), T3 (2 minutos a 12,5°C), T5 (4 minutos a 0°C), T6 (4 minutos a 12,5°C) e T9 (6 minutos a 12,5°C) não ocasionaram anestesia, portanto, tais condições não possibilitaram atingir o objetivo principal deste trabalho. O tratamento T8 (6 minutos a 0°C) proporcionou imobilização de apenas dois adultos, com o tempo de anestesia entre 75 e 90 segundos, não sendo, também, viável para os fins desta pesquisa.

Já os tratamentos T1 (2 minutos, -19°C), T4 (4 minutos, -19°C) e T7 (6 minutos, -19°C) se destacaram por causarem a imobilização entre 31 e 279 segundos (Tabela 2). Contudo, salienta-se que, ainda que não tenha havido diferença significativa para a mortalidade de indivíduos, as condições do T7 foram letais para 16 exemplares, fato que deve ser considerado antes de se proceder a anestesia. Outro ponto que deve ser levado em conta na escolha da condição a ser utilizada é o tempo de manuseio necessário para a atividade. O T1 proporcionou um tempo de anestesia mais curto, o T7 proporcionou um tempo mais longo, mas, com mortalidade de indivíduos, enquanto o T4 garantiu um tempo intermediário, adequado para a manipulação durante o procedimento da marcação, e sem perda de exemplares.

**Tabela 2.** Tempo de anestesia (segundos) mínimo, máximo e médio obtido para fêmeas de *Chrysoperla externa*, em função da duração e da temperatura de exposição, conforme os tratamentos T1, T4 e T7.

Tratamentos	Menor duração	Maior duração	Média
T1 (2 minutos, -19°C)	31	160	95,36
T4 (4 minutos, -19°C)	103	208	153,83
T7 (6 minutos, -19°C)	164	279	106,96

Em estudo conduzido por MacMillan et al. (2017) demonstrou-se que a duração da anestesia em insetos de uma forma geral, aumenta conforme o aumento do tempo de exposição ao método utilizado, seja através do frio, do dióxido de carbono, isoflurane ou sevoflurane. Em outro estudo, desenvolvido por Gooley e Gooley (2021), demonstrou-se que o tempo de recuperação também pode ser influenciado pela temperatura ambiente em que os insetos são expostos após a anestesia, sendo que a 25°C o período de anestesia foi mais longo em relação à exposição à 35°C. Esses estudos demonstram a complexidade da anestesia em insetos, e como o ambiente de imobilização e recuperação devem ser controlados, afim de se obter resultados mais precisos.

Segundo Frost et al. (2011), a exposição de abelhas a -18°C durante 2,4 minutos não ocasionou letalidade aos indivíduos, e os autores alertaram para o fato de que as temperaturas proporcionadas pelos refrigeradores podem variar, ressaltando-se a necessidade de atenção ao

conduzir a anestesia por meio da exposição ao frio. De acordo com Tutun, Sevin e Çetintav (2020), a exposição de abelhas por 5 minutos a  $-20^{\circ}\text{C}$  causou baixo índice de mortalidade e elevado tempo de anestesia. Os resultados de ambos estudos foram obtidos em temperaturas que se aproximam da condição térmica explorada neste trabalho. Em outro estudo, também com abelhas, o maior tempo de exposição ao frio resultou no maior tempo para recuperação (GROENING; VENINI; SRINIVASAN, 2018), assim como o observado para o tratamento T7.

Como apenas T1, T4 e T7 causaram uma anestesia de modo a atender aos objetivos da pesquisa, utilizaram-se apenas estes tratamentos para a condução da segunda parte do experimento, que buscou investigar possíveis efeitos sobre a progênie dos insetos tratados.

Com relação à viabilidade embrionária, não houve diferença ( $X^2=2.14$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.54$ ) entre os tratamentos T1, T4, T7 e a testemunha. Tampouco as larvas de primeiro ( $X^2=5.98$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.11$ ), segundo ( $X^2=2.33$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.50$ ) e terceiro instar ( $X^2=3.11$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.37$ ) tiveram sua viabilidade alterada em função dos tratamentos aos quais suas progenitoras foram submetidas, não sendo detectada diferença significativa quando contrastadas com a viabilidade verificada na testemunha.

Quanto ao número de pupas formadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $X^2=3.07$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.37$ ) e, da mesma forma, o número de adultos emergidos não diferiu significativamente ( $X^2=2.17$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.53$ ). Quanto ao número de machos ( $X^2=6.80$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.07$ ) e fêmeas ( $X^2=3.02$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.38$ ), não houve diferença significativa, o que também foi verificado para a mortalidade total ocorrida ao longo de todo período juvenil ( $X^2=3.42698$ ,  $GL=3$ ,  $p=0.33$ ).

As diferenças não significativas entre T1 (2 minutos,  $-19^{\circ}\text{C}$ ), T4 (4 minutos,  $-19^{\circ}\text{C}$ ), T7 (6 minutos,  $-19^{\circ}\text{C}$ ) e testemunha, verificadas para todos os parâmetros avaliados, apontam para o uso seguro da temperatura e duração da exposição correspondentes aos respectivos tratamentos. Esses resultados demonstram a ausência de qualquer efeito negativo sobre a progênie de fêmeas de *C. externa* submetidas às condições testadas. Em estudo conduzido por Champion e Wedell (2008), utilizando *D. melanogaster* e *Drosophila simulans* Sturtevant, 1919 (Diptera: Drosophilidae), o uso da anestesia pela exposição ao frio, apesar de ter sido letal para algumas fêmeas, não ocasionou impactos negativos sobre a fecundidade, enquanto a exposição ao dióxido de carbono interferiu negativamente sobre o sucesso reprodutivo, tanto de machos quanto de fêmeas.

Não existe uma metodologia estabelecida utilizando o frio para a anestesia de adultos de Chrysopidae. Na literatura científica encontrou-se, até a presente data, apenas o artigo de Loru et al. (2010) que trata do uso de acetato de etila para adultos de *C. pallida*. Portanto, com

a execução deste trabalho desenvolveu-se uma metodologia eficaz e fácil de ser replicada, uma vez que as temperaturas foram definidas a partir daquelas atingidas por geladeiras comuns.

Muitos estudos envolvendo a imobilização através do dióxido de carbono e do frio contemplam espécies da ordem Diptera e Hymenoptera. Conforme apontado por Loru et al. (2013), as técnicas para marcação em geral muitas vezes não são práticas, necessitando que sejam elaboradas de modo a atender diferentes espécies de forma particular. O mesmo ocorre para a anestesia de insetos, uma vez que as espécies se diferenciam quanto às características morfológicas e fisiológicas, e até dentro do mesmo gênero e espécie é importante considerar a idade antes de selecionar um protocolo de anestesia (FROST et al., 2011). Assim, para diferentes espécies e idades existem diferentes protocolos criados, e dificilmente segue-se um padrão de tempo ou temperatura. Por exemplo, Zhang et al. (2020) testaram a imobilização para machos adultos de *A. albopictus* utilizando as temperaturas de 1, 5 e 10°C por 1, 2, 3, 6 e 24 horas. Em outros estudos, como o de Chen et al. (2014), adultos de *A. mellifera* foram submetidos a 0°C até a imobilização, que levou entre 90 segundos a 2 minutos. Ainda há estudos que relatam a exposição de indivíduos a 0°C, mas não mencionam a duração, como o de MacMillan et al. (2017), utilizando *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae). Dessa forma, se torna complexa a comparação entre tempo e temperatura de anestesia, ainda levando em conta a diferença entre espécies.

A maioria dos estudos envolvendo a anestesia por meio do frio não explora seus possíveis efeitos sobre aspectos reprodutivos da espécie, haja vista a preocupação se concentrar nas avaliações cognitivas. Isso porque inúmeros trabalhos mostram a tendência da exposição ao frio ocasionar perda de memória (PISOKAS et al., 2022; YILMAZ et al., 2022) e dificuldade em reter o aprendizado anterior à anestesia, nos casos de múltiplas ou prolongadas exposições ao frio (VANBAAREN; OUTERMAN; BOIVIN, 2005). Tais efeitos colaterais podem ser resultantes da interrupção na atividade neural do inseto (OVERGAARD; MACMILLAN, 2017), sendo que a recuperação da anestesia é ditada pelo retorno do sistema nervoso central e da função muscular (ANDERSEN; OVERGAARD, 2019).

No presente trabalho, após o tempo de recuperação, que variou entre 31 e 279 segundos, observou-se a normalidade de várias funções, como a capacidade dos insetos de se locomoverem, caminhando ou voando, a limpeza de peças bucais e antenas, além da movimentação das antenas. O estudo de Okubo et al. (2020), com abelhas europeias (*Apis mellifera ligustica* L., 1758), aponta que, 30 minutos após o processo de anestesia, o comportamento de forrageamento retornava ao normal. Ainda de acordo com MacMillan et al. (2017), quando a anestesia é utilizada assertivamente, sem repetições exageradas e com

fornecimento do tempo adequado para recuperação, não há impacto sobre as características da história de vida do inseto, e nem sobre a tolerância ao estresse.

Dessa forma, os três tratamentos que satisfizeram as necessidades desta pesquisa (T1: 2 minutos, -19°C; T4: 4 minutos, -19°C; e T7: 6 minutos, -19°C) (ocasionam a anestesia e não levam os insetos à morte) podem ser utilizados para efetuar a marcação dos insetos. E, com base em trabalhos citados e observações *in loco*, sugere-se à espera de, ao menos, 30 minutos para a liberação em campo, tempo que possam se recuperar cognitivamente. Além disso, este trabalho fornece informações primárias para investigações sobre a anestesia por meio da exposição ao frio em indivíduos da família Chrysopidae.

#### 4. CONCLUSÃO

Para a anestesia de adultos de *C. externa*, pode-se utilizar a temperatura de  $-19^{\circ}\text{C}$ , por 2, 4 ou 6 minutos, levando em conta o período desejado para o manuseio dos exemplares. Entretanto, ressalta-se que a exposição por 6 minutos pode ocasionar letalidade de espécimes. Sugere-se o uso da exposição a  $-19^{\circ}\text{C}$  por 4 minutos, condição que permite um tempo hábil para manipulação (entre 103 e 208 segundos).

Os diferentes tempos de exposição ao frio influenciaram no período em que o inseto permaneceu anestesiado, sendo que o maior tempo de permanência à baixa temperatura proporcionou maior tempo de imobilização, entretanto, pode acarretar na morte do inseto.

Nesse estudo não se obteve evidências que o coma frio, nas condições utilizadas, possa afetar a progênie de *C. externa*.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D. Neuroptera of the Amazon basin. Part 11a. Introduction and Chrysopini. **Acta Amazonica**, v.15, n.1, p.413-479, 1985.
- ANDERSEN, M. K.; OVERGAARD, J. The central nervous system and muscular system play different roles for chill coma onset and recovery in insects. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 233, p. 10-16, 2019.
- BOTTI, J. M. C.; MARTINS, E. F.; FRANZIN, M. L.; VENZON, M. Predation of Coffee Berry Borer by a Green Lacewing. **Neotropical Entomology**, v. 51, n.1, p. 160-163, 2021.
- BROOKS, S. J. A taxonomic review of the common green lacewing genus *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae). **Bulletin of the Natural History Museum (Entomology Series)**, v. 63, p.137-210, 1994.
- BUSVINE, J.R. A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. **Commonwealth Institute of Entomology**, London. 1957. 208 p.
- CARVALHO, C. F.; CARVALHO, S. M.; SOUZA, B. Biological control in major crops, forests, pasture, weeds, and plant diseases in the Neotropical region. In: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Ed.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Springer Nature: Switzerland, 2019. 546p.
- 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. 430p.
- CHAMPION DE CRESPIGNY, F. E., & WEDELL, N. The impact of anaesthetic technique on survival and fertility in *Drosophila*. **Physiological Entomology**, v. 33, n. 4, p. 310-315, 2008.
- CHEN, Y. M.; FU, Y.; HE, J.; WANG, J.H. Effects of cold narcosis on memory acquisition, consolidation and retrieval in honeybees (*Apis mellifera*). **Zoological Research**, v. 35, n. 2, p. 118-123, 2014.
- COSTA, R. I. F.; SOUZA, B.; FREITAS, S. Dinâmica espaço-temporal de taxocenoses de crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) em ecossistemas naturais. **Neotropical Entomology**, v. 39, p.470-475, 2010.
- CRAWLEY, M. J. **The R book**. John Wiley & Sons, 2012.
- CULBERT, N.J.; KAISER, M.; VENTER, N.; VREYSEN, M. J; GILLES, J.R.; BOUYER, J. A standardized method of marking male mosquitoes with fluorescent dust. **Parasites & vectors**, v.13, p.1-11, 2020.
- CULBERT, N.J.; LEES, R.S.; VREYSEN, M.J.B; DARBY, A. C.; GILLES, J.R. Optimized conditions for handling and transport of male *Anopheles arabiensis*: effects of low

temperature, compaction, and ventilation on male quality. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.164, p.276–283, 2017.

DAQUILA, B. V.; MOI, D. A.; SCUDELER, E. L.; DOS SANTOS OLIVEIRA, J. A.; POLANCZYK, R. A.; CONTE, H. Selectivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) to the polyphagous predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). **Submetido para publicação**, 2022. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-2180540/v1>. Acesso em 02 jan. 2023.

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

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

FREITAS, S. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas, p. 209-224. *In*: Parra, JRP, PSM Botelho, BS Corrêa-Ferreira & JMS Bento. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole. 2002.

FREITAS, S; PENNY, N. D. The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, v. 52, p. 245-395, 2001.

FROST, E. H.; SHUTLER, D.; HILLIER, N. K. Effects of cold immobilization and recovery period on honeybee learning, memory, and responsiveness to sucrose. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 10, p. 1385-1390, 2011.

GÓMEZ-MARCO, F., GEBIOLA, M., SIMMONS, G. S., & STOUTHAMER, R. Native, naturalized and commercial predators evaluated for use against *Diaphorina citri*. **Crop Protection**, v. 155, 2022.

GONÇALVES, K.K.; MILAN-RÖDEL, P. F. **Imobilização de adultos de *Xiphelimum* sp. (Orthoptera, Tettigoniidae) sob baixas temperaturas**. Salão de Iniciação Científica (06.: 1994: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS/PROPESQ, 1994.

GOOLEY, Z. C.; GOOLEY, A. C. Metabolic effects of anesthetics (cold, CO<sub>2</sub>, and isoflurane) and captivity conditions in isolated honey bee (*Apis mellifera*) foragers under different ambient temperatures. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-9, 2021.

GROENING, J.; VENINI, D.; SRINIVASAN, M. V. Effects of cold anaesthesia on the defensive behaviour of honeybees. **Insectes Sociaux**, v. 65, n. 3, p. 359-366, 2018.

HAGEN, H. Synopsis of the Neuroptera of North America, with a list of the South American species. **Smithsonian Miscellaneous Collections**, v.49 p.1--347, 1861.

HAGLER, J.R.; JACKSON, C.G. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. **Annual Review of Entomology**, v.46, p. 511-543, 2001.

- HAGLER, J.R.; JACKSON, C.G.; HENNEBERRY, T.J.; GOULD, J.R. Parasitoid mark-release-recapture techniques-II. Development and application of a protein marking technique for *Eretmocerus* spp., parasitoids of *Bemisia argentifolii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p.661-675, 2002.
- HARRIS, R.L.; HOFFMAN, R.A.; FRAZAR, E.D. Chilling vs. other methods of immobilizing flies. **Journal of Economic Entomology**, v.58, p.379-380, 1965.
- HOFFMANN, L.G.; TEXEIRA, J.S.G; CORSEUIL, E. Imobilização de larvas de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera, Tenebrionidae) sob baixa temperatura. **Biociências**, v.13, p.119-121, 2005.
- HORI, S.; TAKEUCHI, H.; ARIKAWA, K.; KINOSHITA, M.; ICHIKAWA, N.; SASAKI, M.; KUBO, T. Associative visual learning, color discrimination, and chromatic adaptation in the harnessed honeybee *Apis mellifera* L.. **Journal of Comparative Physiology**, v. 92, p.691–700, 2006.
- KIRKPATRICK, D.M.; RICE, K.B.; IBRAHIM, A.; FLEISCHER, S.J.; TOOKER, J.F.; TABB, A.; MEDEIROS, H.; MORRISON, W.R.; LESKEY, T.C. The Influence of Marking Methods on Mobility, Survivorship, and Field Recovery of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) Adults and Nymphs. **Environmental Entomology**, v.49, p.1026-1031, 2020.
- LORU, L.; FOIS, X.; SASSU, A.; PANTALEONI, R.A. An individual marking technique for green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae). **The Florida Entomologist**, v.96, p.628-630, 2013.
- LORU, L.; SASSU, A.; FOIS, X.; PANTALEONI, R. A. Ethyl acetate: a possible alternative for anaesthetizing insects. **Annales de la Société Entomologique de France**, v.46, p.422-424, 2010.
- LOXDALE, H.D.; LUSHAI, G. Slaves of the environment: the movement of herbivorous insects in relation to their ecology and genotype. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences**, v.354, p.1479-1495, 1999.
- MACMILLAN, H. A.; NØRGÅRD, M.; MACLEAN, H. J.; OVERGAARD, J.; WILLIAMS, C. J. A critical test of *Drosophila* anaesthetics: Isoflurane and sevoflurane are benign alternatives to cold and CO<sub>2</sub>. **Journal of Insect Physiology**, v. 101, p. 97-106, 2017.
- OKUBO, S.; YOSHIYAMA, M.; NIKKESHI, A.; MORIMOTO, N.; KIMURA, K. Effect of cold narcosis on foraging behavior of European honey bees (*Apis mellifera ligustica*) tracked using a radio-frequency identification (RFID) system. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 1027-1032, 2020.
- OVERGAARD, J.; MACMILLAN, H. A. The integrative physiology of insect chill tolerance. **Annual Review of Physiology**, v. 79, p. 187-208, 2017.
- PEARSON, E. S.; HARTLEY, H. O. **Biometrika Tables for Statisticians**. 1 (Ed.) England: Cambridge University Press, 1956.

PISOKAS, I.; RÖSSLER, W.; WEBB, B.; ZEIL, J.; NARENDRA, A. Anesthesia disrupts distance, but not direction, of path integration memory. **Current Biology**, v. 32, n. 2, p. 445-452, 2022.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2022.

RESENDE, A. L. S. SOUZA, B., FERREIRA, R. B., & AGUIAR-MENEZES, E. L. Flowers of Apiaceous species as sources of pollen for adults of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera). **Biological Control**, v. 106, p. 40-44, 2017.

RIBEIRO, M. J. **Biologia de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera, Chrysopidae) alimentada com diferentes dietas**. 2019. 131 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1988.

SOUZA, B.; CARVALHO, C.F. Population dynamics and seasonal occurrence of adults of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) in a citrus orchard in southern Brazil. **Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae**, v.48, n.2, p.301-310, 2002.

SOUZA, B.; SANTOS-CIVIDANES, T. M.; CIVIDANES, F. J.; SOUZA, A. L. V. Bioecology of natural enemies used in biological control in the Neotropical region. In: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Ed.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Springer Nature: Switzerland, 2019. 546p.

STRANG, T.J. **Controlling Insect Pests with Low Temperature**, CCI Notes 3/3. Canadian Conservation Institute (CCI) Notes 3/3. 1997.

TAUBER, M.J.; TAUBER, C.A.; DAANE, K.M.; HAGEN, K.S. Commercialization of predators: recent lessons from green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae: *Chrysoperla*). **American Entomologist**, v. 46, p. 26-38, 2000.

TEIXEIRA, J.S.G. **Imobilização de lagartas de *Cydia araucariae* (Lepidoptera, Tortricidae) sob baixas temperaturas**. Salão de iniciação Científica (17.: 2005: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2005.

TUTUN, H.; SEVIN, S.; ÇETINTAV, B. Effects of different chilling procedures on honey bees (*Apis mellifera*) for anesthesia. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 67, n. 3, p. 289-294, 2020.

TÜZÜN, N.; OP DE BEECK, L.; BRANS, K.I.; JANSSENS, L.; STOKS, R. Microgeographic differentiation in thermal performance curves between rural and urban populations of an aquatic insect. **Evolutionary Applications**, v. 10, n. 10, p. 1067-1075, 2017.

VAN BAAREN, J; OUTREMAN, Y; BOIVIN, G. Effect of low temperature exposure on oviposition behaviour and patch exploitation strategy in parasitic wasps. **Animal Behaviour**, v. 70, n. 1, p. 153–163, 2005.

VENZON, M. Agro-ecological management of coffee pests in Brazil. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v.5, 2021.

YILMAZ, A.; GAGNON, Y.; BYRNE, M.; BAIRD, E.; DACKER, M. Cold-induced anesthesia impairs path integration memory in dung beetles. **Current Biology**, v. 32, n. 2, p. 438-444, 2022.

ZHANG, D.; XI, Z.; LI, Y.; WANG, X.; YAMADA, H.; QIU, J.; LIANG, Y.; ZHANG, M.; WU, Y.; ZHENG, X. Toward implementation of combined incompatible and sterile insect techniques for mosquito control: Optimized chilling conditions for handling *Aedes albopictus* male adults prior to release. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.14, p.1-23, 2020.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tradicionalmente o controle utilizado para o manejo do bicho-mineiro do cafeeiro possui como foco a fase larval e adultos em trânsito. Isso porquê a pupa tende a se instalar na parte baixa do cafeeiro, conhecida como saia, o que muitas vezes dificulta a aplicação de inseticidas químicos. Os resultados obtidos neste trabalho sobre o comportamento de *C. externa* e *C. cubana* demonstram positivamente a habilidade desses predadores em encontrar, manipular e consumir a presa, interrompendo o ciclo de *L. coffeella* e, conseqüentemente, diminuindo a população de adultos no agroecossistema. Com o resultado obtido da resposta funcional para o segundo instar de *C. cubana* frente a pupas, pode-se inferir que o predador é um aliado, especialmente em baixas densidades da praga.

O uso do segundo instar do crisopídeo pode propiciar um maior tempo de atuação como agente de controle, além de que seu aparelho bucal está mais desenvolvido e que a voracidade tende a aumentar com o instar. Entretanto, são necessários mais estudos envolvendo o uso do primeiro instar do predador, uma vez que, no Brasil são comercializados ovos de crisopídeos para liberação, e no presente trabalho observou-se indícios da dificuldade de tal instar em lidar com a presa no estágio de pupa. Ademais, não há estudos que indiquem a viabilidade de ovos e taxa de sucesso de larvas neonatas do predador em agroecossistemas cafeeiros, a partir da metodologia de liberação de ovos atualmente difundida por empresas.

Quanto à anestesia por meio da exposição ao frio para a imobilização seguida da marcação, visando estudos de dispersão em campo, se mostrou ser uma metodologia eficiente e capaz de ser reproduzida em qualquer laboratório que se disponha de uma geladeira. Não houve evidências de que a exposição a  $-19^{\circ}\text{C}$  por dois, quatro ou seis minutos afetasse a progênie de *C. externa*, entretanto, sugerem-se novos estudos que acompanhem mais do que uma geração, bem como o desempenho do predador liberado em campo. Além disso, essa metodologia consiste no primeiro protocolo desenvolvido para uma espécie da família Chrysopidae, que possivelmente poderá ser replicada para outras espécies da mesma família, auxiliando no manuseio sem que haja danos morfofisiológicos aos indivíduos.