



BRUNO BARBOSA AMARAL

**OTIMIZAÇÃO DA CRIAÇÃO DE *Chrysoperla
externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)
VISANDO SUA PRODUÇÃO EM ESCALA
COMERCIAL**

LAVRAS - MG

2011

BRUNO BARBOSA AMARAL

**OTIMIZAÇÃO DA CRIAÇÃO DE *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)
(Neuroptera: Chrysopidae) VISANDO SUA PRODUÇÃO EM ESCALA
COMERCIAL**

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

Orientadora
Dra. Brígida Souza

**LAVRAS - MG
2011**

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

Amaral, Bruno Barbosa.

Otimização da criação de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)
(Neuroptera: Chrysopidae) visando sua produção em escala
comercial / Bruno Barbosa Amaral.– Lavras : UFLA, 2011.
64 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Brígida Souza.

Bibliografia.

1. Crisopídeos. 2. Insetos entomófagos. 3. Criação massal. 4.
Controle biológico. 5. Inimigo natural. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 595.747

BRUNO BARBOSA AMARAL

**OTIMIZAÇÃO DA CRIAÇÃO DE *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)
(Neuroptera: Chrysopidae) VISANDO SUA PRODUÇÃO EM ESCALA
COMERCIAL**

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

APROVADA em 25 de fevereiro de 2011.

Dr. César Freire Carvalho

UFLA

Dra. Lenira Viana Costa Santa-Cecília

IMA/EPAMIG/EcoCentro

Dra. Brígida Souza

Orientadora

LAVRAS - MG

2011

Aos meus familiares, amigos e namorada, pelo apoio, incentivo e conselhos em todos os momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e força proporcionada para vencer mais esta etapa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, por ter me proporcionado a oportunidade de realização do mestrado.

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

A minha orientadora, professora Brígida Souza que, além de amiga de enorme consideração, foi a principal colaboradora deste trabalho. Muito obrigado pela oportunidade de crescimento e de ampliação dos meus conhecimentos ao longo dos anos.

A toda minha família: pais, irmão, tios, tias, primos, primas, sobrinho e em especial a minha avó, pela compreensão, amizade e apoio que sempre me dedicaram.

A minha querida namorada, Kethully Seabra, por acreditar em mim e estar sempre ao meu lado, dando-me forças e ouvidos nos momentos difíceis.

Aos meus amigos de longa data, pelo companheirismo e por estarem sempre presentes em minha vida, compartilhando de bons e maus momentos.

Ao professor César Freire Carvalho, pela amizade, valiosos ensinamentos e sugestões dadas ao trabalho, objetivando melhorá-lo.

Aos colegas e amigos Carlos Eduardo Souza Bezerra, Ana Luiza Viana de Sousa e Stephan Malfitano Carvalho, que não mediram esforços e gentilmente acompanharam e me instruíram para a realização e execução dos experimentos e análises estatísticas.

Aos membros da banca examinadora: professor Dr. César Freire Carvalho, Dra. Lenira Viana Costa Santa-Cecília e Dr. Rogério Antônio Silva,

por se disponibilizarem e lerem este trabalho e por todas as sugestões para a melhoria do mesmo.

Aos professores do Departamento de Entomologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

Aos colegas e amigos do curso de Pós-Graduação de Agronomia/Entomologia, pelo agradável convívio e que, junto comigo, percorreram esta trajetória de muito esforço e aprendizado.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, pela colaboração em tudo que foi possível para a implantação do experimento.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho foi conduzido em laboratório, visando aprimorar técnicas de produção massal de *Chrysoperla externa* (Hagen) para seu uso como agente de controle biológico. Nos ensaios foram avaliados: preferência da coloração e da textura do substrato de oviposição para orientar a postura nas unidades de criação (UC), em testes com e sem chance de escolha; eficiência de três concentrações de hipoclorito de sódio no despedicelamento de ovos de dois e três dias de idade e influência do tempo de armazenamento sobre a duração e viabilidade/sobrevivência de ovos e pupas de diferentes idades. Verificou-se maior quantidade de ovos nas UC com paredes nas cores vermelha e branca nos testes sem chance de escolha. Para o teste com chance de escolha, houve maior quantidade de ovos no substrato vermelho. Quando avaliado a textura, a maior quantidade de ovos foi observada no substrato camurça em ambos os testes. A solução clorada com 3,0% do produto (hipoclorito de sódio a 11%) foi aquela que proporcionou a eliminação dos pedicelos no menor tempo, causando a menor perda da viabilidade para ambas as idades. Os ovos podem ser armazenados à temperatura de 12°C, tendo aqueles de um dia de idade apresentado os melhores resultados, podendo ser armazenados por até 16 dias, eclodindo um dia após a transferência para 25°C, com viabilidade de 80%. Pupas podem ser armazenadas à temperatura de 11°C, tendo aquelas de dois dias de idade sido as que apresentaram as melhores respostas, podendo ser armazenadas por 24 dias, mantendo uma sobrevivência de 74% e ocorrendo a emergência do adulto dois dias após a transferência para 25°C.

Palavras-chave: Criação massal. Crisopídeos. Controle biológico. Inimigo natural.

ABSTRACT

This study was conducted at the laboratory aiming to improve techniques for mass production of *Chrysoperla externa* (Hagen) for use as biological control agent. In the tests were assessed: color preference and texture over oviposition substrate for guiding posture in the rearing units (RU), in free-choice and non-choice tests; efficiency of three sodium hypochlorite concentrations in dissolving egg stalks of two and three days old; influence of storage time on length and viability/survival of eggs and pupae of different ages. There was a greater quantity of eggs on the red and white walls of the RU's in the non-choice test. For the free-choice test, there was a greater quantity of eggs on the red substrate. When evaluating the texture, the largest number of eggs was observed on the suede substrate in both tests. The chlorine solution with 3.0% of the product (sodium hypochlorite 11%) was that which allowed the removal of egg stalks in the shortest time and causing less loss of viability for both ages. Eggs can be stored at 12°C, while those of one day of age showed the best results and can be stored for up to 16 days, breaking out one day after transfer to 25°C, with viability of 80%. Pupae can be stored at 11°C, and those with two days of age had the best responses, which can be stored for 24 days, with a survival of 74% and adult emergence occurring after two days of transfer to 25°C.

Keywords: Mass rearing. Lacewings. Biological control. Natural enemy.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1	Aspectos gerais sobre crisopídeos	13
2.2	Biologia de <i>Chrysoperla externa</i>	16
2.3	Criação de crisopídeos	18
2.4	Influência da cor e textura do substrato sobre insetos	20
2.5	Técnicas de coleta de ovos em criações de crisopídeos	22
2.6	Armazenamento e transporte de crisopídeos	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Manutenção e criação de <i>Chrysoperla externa</i>	27
3.2	Ensaio 1: cor do substrato de oviposição	28
3.3	Ensaio 2: textura do substrato de oviposição	29
3.4	Ensaio 3: remoção do pedicelo dos ovos com hipoclorito de sódio ..	30
3.5	Ensaio 4: armazenamento de ovos.....	32
3.6	Ensaio 5: armazenamento de pupas	32
3.7	Análises estatísticas	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	Testes de preferência para oviposição e distribuição dos ovos nas UC's.....	35
4.2	Preferência da coloração para oviposição sem chance de escolha ...	36
4.3	Preferência da coloração para oviposição com chance de escolha ..	38
4.4	Preferência da textura para oviposição sem chance de escolha	40
4.5	Preferência da textura para oviposição com chance de escolha	42
4.6	Produção dos ovos no período de avaliação, nos testes de cor e textura de substrato	44
4.7	Eficácia de hipoclorito de sódio no despedicelamento de ovos	48
4.8	Viabilidade dos ovos expostos ao hipoclorito de sódio.....	50
4.9	Determinação da melhor concentração em função do tempo de exposição ao hipoclorito de sódio para o despedicelamento e manutenção da viabilidade dos ovos	52
4.10	Armazenamento de ovos.....	53
4.11	Armazenamento de pupas	55
5	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

Dentre as formas de controle de artrópodes-praga e doenças empregadas na agricultura, o método químico é o que vem sendo utilizado em maior escala, desde a sua descoberta, na primeira metade do século passado. É uma técnica eficiente que proporciona a eliminação do agente de dano econômico em um curto espaço de tempo, em que, muitas vezes, é possível conferir o efeito imediato de seu uso. Porém, seus efeitos adversos são motivos de preocupação, uma vez que esses produtos fitossanitários causam vários problemas, como desequilíbrio ambiental, contaminação do solo e mananciais hídricos, presença de resíduos nos alimentos afetando direta e indiretamente a saúde humana, aparecimento de pragas até então secundárias, atingindo populações de artrópodes não-alvo como inimigos naturais e agentes polinizadores. Além de tudo isso, geralmente, causam dependência cada vez maior, visto que os organismos-alvo adquirem resistência ao produto, forçando o aumento na frequência de aplicações e mudança de princípio ativo, agravando ainda mais o problema. Por isso, novas estratégias para se conseguir a sanidade das culturas sem a agressão ao meio ambiente são cada vez mais pesquisadas pela comunidade científica em resposta a uma sociedade que busca alimentos mais saudáveis e livres de contaminações.

É nesse contexto que a prática do controle biológico vem se tornando cada vez mais necessária como uma ferramenta de supressão às pragas, de maneira isolada ou dentro de um programa de manejo integrado. De maneira geral, organismos benéficos, como parasitoides, predadores e entomopatógenos, são utilizados para esse controle, tanto em cultivos protegidos como em campo.

Atualmente, quase 150 espécies de inimigos naturais são produzidas massalmente e comercializadas para o controle biológico, sendo a grande maioria composta por agentes entomófagos (LENTEREN, 2009). É conveniente

salientar que, para a criação massal de qualquer agente de controle, são necessários estudos precedentes visando o melhor manejo com base nas exigências de cada organismo, sempre buscando a otimização do processo.

Os crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) são insetos predadores encontrados naturalmente em muitas culturas de interesse econômico, exercendo importante papel no controle biológico de pragas e classificados entre os mais comumente utilizados e disponíveis comercialmente, principalmente na Europa e na América do Norte (TAUBER et al., 2000). Na América do Sul se destaca a espécie *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), pela ocorrência em diversos agrossistemas, eficiência na regulação natural de artrópodes-praga e facilidade de criação em laboratório (ALBUQUERQUE; TAUBER; TAUBER, 1994; CARVALHO; SOUZA, 2009; COSTA et al., 2003).

Apesar do potencial inquestionável dos neurópteros da família Chrysopidae, no Brasil ainda não são utilizados em grandes projetos, devido, entre vários fatores, à inexistência de tecnologia de criação massal acessível e adaptada às nossas condições (FERREIRA, 1997).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver e aperfeiçoar técnicas de produção de *C. externa* em grande escala, visando seu uso como agente de controle biológico aplicado de artrópodes-praga, por meio dos seguintes objetivos:

- a) buscar informações sobre a preferência da cor e textura do substrato de oviposição de *C. externa*, visando a orientar a postura na unidade de criação, facilitar a coleta e, conseqüentemente, a manutenção da criação;
- b) avaliar a idade do embrião mais adequada para submissão a um processo de despedicelamento através de solução clorada, a melhor concentração e tempo de exposição dos ovos a essa solução;

- c) determinar o melhor tempo de armazenamento para ovos e pupas de diferentes idades, em câmaras climatizadas, para manejo da criação e conhecimento da biologia do inseto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais sobre crisopídeos

Os crisopídeos são insetos predadores pertencentes à ordem Neuroptera, família Chrysopidae e, que na natureza, podem constituir-se em agentes de controle de diversos artrópodes-praga, haja vista a gama de presas aceitáveis que atendem às suas necessidades biológicas de crescimento, desenvolvimento e reprodução. São capazes de predação ovos, lagartas neonatas, pulgões, cochonilhas, moscas-brancas, psilídeos, tripés e ácaros, dentre outros artrópodes de tegumento macio e tamanho reduzido (CARVALHO; SOUZA, 2009).

As espécies *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) e *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister, 1839), ambas de origem holoártica, têm sido as mais estudadas e utilizadas atualmente no controle biológico. Vários trabalhos têm mostrado a capacidade de supressão de pragas por meio de liberações desses predadores em casa de vegetação e campo (HAGLEY, 1989; HAGLEY; MILES, 1987; HASSAN, 1978; KLINGEN; JOHANSEN; HOF SVANG, 1996). Essas espécies são comercializadas por várias empresas na América do Norte e Europa, especialmente para o controle de pulgões, ácaros e moscas-brancas.

Outras espécies do gênero *Chrysoperla* Steinmann, 1964 também têm sido estudadas, principalmente *C. mediterranea* (Hölzel, 1972), *C. plorabunda* (Fitch, 1855), *C. zastrowi* (Esben-Petersen, 1928) e *C. nipponensis* (Okamoto, 1914), além de outras encontradas em várias partes do mundo (TAUBER et al., 2000). Os indivíduos desse gênero não apresentam hábito predatório na fase adulta e se alimentam de produtos naturais, como exudatos açucarados, pólen e “honeydew” secretado por alguns hemípteros, dentre outros (CARVALHO; SOUZA, 2009; COSTA et al., 2003).

Estudando o potencial de predação de *C. carnea* no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em plantas de crisântemo, Scolpes (1969) constatou, em experimentos em casa de vegetação e laboratório, que os afídeos foram controlados quando utilizadas proporções predador: presa maiores que 1:50, para larvas no segundo instar e de 1:200, no terceiro instar. Verificou-se também que, à temperatura de 21°C, o período larval teve duração de 13,4 dias e foram predados 385 espécimens do pulgão. A 15°C, a fase larval foi de 29,5 dias e 371 pulgões foram consumidos pelas larvas.

Goolsby et al. (2000) afirmam que liberações periódicas de *C. rufilabris* reduzem populações da cochonilha *Pseudococcus longispinus* (Targioni-Tozzetti, 1867) (Hemiptera: Pseudococcidae) na planta ornamental conhecida como jiboia [*Epipremnum aureum* (Linnaeus)], cultivada em casa de vegetação. A distribuição de ovos do predador permitiu controlar, por meio das larvas, a população da cochonilha por quatro semanas, mantendo-a abaixo do nível de dano econômico e não afetando a estética da planta.

Humeres et al. (2009) compararam a ação de três predadores do hemíptero *Pseudacysta perseae* (Heidemann, 1908) (Heteroptera: Tingidae), praga em pomares de abacate na Califórnia, EUA. Os agentes de controle estudados foram larvas de segundo instar de *C. rufilabris*, fêmeas adultas de *Franklinothrips orizabensis* Johansen, 1974 (Thysanoptera: Aeolothrypidae) e o ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae). O mais promissor, entre as espécies avaliadas, foi *C. rufilabris*, tanto nos experimentos em casa de vegetação quanto em laboratório.

Nas regiões neotropicais, a espécie *C. externa* apresenta vários atributos que proporcionam a esse predador um elevado potencial para uso em programas de liberação. Dentre essas características, podem ser citadas voracidade das larvas, elevada capacidade reprodutiva, diversidade de presas das quais pode se alimentar, o que possibilita sua ocorrência em vários agrossistemas, e facilidade

de criação e multiplicação em laboratório (CARVALHO; SOUZA, 2009). Contudo, no Brasil, as pesquisas relacionadas ao uso efetivo dessa e de outras espécies de crisopídeos como agentes de controle de pragas ainda são incipientes.

Bonani et al. (2009) estudaram o efeito das presas *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) e *Toxoptera citricida* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae) sobre o desenvolvimento das fases de larva e pupa de *C. externa* em laboratório, à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas. Como testemunha, foram utilizados ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Quando utilizado *T. citricida* como alimento em todos os instares ou em estádios consecutivos, houve mortalidade de 100% do predador. Larvas alimentadas com *P. citri* apresentaram viabilidade semelhante àquela obtida quando se alimentaram apenas de *A. kuehniella*, diferindo somente quando, no primeiro instar, foram alimentadas com *T. citricida*.

Em laboratório, Barbosa et al. (2008) avaliaram a eficiência de larvas de primeiro instar de *C. externa* no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas. Larvas foram liberadas nas proporções 1:5, 1:10 e 1:20, em plantas inoculadas com 60; 100 e 140 ninfas do pulgão. A eficiência das larvas em eliminar as populações da praga variou em função do tempo, tendo, na proporção de 1:5, ocorrido eliminação total da colônia de pulgões no decorrer de dois dias. Nas proporções de 1:10 e 1:20 não houve a eliminação completa dos pulgões durante os quatro dias avaliados. Constatou-se que nas três liberações houve redução na população de *M. persicae*, sendo mais eficientes quando os predadores foram liberados nas proporções de 1:5 e 1:10.

2.2 Biologia de *Chrysoperla externa*

A oviposição de *C. externa* é individual e cada ovo possui um pedicelo hialino que o mantém afastado do substrato de postura, característica essa compartilhada entre todas as espécies de Chrysopidae. Esse pedicelo tem função de proteção contra o ataque de predadores e o canibalismo das próprias larvas (SMITH, 1922). Os ovos têm formato elipsóide, apresentam coloração verde-clara logo após a oviposição e se tornam mais escuros à medida que o embrião se desenvolve. Próximo à eclosão ficam amarronzados, com área ocular bem definida, apresentando manchas da segmentação torácica e abdominal através do córion (SOUZA, 1999).

As larvas são terrestres, campodeiformes, com o corpo relativamente estreito, alongado, fusiforme, achatado dorsoventralmente, com abdome não globoso e apresenta grande número de cerdas filiformes. A cabeça tem formato aproximadamente trapezoidal, as peças bucais são do tipo sugador mandibular e dirigidas para frente (prognata) e as antenas filiformes mais longas que as mandíbulas e maxilas (SOUZA, 1999). Apresentam grande capacidade locomotora, são muito ativas e altamente vorazes às suas presas, sendo comum a ocorrência de canibalismo. As larvas sofrem três ecdises, sendo a última realizada no interior do casulo (RIBEIRO, 1988).

No final do desenvolvimento larval, a larva procura um abrigo, onde tece um casulo quase esférico de seda branca secretada pelos tubos de Malpighi, onde passam as fases de pré-pupa e pupa. É possível distinguir essas duas fases pela presença de um disco preto na extremidade do casulo, que corresponde à última exúvia da larva, marcando o início da fase de pupa (RIBEIRO, 1988).

O adulto apresenta coloração esverdeada, asas membranosas reticuladas e hialinas, e as anteriores com nervuras transversais costais não bifurcadas. As antenas são filiformes e, em *C. externa*, têm comprimento menor que o corpo. O

aparelho bucal é do tipo mastigador. Seu alimento constitui-se de substâncias encontradas na natureza, como pólen e néctar e também do “honeydew” secretado por alguns hemípteros (RIBEIRO; CARVALHO, 1991).

Giffoni et al. (2007) estudaram o ciclo biológico de *C. externa* a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $60\pm 5\%$ UR, alimentada com ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789) (Lepidoptera: Gelechiidae), com os afídeos *Aphis craccivora* Koch, 1854 e *Aphis nerri* Boyer de Fonscolombe, 1841 (Hemiptera: Aphididae), com *Thrips tabaci* Lyndeman, 1888 (Thysanoptera: Thripidae) e *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval, 1867) (Acari: Tetranychidae). Estes autores concluíram que somente *S. cerealella* e *A. craccivora* foram adequados ao desenvolvimento do crisopídeo, que atingiu o estágio pupal com 7,9 e 7,5 dias, respectivamente.

Larvas de *C. externa* alimentadas com ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), *S. cerealella* e *A. kuehniella*, a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $75\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, apresentaram um período larval de 9,5 dias, 9,4 dias e 9,0 dias, com viabilidade 73,3%, 83,3% e 83,3%, para o período larva-adulto, respectivamente. A quantidade de ovos consumidos foi de 0,041 g, 0,018 g e 0,043 g, para as respectivas presas. Verificou-se que mais de 80% do consumo total ocorreu durante o terceiro instar e, durante o segundo e o terceiro instares, o consumo total foi superior a 93% (BORTOLI et al., 2006).

Bezerra et al. (2006) avaliaram alguns aspectos biológicos de adultos de *C. externa* provenientes de larvas alimentadas com ninfas de primeiro, segundo, terceiro instar e fêmeas adultas da cochonilha *P. citri* em laboratório, a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas. Estes autores constataram que ninfas nos três instares e fêmeas adultas de *P. citri* fornecidas como alimento não afetaram a razão sexual, o período de pré-oviposição, o período embrionário e a longevidade dos adultos de *C. externa*. A produção diária e total de ovos do crisopídeo foi afetada pelo tipo de alimento fornecido ao predador durante a fase

de larva, observando-se maior produção quando as larvas foram alimentadas com fêmeas adultas da cochonilha.

Silva et al. (2004) estudaram a duração e a viabilidade das fases imaturas de *C. externa* alimentada com ninfas da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) criadas em folhas de pepino (*Cucumis sativus* Linnaeus), couve (*Brassica oleracea* Linnaeus) e na erva adventícia leiteiro (*Euphorbia heterophylla* Linnaeus), a $25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas. A planta hospedeira da mosca-branca afetou a duração do primeiro e do terceiro instares de *C. externa*, tendo a menor duração da fase de larva ocorrido quando alimentadas com ninfas criadas em plantas de pepino. Com relação à fase de pupa, houve um prolongamento na duração quando as larvas foram alimentadas com ninfas oriundas de leiteiro.

2.3 Criação de crisopídeos

O primeiro pesquisador a desenvolver uma técnica para a produção massal de crisopídeos foi Finney (1948), trabalhando com *Chrysopa californica* (Coquillett, 1890) (= *Chrysoperla carnea*), nos Estados Unidos. As larvas eram criadas em recipientes de madeira de 101,60 x 152,40 x 3,05 cm, contendo internamente várias células feitas com compensado de pinus. A alimentação das larvas era feita com ovos da traça da batata *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (= *Gnorimoschema*) (Lepidoptera: Gelechiidae). Por esse método obtinha-se uma viabilidade de aproximadamente 50% de casulos em cada recipiente. Os adultos eram criados em um cilindro de papelão de 17,78 cm de altura por 17,15 cm de diâmetro, com as paredes forradas com papel e a parte superior fechada com gaze. A alimentação era à base de mel e de “honeydew” da cochonilha *P. citri*.

Após diversos estudos desenvolvidos nas décadas subsequentes, visando à obtenção de métodos mais eficientes para a produção de crisopídeos em escala comercial, Araújo e Bichão (1990) criaram um sistema automatizado para a produção massal de *C. carnea* com unidades individuais de oviposição e emergência que se interligavam. O número de adultos emergidos era determinado por meio da contagem dos casulos vazios. As larvas eram criadas em bandejas com 33,0 x 22,0 x 7,0 cm e, quando próximo do período de pupação, tiras de papelão eram colocadas para servir como substrato. Assim que os adultos emergiam, passavam para a unidade de oviposição, de forma retangular de 25,0 x 21,0 x 15,0 cm, situada acima, onde um rolo (tipo telex) recoberto com papel que deslizava em calhas laterais servia como substrato de oviposição. Embora essa metodologia tenha representado grande avanço nos métodos de criação massal desses predadores, não foi adotada pelos laboratórios de produção comercial ou criações para pesquisas científicas.

A principal dificuldade para a criação massal de crisopídeos em laboratório está no fato de suas larvas possuírem hábito canibal, o que, muitas vezes, implica em criações individualizadas. Essa técnica é utilizada para experimentos que objetivam a avaliação de parâmetros biológicos das fases imaturas, como se tem utilizado nos laboratórios de biologia de insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, onde as larvas são individualizadas em recipientes de vidro de 2,5 x 8,5 cm, vedados com PVC laminado. Porém, para criações de médio a grande porte, se torna inviável economicamente, pois exige cuidados no manuseio, é onerosa e extremamente trabalhosa (CARVALHO; SOUZA, 2009).

A alimentação das larvas de crisopídeos de diversas espécies criadas em laboratório é realizada principalmente com ovos dos lepidópteros *S. cerealella*, *A. kuehniella*, *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lepidoptera: Pyralidae) e *P. operculella*, os quais proporcionam um desenvolvimento adequado para as

larvas, que atingem a fase adulta com alta viabilidade (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Nos laboratórios de biologia de insetos da UFLA, a criação dos adultos tem sido feita em tubos de PVC de diâmetros diferentes e cortados na altura desejada, conforme as finalidades da criação. As secções obtidas são revestidas internamente com papel filtro, papel toalha ou, mesmo, papel sulfite, que servem como substrato para oviposição. A parte superior é vedada com filme de PVC ou tecido “voile” e a parte inferior é apoiada em uma bandeja plástica forrada com papel toalha. Atenção é dada ao número de insetos confinados nas unidades de criação, uma vez que tem sido verificada uma relação inversa entre a produção de ovos e a densidade de casais (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Com relação à alimentação, Ribeiro (1988) forneceu a adultos de *C. externa*, criados na fase de larva com ovos de *A. kuehniella*, sete tipos de dietas, visando verificar a mais apropriada. Constatou-se que lêvedo de cerveja e mel, na proporção de 1:1 e água destilada adicionada até a obtenção de uma consistência pastosa, foi a que proporcionou a mais elevada produção de ovos.

2.4 Influência da cor e textura do substrato sobre insetos

Insetos podem apresentar preferências com relação a várias características presentes no ambiente que podem influenciar de maneira determinante seu comportamento, como, por exemplo, busca por alimento, abrigo, local para acasalamento e oviposição. Conhecendo-se essas preferências, muitas vezes se torna possível a melhoria das técnicas de criação em condições de laboratório, utilizando-se alguns desses artifícios.

Existe uma grande diversidade de estudos relacionados ao efeito da cor sobre o comportamento de insetos. Sabe-se que alguns Hymenoptera, por exemplo, usam características como cor, formato, tamanho, odor e outras

características para discriminar plantas (GUMBERT, 2000), e isso também ocorre com parasitoides dessa ordem na localização de seus hospedeiros (BOTTRELL; BARBOSA; GOULD, 1998). Visando evidenciar a importância de estudos dessa natureza, alguns resultados obtidos para outros grupos de insetos serão relatados, devido ao fato de as informações para crisopídeos serem relativamente escassas. Johnson e Midgley (2001), por exemplo, estudaram o comportamento de escarabeídeos conhecidos como “besouros macaco” (Scarabaeidae: Rutelinae: Hopliini) e que se constituem nos principais insetos polinizadores de *Ixia dubia* Vent (Iridaceae), *Spiloxene capensis* (Linnaeus) Garside (Hypoxidaceae) e *Gazania pectinata* (Thunb) Spreng (Asteraceae). Essas plantas apresentam flores inodoras, com cores vivas e no seu interior uma coloração mais escura que, aparentemente, mimetiza um besouro. Foram utilizados modelos de flores de papel para descobrir qual fator influencia a atração desses insetos e, diferente das expectativas, os besouros não mostraram preferência pelas flores de centro escurecido e tampouco por aquelas de uma única cor. Também não mostraram preferência pelas flores de coloração forte quando essas continham machos ou fêmeas colados no centro. Porém, houve uma grande concentração de besouros em flores de coloração alaranjada, quando comparada às demais (vermelha, amarela e azul). O resultado desse estudo indicou que o comportamento desses escarabeídeos foi influenciado primeiramente pela coloração do substrato em relação à presença de outro besouro na flor ou nas flores com centro escurecido.

Outro exemplo relevante refere-se ao trabalho desenvolvido por Brevault e Quilici (2007), com a finalidade de se determinar como fêmeas adultas da mosca das frutas do tomateiro, *Neoceratitis cyanescens* (Bezzi, 1923) (Diptera: Tephritidae), em que se detectou a fruta hospedeira após chegar ao habitat da planta. Foi observado o comportamento de resposta desse inseto a modelos coloridos em laboratório, utilizando-se exemplares de moscas

capturadas no campo em três espécies de plantas hospedeiras naturais pertencentes à família Solanaceae: tomateiro *Solanum lycopersicum* Linnaeus, fumo-bravo *Solanum mauritianum* Scopoli e maria-pretinha *Solanum americanum* Miller. Esses dípteros foram liberados dentro de uma câmara fechada contendo esferas de diversas cores. Observou-se maior atração pelas esferas alaranjadas, independente do hospedeiro natural em que a mosca foi capturada. Esses resultados comprovaram a importância das características visuais da planta hospedeira para os insetos especialistas.

Com relação à textura do substrato, em criações de crisopídeos adultos são utilizadas tradicionalmente gaiolas cilíndricas de PVC, com volumes diferentes ajustados conforme a finalidade da criação. Esses recipientes são revestidos internamente com papel filtro, papel toalha ou papel sulfite, que servem como substrato de oviposição. A substituição do material empregado para vedar a parte superior das unidades de oviposição por um tecido de textura apropriada permite a concentração da oviposição nesse local, conseguindo-se um aumento de até oito vezes no número de ovos por unidade de área. Outra alternativa para se conseguir uma concentração de ovos nos recipientes de criação consiste em fixar transversalmente na parte superior da gaiola uma tira de papel toalha de 2 cm de largura logo após o confinamento dos adultos pré-emergidos, para que as fêmeas adquiram o hábito de ovipositar nesse local (CARVALHO; SOUZA, 2009).

2.5 Técnicas de coleta de ovos em criações de crisopídeos

A coleta dos ovos é uma das etapas mais difíceis no processo de criação de crisopídeos devido ao fato de as fêmeas ovipositarem de maneira aleatória no interior das unidades de criação e pela presença de um fino pedicelo de seda que mantém o ovo aderido ao substrato (CARVALHO; SOUZA, 2009; KARELIN;

YAKOVCHUK; DANU, 1989). Em pequenas criações, como é o caso dos laboratórios de biologia de insetos da UFLA, a retirada desses ovos é feita com o auxílio de uma tesoura de ponta fina ou lâmina de barbear. Esse processo, porém, se torna inviável para criações comerciais de médio a grande porte, devido ao grande número de ovos a serem recolhidos (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Uma das técnicas estudadas visando ao despedicelamento dos ovos de crisopídeos baseia-se no uso de uma solução de hipoclorito de sódio no intuito de destruir o pedicelo e liberar os ovos (FINNEY, 1948, 1950). Essa técnica possibilita a remoção completa do pedicelo, o que é de extrema importância no que se refere à liberação de ovos no campo, seja esta via manual ou mecânica, pois possibilita que os ovos fiquem livres, não ocorrendo o emaranhamento causado pelos resquícios do pedicelo quando cortados.

Carvalho, Canard e Alauzet (1998) estudaram a viabilidade e a interferência na duração do período embrionário de *C. mediterranea*, quando utilizadas diversas concentrações de hipoclorito de sódio para despedicelamento de ovos com um e três dias de idade. Não houve interferência na duração do período embrionário, porém, com o aumento da concentração do hipoclorito de sódio, houve uma redução na viabilidade, principalmente em ovos de um dia.

Bezerra et al. (2009) trabalharam com três concentrações de solução clorada associada a três diferentes tempos de exposição, visando avaliar o despedicelamento de ovos de *Chrysoperla genanigra* e a viabilidade dos ovos tratados. Observou-se que, quando utilizadas concentrações de cloro a 2% por dois minutos e de 4% por um minuto ou dois minutos, houve destruição completa do pedicelo de todos os ovos sem influência na viabilidade.

Ferreira (1997) realizou testes visando o despedicelamento de ovos de *C. externa*, utilizando-se soluções de hipoclorito de sódio em baixas concentrações (menores que 1%). O melhor resultado foi obtido quando os ovos

foram imersos na solução de 0,05%, durante cinco minutos, obtendo-se uma viabilidade superior a 75% e eficiência de despedicelamento de 72%.

2.6 Armazenamento e transporte de crisopídeos

De acordo com Parra (2002), um dos problemas das criações massais de insetos é o armazenamento. Uma vez que essas criações são pouco frequentes em nossas condições, uma das dificuldades que o entomologista encontra para o desenvolvimento de estudos básicos é a indisponibilidade de insetos em qualquer período do ano. Uma das soluções encontradas para contornar esse problema seria a manutenção do inseto em temperaturas que paralisassem temporariamente seu desenvolvimento. Esse tipo de armazenamento também facilitaria o atendimento da necessidade de maiores quantidades do inimigo natural por parte do produtor, nos casos em que a capacidade máxima de produção no laboratório não for suficiente para suprir essa demanda. Facilitaria, também, o transporte de insetos entre diferentes regiões, impedindo a eclosão ou a emergência durante o envio.

Parra (2002) ressalva que uma das formas de se iniciar o armazenamento de uma fase de desenvolvimento do inseto (ovo, pupa) é por meio da determinação do limiar térmico de desenvolvimento (temperatura-base). Como essa temperatura paralisa o desenvolvimento sem matar o inseto, poderia ser utilizada como temperatura ideal para armazenamento.

Kinzer (1976, citado por TULISALO, 1984), afirma que ovos de crisopídeos são sensíveis a baixas temperaturas, mas podem ser armazenados por um período de até 14 dias a 10°C, sem apresentar uma taxa significativa de mortalidade dos embriões. Porém, quando armazenados a 8°C por um período de três semanas, houve mortalidade de 40% dos embriões.

Maia, Carvalho e Souza (2000) estudaram as exigências térmicas de *C. externa* proveniente do município de Lavras, MG, e alimentada com o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rondani, 1952) (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório. A temperatura base para a fase de ovo foi de 10,7°C, com constante térmica de 61,0 graus-dias. Para a fase de pupa, foi relatada temperatura base de 10,4°C e constante térmica de 107,4 graus-dias. De maneira semelhante, Figueira, Carvalho e Souza (2000), trabalhando com a mesma espécie de crisopídeo, porém, alimentada com ovos de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), obtiveram 11,3° e 10,7°C como temperatura base para o desenvolvimento embrionário e fase de pupa, respectivamente. Esses resultados mostraram, também, que a velocidade do desenvolvimento das fases imaturas de *C. externa* está diretamente relacionada com a temperatura.

Ferreira (1997), trabalhando com *C. externa* em condições de laboratório, avaliou o efeito de diferentes temperaturas e escotofase no armazenamento de ovos e pupas, ambos com 24 horas de idade. As temperaturas estudadas foram de -10°, -5°, 0°, 5° e 10°C, para as duas fases de desenvolvimento do crisopídeo. Observou-se que, a 10°C e escotofase total, os ovos podem ser armazenados por um período de 15 dias, mantendo uma viabilidade superior a 50%, e as pupas por até 15 dias, com viabilidade de 96%. Estudando a mesma espécie de crisopídeo, Costa (2003) constatou que, armazenando ovos à temperatura de 10°C por um período de nove dias, a viabilidade foi superior a 90% e, a partir do décimo quinto dia, foi inferior a 50%. Não foi constatada diferença significativa na viabilidade de ovos com embriões de diferentes idades, quando foram armazenados por sete dias.

Para o transporte de crisopídeos durante a comercialização, Tauber et al. (2000) sugeriram que, se o envio for realizado na fase de ovo, deverão ser utilizados recipientes com algum controle térmico e os ovos deverão ser

enviados no início do período embrionário, prevenindo a eclosão e o canibalismo entre as larvas. Para o transporte de larvas, deverão ser utilizadas embalagens apropriadas contendo material inerte, visando suporte e abrigo, além de alimento (ovos de *S. cerealella* ou *A. kuehniella*) para reduzir as chances de canibalismo. No entanto, os autores salientam a necessidade de mais estudos nessa área, focados em mostrar como realizar esse processo de transporte de maneira mais eficiente e em determinar qual a melhor fase para o envio desses predadores.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Manutenção e criação de *Chrysoperla externa*

Os espécimens de *C. externa* utilizados nos experimentos foram provenientes da criação existente no Departamento de Entomologia (DEN) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, onde são mantidos em sala climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas. Nessa criação, os adultos são mantidos em recipientes cilíndricos de PVC de 20 cm de altura x 20 cm de diâmetro, revestidos internamente por papel filtro branco. A parte superior é vedada com filme de PVC laminado e a inferior é apoiada em uma bandeja plástica forrada com papel toalha branco.

Realiza-se a troca dos recipientes a cada três dias, para a retirada dos ovos, troca da dieta e da água, e higienização da criação. A alimentação consiste de lêvedo de cerveja e mel na proporção de 1:1, pincelada em tiras de parafilm® de 10 cm de comprimento e 2 cm de largura, fixadas na parede lateral da parte superior dos recipientes. No fundo de cada um deles, utiliza-se um frasco com capacidade para 5 mL, contendo algodão embebido em água destilada.

A remoção dos adultos para a realização das atividades de manutenção da criação é feita por meio da liberação dos insetos em gaiolas de acrílico de 52 cm de altura x 32 cm de largura x 32 cm de profundidade e posterior recaptura e transferência para nova gaiola de oviposição. Essas atividades são realizadas manualmente.

Os ovos obtidos são mantidos nos próprios recipientes de oviposição para a manutenção da criação. São retiradas a dieta e a água utilizadas para os adultos e, próximo à eclosão das larvas, são acrescentadas tiras de papel toalha com 3,5 cm de largura, em quantidade suficiente para servir de abrigo e reduzir o canibalismo. A alimentação é feita com ovos de *A. kuehniella* fornecidos à

vontade às larvas do predador. Para a coleta de ovos para fins experimentais, no laboratório do DEN/UFLA utilizam-se tesouras de ponta fina ou lâmina afiada para o corte dos pedicelos.

3.2 Ensaio 1: cor do substrato de oviposição

Foram preparadas unidades de criação (UC) constituídas de tubo de PVC de 10 cm de altura x 10 cm de diâmetro, cujas paredes internas foram revestidas por papéis coloridos tipo “colorset”, os quais serviram como substrato de oviposição para *C. externa*. Utilizaram-se papéis nas cores branca, preta, vermelha e verde, as duas últimas nas tonalidades 5R4/14 e 5G4/10, respectivamente, de acordo com o sistema de cores de Munsell (1976). A extremidade superior das UC foi fechada por tecido “voile”, apresentando um orifício centralizado de tamanho suficiente para o fornecimento da dieta e água para os adultos, conforme metodologia sugerida por Freitas (2001). Nessa abertura foi introduzido um recipiente de alimentação composto de um frasco com capacidade para 3 mL, de um anel de borracha com 4 cm de diâmetro e de um pedaço de espuma de poliuretano. O anel de borracha é encaixado no gargalo do frasco que é preenchido com água e com a espuma, deixando-se aproximadamente 1 cm para fora, onde é colocada a dieta (cerca de 10 mg). Este recipiente de alimentação é colocado em posição invertida no orifício do tecido “voile”, umedecendo a espuma, a qual serve como meio para o fornecimento de água para os insetos, evita a dessecação da dieta e aumenta a umidade relativa do ar no interior da UC. O recipiente de alimentação foi trocado a cada 48 horas, fornecendo sempre água e dieta fresca, de modo a evitar a proliferação de microrganismos. A parte inferior da UC foi vedada com tecido tipo “filó”, visando facilitar a visualização dos insetos no seu interior, sem a necessidade de abrir as UC.

Foram realizados testes com e sem chance de escolha. Para os testes sem chance de escolha, toda a parede interna das UC (305 cm²) foi revestida por papel de mesma cor e, para o teste com chance de escolha, foram utilizados papéis nas quatro cores, os quais foram recortados, de modo a revestir cada quarto (1/4) da superfície interna de cada UC, com área de 76,25 cm² para cada cor. Foi colocado em cada UC um casal de *C. externa* recém-emergido e oriundo da criação de manutenção.

Foram avaliados período de pré-oviposição, número de ovos produzidos diariamente e número total de ovos colocados em cada cor e em toda a área da UC (parede + tecido de cobertura), ao longo de 30 dias consecutivos. As avaliações foram efetuadas diariamente, durante todo o período experimental.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos correspondentes às cores branca, preta, vermelha e verde, para os testes com e sem chance de escolha. As repetições foram em número de dez, totalizando 20 e 80 exemplares de crisopídeos adultos dispostos em casais, nos testes com e sem chance de escolha, respectivamente.

3.3 Ensaio 2: textura do substrato de oviposição

A metodologia foi a mesma utilizada no experimento anterior, diferindo quanto à textura do substrato para oviposição. Em testes preliminares, foram escolhidos quatro dentre os seguintes materiais para serem oferecidos aos crisopídeos como substrato de oviposição: papel toalha, papel sulfite, papel filtro, papel vegetal, papel camurça, papel crepom, etil vinil acetato (EVA) e tecido não tecido (TNT), todos na cor branca. Nesse teste observou-se que houve maior concentração de ovos nos seguintes substratos: papel sulfite, filtro, camurça e EVA, tendo a escolha levado em conta a atratividade da textura para a oviposição. O EVA é um composto químico de diversos materiais, tais como

resinas, agentes de expansão, cargas, ativadores, auxiliares de processo, pigmentos e outros polímeros, como borracha ou termoplásticos (GUERRA CHAPEUS, 2011). Os parâmetros avaliados foram os mesmos e, igualmente, as avaliações foram efetuadas diariamente durante todo o período experimental, que se prolongou por 30 dias após o início da oviposição.

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos correspondentes aos materiais escolhidos para os testes com e sem chance de escolha. As repetições foram em número de 10, totalizando 20 e 80 adultos de crisopídeos dispostos em casais, nos testes com e sem chance de escolha, respectivamente.

3.4 Ensaio 3: remoção do pedicelo dos ovos com hipoclorito de sódio

Papéis utilizados como substrato de oviposição na criação de manutenção e contendo ovos de *C. externa* com 12 horas de idade foram retirados dos recipientes de criação e mantidos a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas. Quando apresentaram o período embrionário a ser estudado, os ovos foram retirados dos papéis cortando-se o pedicelo com uma lâmina afiada e depositados em tubos de vidro de 2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura.

Foi utilizada solução clorada em diferentes concentrações, assim como diferentes tempos de exposição ao produto, e avaliada a viabilidade de ovos com embriões de dois e três dias. Com o auxílio de uma pipeta, foram adicionados, a cada tubo, 35 mL da solução clorada previamente preparada nas concentrações de 0,0% (testemunha), 2,0%, 2,5% e 3,0% do produto. Os ovos ficaram expostos à solução por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 segundos. As concentrações e os tempos de exposição dos ovos ao produto foram estabelecidos com base em testes preliminares.

Assim, foram efetuados 48 testes resultantes das três concentrações e da testemunha (água pura), 6 tempos de exposição e 2 idades embrionárias. Foram utilizadas 3 repetições constituídas por 20 ovos de cada idade embrionária, ou seja, 60 para 2 dias e 60 para 3 dias, totalizando na avaliação de 2.880 ovos para todo o experimento.

Para a obtenção da solução clorada, utilizou-se o produto hipoclorito de sódio P.A. com teor de cloro ativo de 137 g/L (11,48%). Por meio de diluição em água, obtiveram-se as concentrações desejadas para a realização do experimento, ou seja, 2,0%, 2,5% e 3,0% do produto, que correspondem a 0,23%, 0,29% e 0,34% de cloro ativo presente na solução clorada, respectivamente.

Após a adição da solução clorada nos tubos contendo os ovos, esses recipientes foram vedados com filme de PVC e agitados manualmente, de maneira suave e constante, durante os tempos determinados. Em seguida, os ovos foram recolhidos em um pequeno coador de tecido “voile”, deixados em água corrente durante um minuto para a remoção do cloro e colocados sobre uma folha de papel toalha para a absorção do excesso de água. Visando uma secagem completa, os ovos foram submetidos a uma corrente de ar produzida por um pequeno aspirador elétrico durante dois minutos, conforme proposto por Bezerra et al. (2009).

Em seguida, os ovos foram individualizados em placas de microtitulação, vedados com filme de PVC e acondicionados em câmaras climatizadas, a $25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas, para avaliação do número de ovos despedicelados e viabilidade desses ovos.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com 12 tratamentos correspondentes às idades do embrião (dois níveis) e ao tempo de exposição à solução clorada (seis níveis), estudados separadamente para cada concentração do produto.

3.5 Ensaio 4: armazenamento de ovos

Ovos de *C. externa* oriundos da criação de manutenção com diferentes idades embrionárias foram acondicionados em placas de microtitulação, as quais são dotadas de 96 compartimentos. As placas foram cobertas por filme de PVC e mantidas por períodos de tempo estabelecidos para o ensaio de armazenamento em câmaras climatizadas a $12\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, com UR de 70% e fotofase de 12 horas.

Os tratamentos foram constituídos por ovos com idades de um (0-24 horas), dois (24-48 horas) e três (48-72 horas) dias, os quais foram armazenados por 0 (testemunha), 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias. Foi utilizado um tratamento testemunha para cada idade do embrião, o qual foi composto pelo mesmo número de ovos e mantido em câmara climatizada a $25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 21 tratamentos, com 3 repetições constituídas por 32 ovos, perfazendo um total de 2.016 ovos em todo o experimento. Após o período de armazenamento, os ovos foram transferidos para câmara climatizada nas mesmas condições do tratamento testemunha, para observação do período embrionário e viabilidade. Dessa forma, o período de desenvolvimento do embrião foi contabilizado após a transferência para as condições “normais” de criação.

3.6 Ensaio 5: armazenamento de pupas

Pupas de *C. externa* com diferentes idades, obtidas da criação de manutenção, foram acondicionadas em tubos de vidro de 2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura. Os tubos foram cobertos por filme de PVC e mantidos por períodos de tempo pré-determinados em câmaras climatizadas a $11\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas.

Os tratamentos foram constituídos por pupas com idades de dois (24-48 horas) e seis (120-144 horas) dias, armazenadas por 0 (testemunha), 10, 20, 30 e 40 dias. Para cada uma das idades foi utilizada uma testemunha com o mesmo número de pupas, as quais foram mantidas em câmaras climatizadas a $25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, UR de 70% e fotofase de 12 horas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 840 pupas dispostas em 10 tratamentos, avaliando-se 28 pupas por tratamento, em três repetições. Após o armazenamento, as pupas foram transferidas para câmaras climatizadas reguladas nas mesmas condições, para observação do período pupal e viabilidade.

3.7 Análises estatísticas

Os dados obtidos em todos os experimentos foram analisados empregando-se o software R® (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), com a rotina Generalized Linear Models (GLM). A comparação entre os diferentes níveis de tratamento, quando necessária, foi realizada por meio de contraste ($P\leq 0,05$).

Nos experimentos de avaliação do efeito da cor e da textura do substrato na oviposição de *C. externa*, os dados foram analisados usando distribuição de Poisson com função de ligação “log”. Para a viabilidade, os dados seguiram a distribuição binomial com função de ligação “logit”. As médias (\pm erro padrão) do período de pré-oviposição, número total de ovos no substrato de oviposição (para diferentes cores e texturas) e número total de ovos no interior da gaiola, com distribuição normal, foram analisadas pelo teste de Scott e Knott (1974) e, quando não seguiram distribuição normal, foram analisadas pelo teste de contraste. A proporção de ovos no substrato de oviposição em relação ao total

ovipositado em toda a UC foi analisada pelo teste de proporção (VERZANI, 2011).

Nos experimentos de armazenamento de ovos e pupas, a duração do período assumiu uma distribuição de Poisson com função de ligação “log” e corrigiu-se a viabilidade por meio da fórmula de Abbott (1925). Naqueles instalados para avaliação do despedicelamento (número e viabilidade), os dados foram analisados segundo efeito dose-resposta, distribuição binomial e função de ligação “logit”.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes de preferência para oviposição e distribuição dos ovos nas UC's

Em ambos os experimentos relacionados à influência do substrato para oviposição de *C. externa*, notou-se uma tendência de as fêmeas ovipositarem no terço superior das paredes internas e no tecido “voile” utilizado para vedar as UC, independente da cor ou da textura do substrato testado. Comportamento semelhante foi relatado por Costa et al. (2003), trabalhando com a mesma espécie de crisopídeo em UC de mesmas dimensões e revestidas com papel filtro branco que serviu como substrato para oviposição. Karelin, Yakovchuk e Danu (1989) também observaram geotropismo negativo para oviposição, em fêmeas de *C. carnea* criadas em UC retangulares revestidas com diferentes materiais.

A postura no tecido usado para vedar a parte superior das UC gera uma dificuldade a mais no processo de coleta dos ovos, tornando a criação mais onerosa e complexa, uma vez que esses ovos aí depositados devem ser removidos individualmente com auxílio de uma tesoura de ponta fina, enquanto os demais podem ser retirados mais facilmente com uma lâmina afiada (COSTA et al., 2003). Em se tratando de uma criação em maior escala, esses ovos não seriam “aproveitados”, devido à dificuldade de se proceder à sua remoção do substrato.

Visando concentrar a postura dos crisopídeos em um determinado local da UC, Carvalho e Souza (2009) sugerem a utilização de uma faixa de papel toalha branco fixada transversalmente na parte superior da UC logo após o confinamento dos adultos recém-emergidos para que as fêmeas adquiram o hábito de ovipositarem nesse local, tornando a coleta dos ovos mais viável. Karelin, Yakovchuk e Danu (1989) propuseram o uso de um material inibidor

nas paredes internas das UC e um material atrativo para a oviposição pelas fêmeas de crisopídeos.

Assim, o êxito dos testes sobre atratividade da cor e da textura do substrato na oviposição com a finalidade de permitir a concentração das posturas de *C. externa* nas paredes laterais das unidades de criação tornará o processo mais prático, menos laborioso e mais eficiente, o que acarretará na otimização do processo de coleta dos ovos e no aproveitamento do maior número deles, com a consequente redução do custo para a produção.

4.2 Preferência da coloração para oviposição sem chance de escolha

Houve uma redução significativa no período de pré-oviposição quando os casais de *C. externa* foram mantidos nas UC com paredes internas de coloração verde, o que evidencia um provável estímulo dessa cor para oviposição mais precoce (Tabela 1). O fato de o verde ser a cor predominante entre os vegetais pode provocar uma incitação à oviposição precoce, o que, em seu hábitat natural, pode ser uma grande vantagem adaptativa. De acordo com Chapman (1998), alguns insetos possuem um pigmento visual com capacidade de absorção máxima na faixa de espectro da cor verde, entre 490-540 nm, e seu raio de absorção geralmente se estende abaixo de 400 nm, em região ultravioleta, e acima de 600 nm, ou seja, no comprimento de onda da cor verde.

Tabela 1 Período de pré-oviposição (dias) e número de ovos (\pm EP) produzidos por *Chrysoperla externa*, em função da cor do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste sem chance de escolha

Cores	Pré-oviposição *	Nº de ovos na parede da UC **	Nº total de ovos na UC **	Proporção (Parede/UC) ***
Vermelho	4,5 \pm 0,2 ^a	455,2 \pm 43,4 ^a	660,4 \pm 22,3 ^a	0,69 ^b
Verde	3,8 \pm 0,1 ^b	443,7 \pm 17,4 ^a	595,7 \pm 22,4 ^b	0,74 ^a
Branco	4,9 \pm 0,3 ^a	418,2 \pm 47,4 ^a	653,4 \pm 17,4 ^a	0,64 ^c
Preto	4,2 \pm 0,1 ^a	290,1 \pm 39,8 ^b	574,1 \pm 13,2 ^b	0,51 ^d

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de contraste ($P>0,05$); ** médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P>0,05$); *** valores proporcionais seguidos por mesma letra não diferem entre si pelo teste de proporção ($P>0,05$)

E.P. = Erro padrão

UC = Unidade de criação

Quanto à fecundidade, os números de ovos obtidos nas paredes internas das UC, no decorrer dos 30 dias de avaliação, não diferenciaram significativamente entre si para as cores vermelha, verde e branca, nas quais foram coletados 455,2; 443,7 e 418,2 ovos, respectivamente. Na cor preta houve um número expressivamente menor, obtendo-se 290,1 ovos (Tabela 1). De acordo com Karelin, Yakovchuk e Danu (1989), a cor preta não é atrativa para postura por *C. carnea* e pode ser utilizada como repelente de oviposição, permitindo a concentração dos ovos em um lugar mais atrativo para as fêmeas desse crisopídeo. Efeito semelhante pode ocorrer em *C. externa*, uma espécie pertencente ao mesmo gênero de *C. carnea* e considerada do mesmo grupo “carnea”.

Houve também diferença significativa entre as médias do número total de ovos coletados nas UC, ou seja, quando contabilizados aqueles depositados na parede e aqueles depositados no tecido utilizado para vedar a parte superior

da UC. O maior número de ovos foi observado nos substratos vermelho (660,4 ovos/UC) e branco (653,4 ovos/UC), em relação ao verde e preto (595,7 e 574,1 ovos/UC, respectivamente) (Tabela 1). Não há uma referência bibliográfica que dê suporte à hipótese de que as cores vermelha e branca possam estimular a oviposição em Chrysopidae e promover a produção de um maior número de ovos. O resultado obtido pode ser devido ao período de 30 dias, estipulado para a condução do experimento, ter sido insuficiente para a avaliação desse parâmetro. Desse modo, outros estudos precisam ser desenvolvidos visando o acompanhamento dos casais de crisopídeos durante todo o período reprodutivo para a comprovação de que essas cores proporcionam maior fecundidade a esses insetos.

Apesar de a cor vermelha ter proporcionado maior número de ovos depositados em toda UC, bem como na parede separadamente, quando se analisam proporcionalmente os ovos obtidos na parede em relação ao total produzido, verifica-se que a cor verde permitiu uma concentração de 74% da produção, cujos ovos foram depositados nas paredes. Assim, constata-se que o verde foi a cor que mais atraiu as fêmeas de *C. externa* para postura em relação ao “voile” que vedava a parte superior da UC. Esse porcentual foi seguido dos obtidos nas cores vermelha (69%), branca (64%) e preta (51%), tendo todas se diferenciado entre si estatisticamente (Tabela 1).

4.3 Preferência da coloração para oviposição com chance de escolha

Foi observada maior concentração de ovos (160,6) no substrato de coloração vermelha quando os crisopídeos foram confinados em UC contendo também as cores verde, branca e preta, estudadas ao longo de 30 dias do período de oviposição. Este resultado mostra que há uma preferência das fêmeas em ovipositarem em substrato vermelho. As demais cores não diferiram entre si,

correspondendo a 112,0, 80,7 e 73,3 ovos depositados nos substratos verde, preto e branco, respectivamente (Tabela 2).

As proporções de ovos colocados em cada cor da parede interna das UC em relação ao total de ovos também apresentaram resultados diferentes entre as cores estudadas. A maior proporção de ovos foi observada na cor vermelha, com 26% do total, seguida pela verde com 18%. Nas demais cores, preta e branca, não houve diferença significativa entre as proporções, concentrando 13% e 12%, respectivamente, do total de ovos nas UC (Tabela 2). O restante dos ovos (31%), os quais completariam 100% do total produzido, foi daqueles encontrados no tecido “voile” usado para a vedação da parte superior das UC e que apresentava a mesma área de cada parede colorida, ou seja, 76,25 cm² (Gráfico 1).

Tabela 2 Número de ovos (\pm EP) produzidos por *Chrysoperla externa*, em função da cor do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste com chance de escolha

Cores	N^o de ovos na parede da UC[*]	Proporção (Cor/UC1)^{**}
Vermelho	160,6 \pm 27,2 ^a	0,26 ^a
Verde	112,0 \pm 14,3 ^b	0,18 ^b
Branco	73,3 \pm 12,2 ^b	0,12 ^c
Preto	80,7 \pm 15,4 ^b	0,13 ^c

* Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P>0,05$); ** valores percentuais seguidos por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de qui-quadrado ($P>0,05$)

E.P. = Erro padrão

UC = Unidade de criação

¹ Média total de ovos = 616,9

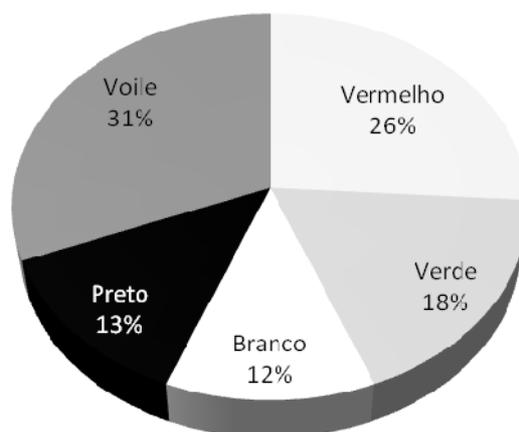


Gráfico 1 Distribuição média de ovos de *Chrysoperla externa* em função da cor do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste com chance de escolha

4.4 Preferência da textura para oviposição sem chance de escolha

Não houve diferença significativa no período de pré-oviposição em função da textura do substrato utilizado, constatando-se duração de 5,3; 5,2; 5,1 e 5,0 dias para papel filtro, EVA, camurça e sulfite, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 Número de ovos (\pm EP) produzidos por *Chrysoperla externa*, em função da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste sem chance de escolha

Texturas	Pré-oviposição *	Nº de ovos na parede da UC**	Nº total de ovos na UC**	Proporção (Parede/UC)***
Camurça	5,1 \pm 0,2 ^a	663,9 \pm 19,1 ^a	687,1 \pm 19,5 ^a	0,97 ^a
Filtro	5,3 \pm 0,3 ^a	401,0 \pm 44,3 ^b	610,2 \pm 38,6 ^b	0,66 ^d
Sulfite	5,0 \pm 0,2 ^a	448,6 \pm 42,2 ^b	600,5 \pm 31,4 ^b	0,75 ^c
EVA	5,2 \pm 0,3 ^a	447,5 \pm 36,2 ^b	556,9 \pm 30,3 ^b	0,80 ^b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de contraste ($P>0,05$); ** médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P>0,05$); *** valores proporcionais seguidos por mesma letra não diferem entre pelo teste de proporção ($P>0,05$)

E.P. = Erro padrão

UC = Unidade de criação

Com relação aos ovos encontrados somente nas paredes internas das UC, ou seja, sem contabilizar aqueles retirados do tecido “voile” usado na parte superior, verificou-se maior concentração no substrato camurça, no qual houve uma oviposição que totalizou 663,9 ovos. Nos demais substratos de revestimento foram coletados, no total, 448,6; 447,5 e 401,0 ovos no papel sulfite, EVA e papel filtro, respectivamente. Em testes usando diferentes materiais para atrair a oviposição de *C. carnea* para um determinado local da UC, Karelin, Yakovchuk e Danu (1989) constataram a preferência por um tecido denominado “tarpaulin”, no qual se obteve uma concentração de 88,3% dos ovos produzidos.

O número total de ovos coletados no interior das UC contendo o papel camurça foi superior ao verificado nos demais substratos, correspondendo a 687,1 ovos/UC. As demais texturas não acarretaram diferenças significativas entre si, constatando-se 610,2; 600,5 e 556,9 ovos/UC no papel filtro, camurça e

EVA, respectivamente (Tabela 3). Pode-se verificar que, no papel camurça, encontrou-se o maior número de ovos ao longo dos 30 dias de avaliação, em relação aos demais substratos. No entanto, esse aumento da produção não significa, necessariamente, que houve um aumento da fecundidade das fêmeas, mas um estímulo à postura de maior número de ovos no início do período reprodutivo. Esse estímulo, se confirmado, trará uma grande contribuição à criação de *C. externa* em larga escala, uma vez que a maior produção de ovos em um menor período de tempo acarretaria na dinamização do processo produtivo. Portanto, estudos adicionais serão realizados visando verificar a fecundidade total de *C. externa* e distribuição da produção de ovos ao longo de todo período de oviposição, nos mesmos substratos estudados, o que permitirá comprovar essa hipótese.

Além de o papel camurça ter possivelmente “estimulado” a maior produção total de ovos depositados em toda a superfície interna das UC, bem como na parede separadamente, observou-se que, nesse substrato, houve a maior concentração dos ovos, mostrando clara preferência das fêmeas em ovipositarem no papel camurça em vez do “voile” usado para vedar a UC. Do total produzido, 97% foram depositados na parede lateral da UC, que é a superfície que permite o aproveitamento dos ovos de maneira mais prática e com menor custo para o processo produtivo. Nos demais tratamentos, as porcentagens de ovos coletados nas paredes das UC em relação ao total foram de 80% no EVA, 75% no sulfite e 66% no filtro (Tabela 3).

4.5 Preferência da textura para oviposição com chance de escolha

Observou-se preferência significativa das fêmeas de *C. externa* em ovipositar no substrato camurça, quando submetidas ao teste com chance de escolha. O número de ovos nesse substrato foi de 491,0, valor muito superior

aos obtidos nos demais, que foram de 30,6 no papel sulfite, 18,2 ovos no papel filtro e 17,3 ovos no EVA, os quais não se diferenciaram entre si (Tabela 4). Esses resultados evidenciam que o uso do papel camurça como substrato para oviposição de *C. externa* nas criações em laboratório vem atender à sugestão de Carvalho e Souza (2009) quanto à utilização de um material de textura adequada para concentrar os ovos em uma determinada área da UC, de modo a facilitar a coleta e reduzir o manuseio excessivo dos insetos da criação.

Analisando a proporção de ovos coletados em cada substrato de oviposição, ou seja, nas paredes laterais das UC, em relação àqueles coletados no restante da UC, observou-se grande concentração de ovos no papel camurça. Constatou-se que 80% da oviposição foi feita nesse substrato, o que evidencia a preferência das fêmeas por este material em relação aos demais, inclusive o tecido “voile” usado para vedar a parte superior das UC. Para os demais substratos utilizados não houve diferença significativa entre as médias obtidas (Gráfico 2).

Tabela 4 Número de ovos (\pm EP) produzidos por *Chrysoperla externa*, em função da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste com chance de escolha

Texturas	Nº de ovos na parede da UC[*]	Proporção (Textura/UC1)^{**}
Camurça	491,0 \pm 40,2 ^a	0,80 ^a
Filtro	18,2 \pm 6,2 ^b	0,03 ^b
Sulfite	30,6 \pm 14,1 ^b	0,05 ^b
EVA	17,3 \pm 5,6 ^b	0,03 ^b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de contraste ($P>0,05$); ** valores percentuais seguidos por mesma letra não diferem entre si pelo teste de qui-quadrado para igualdade de proporções ($P>0,05$)

E.P. = Erro padrão

¹ Média total de ovos = 612,1

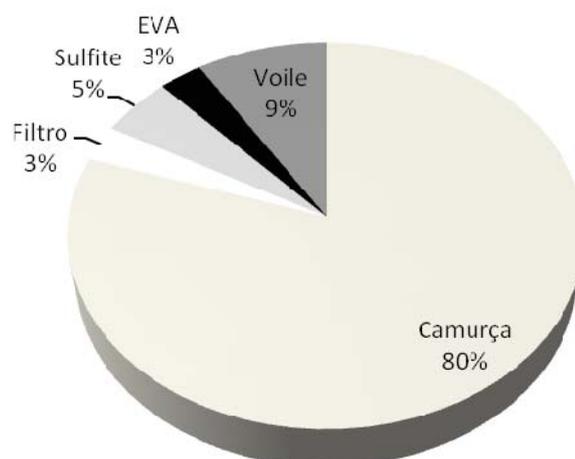


Gráfico 2 Distribuição média de ovos de *Chrysoperla externa* em função da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em teste com chance de escolha

4.6 Produção dos ovos no período de avaliação, nos testes de cor e textura de substrato

Houve um padrão das curvas obtidas para a distribuição diária dos ovos produzidos ao longo do período avaliado, nos testes de cor e textura do substrato de oviposição, sem chance de escolha (Gráficos 3 e 4). Esse padrão reflete o mesmo comportamento de produção de ovos, independentemente do tipo de substrato utilizado, o qual é caracterizado por um pico de produção ao redor do 15º dia do início da oviposição.

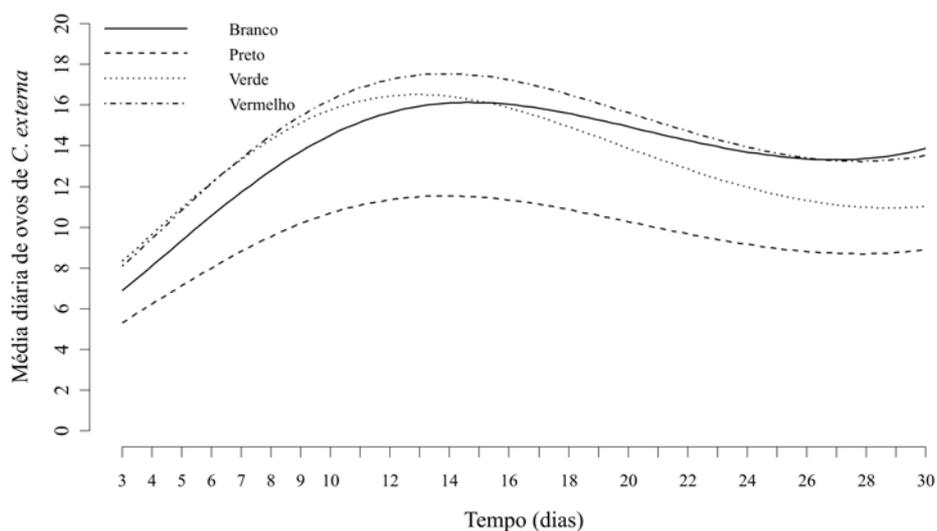


Gráfico 3 Produção diária de ovos de *Chrysoperla externa* em função do tempo. Teste de influência da cor do substrato de revestimento das unidades de criação, em ensaio sem chance de escolha

No teste de cor sem chance de escolha, as curvas referentes ao substrato branco, verde e vermelho acarretaram uma produção superior de ovos ao longo de todo o período de avaliação, enquanto o de cor preta proporcionou uma média diária de ovos sempre inferior aos demais (Gráfico 3).

No teste de textura sem chance de escolha, as curvas obtidas para os substratos EVA, papel filtro e sulfite evidenciaram uma produção inferior de ovos no decorrer de todo o período de avaliação, enquanto o camurça proporcionou uma média diária de ovos sempre superior à dos demais tratamentos (Gráfico 4).

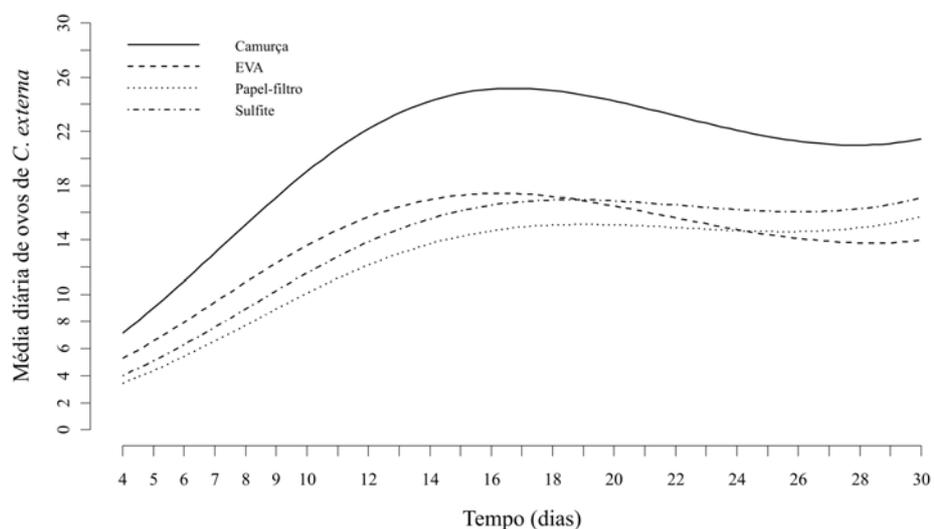


Gráfico 4 Produção diária de ovos de *Chrysoperla externa* em função do tempo. Teste de influência da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em ensaio sem chance de escolha.

O comportamento de oviposição ao longo do tempo, no teste de cor com chance de escolha, foi representado por curvas distintas entre si, tendo o vermelho sido o que permitiu as maiores médias diárias de produção de ovos durante todo o período. A cor preta apresentou uma tendência contínua de aumento no número diário de ovos ao longo dos 30 dias, ao passo que as demais cores proporcionaram maior produção ao redor do 15º dia (Gráfico 5).

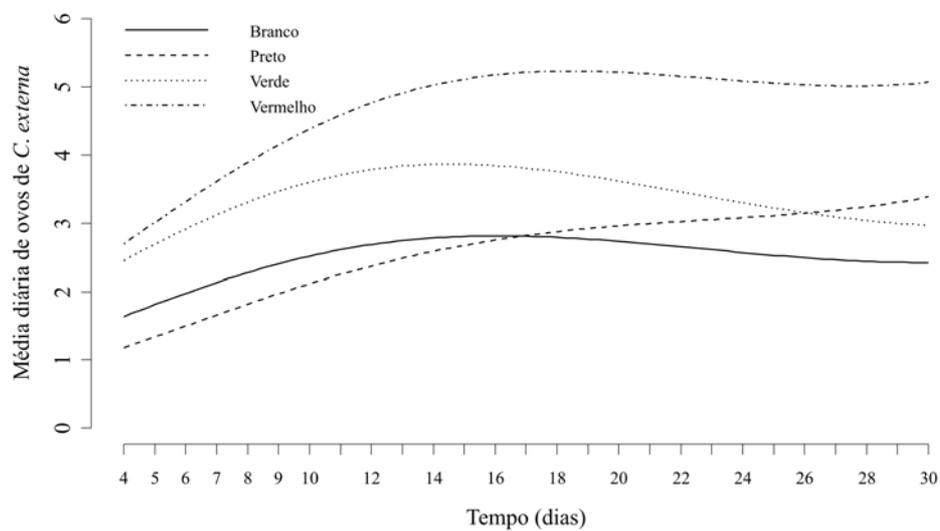


Gráfico 5 Produção diária de ovos de *Chrysoperla externa* em função do tempo. Teste de influência da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em ensaio com chance de escolha

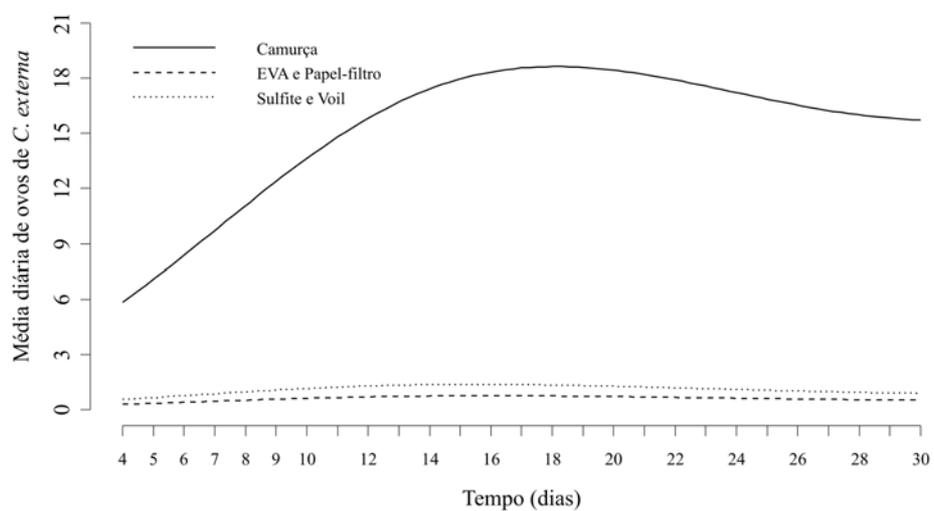


Gráfico 6 Produção diária de ovos de *Chrysoperla externa* em função do tempo. Teste de influência da textura do substrato de revestimento das unidades de criação, em ensaio com chance de escolha

No teste de textura do substrato com chance de escolha foi observada ampla diferença no número de ovos obtidos diariamente no papel camurça em relação aos demais tratamentos. Esses resultados evidenciam a preferência das fêmeas de *C. externa* em ovipositarem nesse substrato, apresentando um pico de produção próximo ao 15º dia. Nos demais substratos, não houve picos de produção devido ao pequeno número de ovos neles depositados (Gráfico 6).

4.7 Eficácia de hipoclorito de sódio no despedicelamento de ovos

Verificou-se que não houve diferença significativa entre as idades dos embriões (dois e três dias) dos ovos utilizados no experimento, ou seja, o despedicelamento e a viabilidade dos ovos foram afetados somente pela concentração da solução clorada e do tempo de exposição ao produto.

Com relação às concentrações de hipoclorito de sódio utilizadas, foram constatadas diferenças significativas entre todas elas, tanto para as médias obtidas para o despedicelamento quanto para a viabilidade dos ovos, em função dos tempos estabelecidos. A porcentagem de ovos perdidos no processo ou destruídos devido à ação do produto acarretou uma perda mínima, inferior a 0,05%, não variando dentre os diferentes tempos testados e as concentrações usadas.

Constatou-se maior eficiência no processo de despedicelamento e perda da viabilidade dos ovos com o aumento da concentração da solução clorada e do tempo de exposição ao produto. A concentração de 2,0% foi a que proporcionou a menor porcentagem de despedicelamento em todos os tempos avaliados, seguida pela concentração de 2,5% e pela de 3,0%, na qual se obteve a maior porcentagem de ovos despedicelados. Não houve qualquer despedicelamento no tratamento testemunha, composto somente de água (Gráfico 7).

No primeiro tempo avaliado (30 segundos), houve uma remoção de aproximadamente 20%, 36% e 45% dos pedicelos dos ovos imersos em solução clorada a 2,0%, 2,5% e 3,0%, respectivamente. Nos demais tempos, observou-se um aumento do despedicelamento com o maior tempo de permanência dos ovos no produto, em todas as concentrações testadas. Na última avaliação, realizada após 180 segundos, constatou-se um despedicelamento quase total para a concentração de 3,0%, com aproximadamente 97% dos ovos livres de pedicelo. Esta foi seguida pelas concentrações de 2,5% e 2,0%, com aproximadamente 92,6% e 84,4% de ovos despedicelados, respectivamente (Gráfico 7). Krishnamoorthy e Nagaekatti (1981) despedicelaram ovos de *Chrysopa scelestes* Banks, 1911, com três dias de idade, mergulhando o substrato de oviposição (discos de papel) em solução de hipoclorito de sódio a 30% por quatro segundos e deixando-os fora da solução durante oito segundos, antes de promoverem a lavagem para retirada do produto. Ferreira (1997) conseguiu uma dissolução de 88,25% dos pedicelos de ovos de *C. externa* imergindo-os em solução de hipoclorito de sódio com concentração de 0,05% do produto por um período de cinco minutos. Bezerra et al. (2009), trabalhando com *C. genanigra*, conseguiram um despedicelamento de 100%, sem inviabilização dos ovos, quando estes foram submetidos a soluções com 2% de cloro por dois minutos, 4% de cloro por um minuto e 4% de cloro por dois minutos.

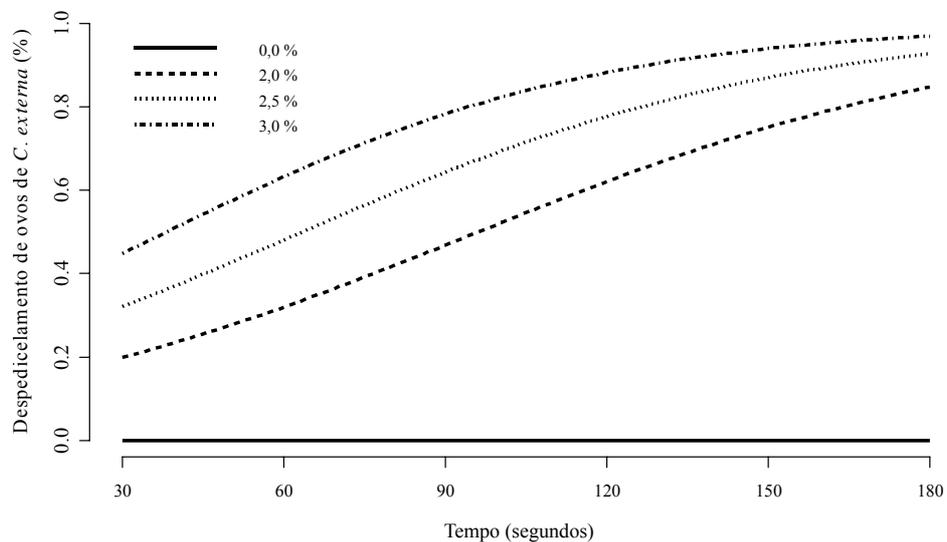


Gráfico 7 Despedicelamento de ovos de *Chrysoperla externa* em três concentrações de solução clorada, em função do tempo de exposição

4.8 Viabilidade dos ovos expostos ao hipoclorito de sódio

À medida que aumentou o tempo de exposição dos ovos ao hipoclorito de sódio, assim como as concentrações do produto, houve uma diminuição gradativa na viabilidade dos embriões, como mencionado anteriormente (item 4.7) (Gráfico 8).

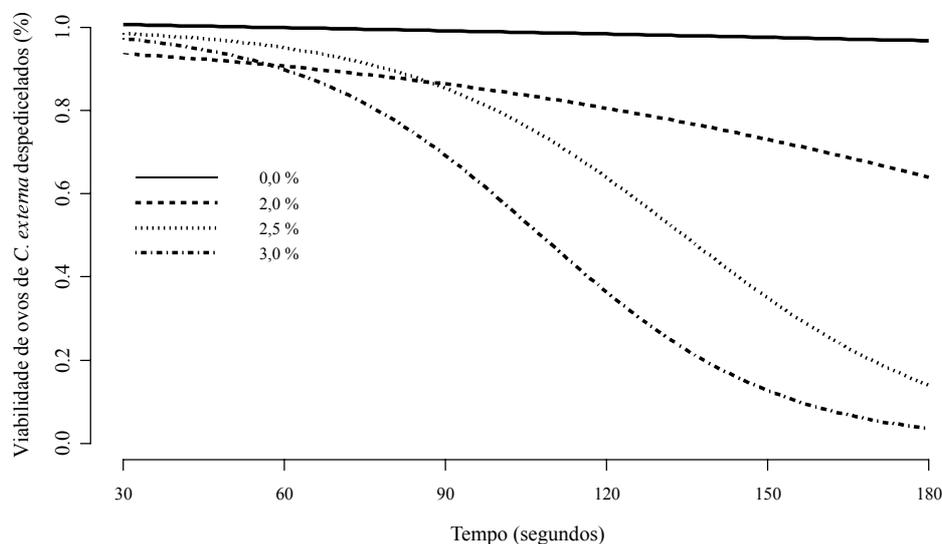


Gráfico 8 Viabilidade de ovos de *Chrysoperla externa* em três concentrações de solução clorada em função do tempo de exposição

Com 30 e 60 segundos de exposição, o número de ovos inviáveis foi reduzido, em todas as concentrações do produto, não chegando a 7% e a 10% de perda, respectivamente. Porém, a partir dos 90 segundos, houve uma queda mais acentuada da viabilidade na concentração de 3,0%, atingindo aproximadamente 30% de perda nessa condição. Nas demais concentrações e nesse mesmo tempo, houve uma perda de cerca de 13%. Após 90 segundos de exposição foi observada uma queda ainda mais acentuada da viabilidade em todas as concentrações, principalmente a 2,5% e a 3,0% que, no último tempo avaliado (180 segundos), apresentaram 14% e 4% de ovos viáveis, respectivamente. Na menor concentração testada (2,0% de hipoclorito de sódio), a viabilidade foi de 64%, ao fim do período avaliado. No tratamento testemunha (água pura), a viabilidade ao longo do teste foi de 97% (Gráfico 8).

Ferreira (1997) constatou inviabilidade total de ovos de *C. externa* quando imersos em soluções de hipoclorito de sódio em concentrações de 0,3%, 0,4% e 0,5%, durante 5, 10, 15 e 20 minutos. Porém, em concentrações de

0,05%, conseguiu viabilidade média superior a 70%, para 5, 10 e 15 minutos de exposição. Carvalho, Canard e Alauzet (1998), trabalhando com *C. mediterranea*, conseguiram viabilidades superiores a 80%, para ovos de um e três dias de idade, quando imersos em solução de hipoclorito (produto P.A.), com concentração de cloro ativo de 4%.

4.9 Determinação da melhor concentração em função do tempo de exposição ao hipoclorito de sódio para o despedicelamento e manutenção da viabilidade dos ovos

Por meio do cruzamento das curvas ascendentes obtidas para o despedicelamento (Gráfico 7) e das curvas descendentes obtidas para a viabilidade (Gráfico 8), obtiveram-se os “pontos ideais” de cada concentração da solução clorada em função do tempo de exposição dos ovos ao produto. Tais pontos correspondem ao tempo em que se obtiveram o máximo de despedicelamento e o mínimo de inviabilidade de ovos.

Para a concentração de 3,0%, o “ponto ideal” foi conseguido quando os ovos ficaram imersos na solução clorada por 83,5 segundos; para as concentrações de 2,5% e 2,0%, esses pontos foram obtidos aos 109,2 e 147,1 segundos, respectivamente. Observou-se que os três “pontos ideais” obtidos para cada concentração acarretaram, aproximadamente, a mesma porcentagem de despedicelamento e viabilidade (entre 72% e 78%) de ovos para todas as concentrações de hipoclorito de sódio utilizadas (Gráfico 9). Ao se considerar que o hipoclorito de sódio é um produto barato e facilmente encontrado no mercado, considerou-se, no presente trabalho, a concentração de 3% como a mais eficiente, economizando tempo no processo de despedicelamento, o que constitui um fator de importância em uma criação em maior escala.

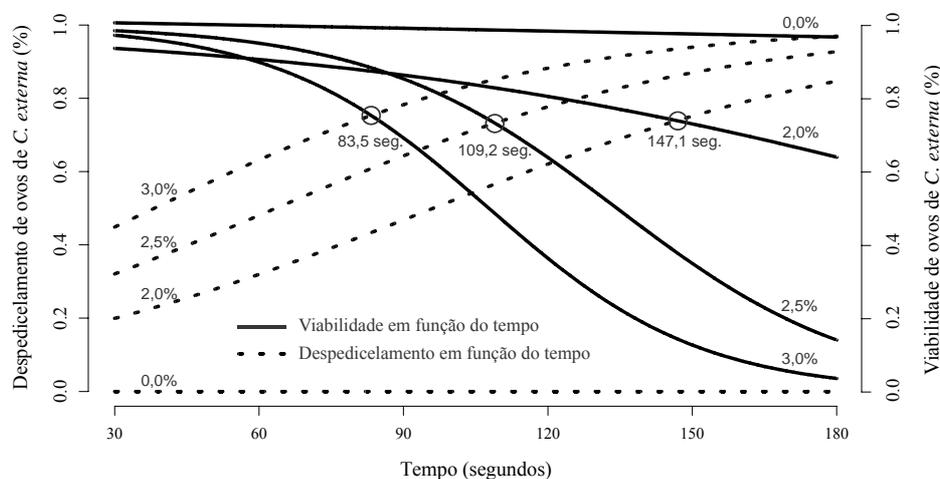


Gráfico 9 Cruzamento das curvas de despedicelamento (Gráfico 7) e viabilidade de ovos (Gráfico 8) de *Chrysoperla externa* em três concentrações de solução clorada, em função do tempo de exposição

4.10 Armazenamento de ovos

Após retirados os ovos da câmara de armazenamento e transferidos para a temperatura de 25°C, observou-se que houve uma redução gradual no período embrionário em função do tempo em que permaneceram armazenados. Esses resultados evidenciam o desenvolvimento do embrião de forma lenta e gradual durante o período em que foram mantidos a baixas temperaturas, haja vista o fato de a temperatura utilizada estar acima do limiar inferior para a sobrevivência de embriões de *C. externa*, como relatado por Figueira, Carvalho e Souza (2000) e Maia, Carvalho e Souza (2000) (11,3° e 10,7°C, respectivamente). Da mesma maneira, houve redução gradual na viabilidade em função do tempo, ou seja, o prolongamento do período de armazenamento foi acompanhado por uma redução na sobrevivência dos embriões.

Como o intuito do armazenamento de ovos é retardar o desenvolvimento embrionário visando acumular determinada quantidade para posterior envio ou

utilização, estipulou-se que a duração mínima dessa fase, após a retirada do armazenamento, fosse de um dia. Esse período, o qual foi denominado “duração de segurança” (DS), fornecerá a garantia de que não ocorrerão a eclosão de larvas e o consequente canibalismo. Ainda no caso da comercialização, a DS garantirá o fornecimento de ovos (e não larvas recém-eclodidas) ao consumidor, o que é um fator de grande importância no controle de qualidade dentro do processo de produção.

Verificou-se que o período embrionário decaiu gradativamente de, aproximadamente, 4,5 dias para ovos não armazenados, até zero, nos casos em que houve eclosão de larvas no interior da câmara climatizada, durante o período de armazenamento. Para ovos armazenados com um dia de idade, observou-se a DS aos 16 dias (a eclosão iniciou no 17º dia). Para os ovos de dois e três dias, a DS ocorreu aproximadamente aos onze (a eclosão iniciou no 12º dia) e sete (a eclosão iniciou no 8º dia) dias, respectivamente (Gráfico 10). Dessa forma, ovos de um, dois e três dias de idade poderão ser armazenados a 12°C e comercializados, desde que retirados da refrigeração com até 16, 11 e 7 dias, respectivamente, com a garantia de um dia antes do início da eclosão.

Quanto à viabilidade, a redução mais acentuada foi verificada para ovos de um dia, os quais apresentaram redução de 20% ao atingir a DS. Para aqueles armazenados com dois e três dias de idade, a redução foi menos acentuada, sendo inferior a 10% e inferior a 5% para ovos de dois dias e três dias, ao atingirem a DS, respectivamente (Gráfico 10).

Saini (1997), trabalhando com a mesma espécie de crisopídeo, armazenou ovos a 12°C e observou viabilidade de 66% e 58%, quando retirados da condição de frio no 14º e no 15º dia, respectivamente. Costa (2002) constatou que é possível armazenar ovos de *C. externa* de um dia de idade, à temperatura de 10°C, durante nove dias, com viabilidade acima de 90%. Contudo, verificou que, a partir do décimo dia, há um decréscimo gradativo da viabilidade,

atingindo 44% ao 15º dia de armazenamento. Ferreira (1997) armazenou, a 10°C, ovos da mesma espécie, com 24 horas de idade e em escotofase total, e obteve resultados semelhantes, constatando viabilidade de 92%, 84% e 52% após a retirada dos ovos da câmara climatizada ao 5º, 10º e 15º dia de armazenamento, respectivamente.

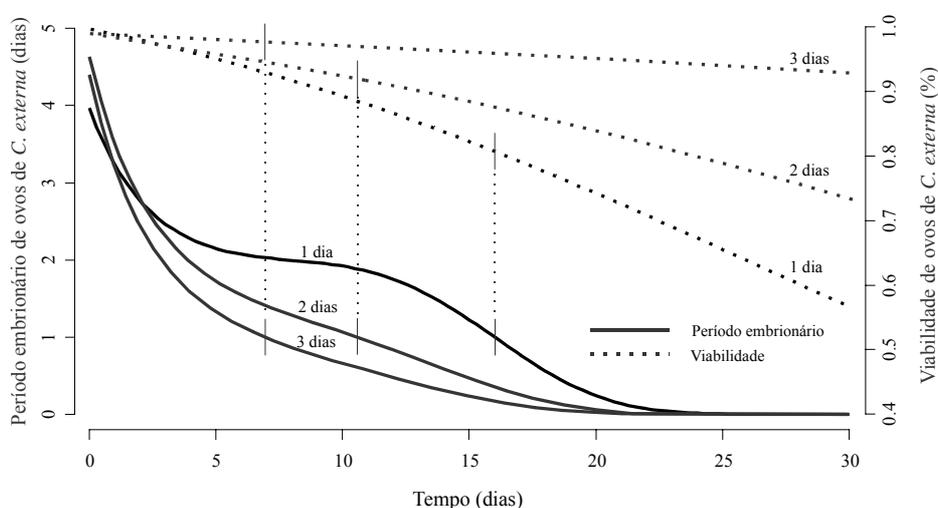


Gráfico 10 Duração do período embrionário e viabilidade de ovos de *Chrysoperla externa* mantidos a 12°C, em função do tempo de armazenamento

4.11 Armazenamento de pupas

Semelhantemente ao teste de armazenamento de ovos, observou-se redução gradual no período pupal, após a transferência para condições “normais”, com o aumento do tempo em que permaneceram sob baixas temperaturas. Esses resultados evidenciam que o inseto é capaz de se desenvolver, ainda que de forma lenta, no interior do casulo, haja vista o fato de a temperatura utilizada estar acima do limiar inferior para a sobrevivência de

pupas de *C. externa* relatado por Figueira, Carvalho e Souza (2000) e Maia, Carvalho e Souza (2000) (10,7° e 10,4°C, respectivamente). Da mesma forma constatada para ovos, houve redução gradual na sobrevivência com o prolongamento do tempo de armazenamento.

Assim como adotado para o armazenamento de ovos, também se estipulou o período mínimo de um dia para a duração do período pupal após a retirada das pupas das condições em que foram armazenadas. Esse período, o qual foi também denominado “Duração de Segurança” (DS), fornecerá a garantia de que não ocorrerá a emergência antes do período de envio ou no interior da câmara climatizada.

Observou-se que o período pupal decaiu de forma gradativa de aproximadamente sete dias para pupas não armazenadas, até zero, quando houve a emergência dos insetos no interior da câmara climatizada. Para as pupas de dois e seis dias, observou-se que a DS ocorreu, aproximadamente, aos 28 e 15 dias, respectivamente (Gráfico 11). Dessa maneira, pupas de dois e três dias de idade poderão ser armazenadas a 11°C e comercializadas, desde que retiradas da refrigeração com até 28 e 15 dias, respectivamente, garantindo um dia de segurança antes do início da emergência.

Para a sobrevivência, a redução mais acentuada foi observada em pupas de dois dias, alcançando uma perda de 37% ao atingir a DS. Para aquelas de seis dias, a redução foi de apenas 5% ao atingir a DS (Gráfico 11).

Como a sobrevivência observada para pupas de dois dias foi baixa (63%) quando retirada do armazenamento na DS estipulada de um dia, é recomendável, portanto, que sejam retiradas até o 24° dia, quando se obtém uma sobrevivência de 74%, com a garantia de que a emergência ocorra somente a partir do segundo dia após a retirada.

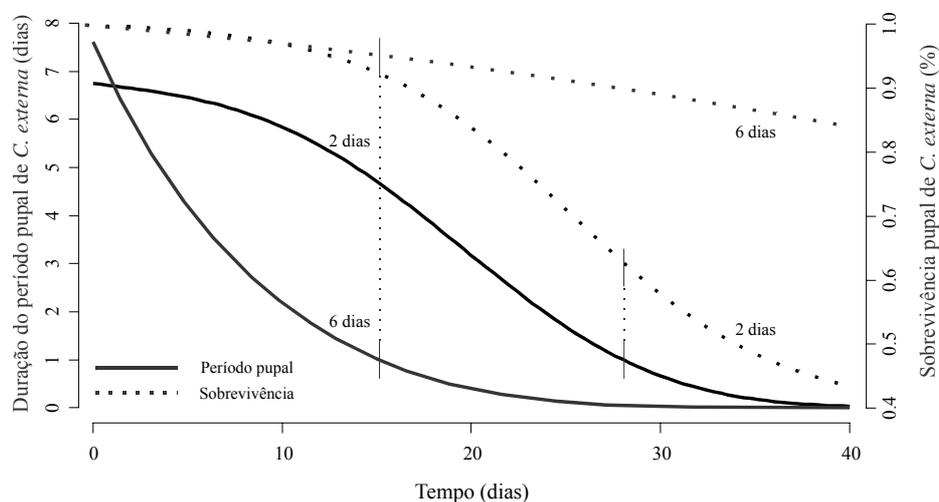


Gráfico 11 Duração do período pupal e viabilidade de pupas de *Chrysoperla externa* mantidas a 11°C, em função do tempo de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2011

Resultado semelhante com relação à sobrevivência no período pupal foi relatado por Ferreira (1997), também trabalhando com *C. externa* à temperatura de 10°C e escotofase total. Quando armazenou pré-pupas de aproximadamente 24 horas de idade, obteve 96%, 92% e 88% de viabilidade, quando mantidas por 5, 10 e 20 dias, respectivamente, sob refrigeração. Esse mesmo autor salientou a forte influência da umidade do ar no armazenamento de pupas que, quando baixa, pode acarretar no dessecamento e conseqüente morte dos insetos.

5 CONCLUSÕES

Fêmeas de *C. externa* apresentam preferência para oviposição em papel camurça e substratos de cor vermelha.

A concentração de solução clorada mais eficiente no despedicelamento de ovos de *C. externa* é a de 3,0% do produto (hipoclorito de sódio a 11%), acarretando maior destruição dos pedicelos no menor tempo (83,5 segundos), mantendo viabilidade de 78% dos embriões, seja em ovos de dois ou três dias de idade.

Ovos de *C. externa* de um dia de idade podem ser armazenados por 16 dias a $12\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, mantendo uma viabilidade de 80% e eclodindo um dia após a transferência para 25°C .

Pupas de *C. externa* de dois dias de idade podem ser armazenadas a $11\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, por 24 dias, mantendo uma sobrevivência de 74% e ocorrendo a emergência do adulto após dois dias da transferência para 25°C .

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- ALBUQUERQUE, G. S.; TAUBER, C. A.; TAUBER, M. J. *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): life history and potential for biological control in Central and South America. **Biological Control**, Orlando, v. 4, n. 1, p. 8-13, Mar. 1994.
- ARAÚJO, J.; BICHÃO, M. H. Biotecnologia de produção de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Boletim de Sanidad Vegetal Plagas**, Buenos Aires, v. 16, n. 1, p. 113-118, 1990.
- BARBOSA, L. R. et al. Eficiência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão (*Capsicum annum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1113-1119, jul./ago. 2008.
- BEZERRA, C. E. S. et al. Despedicelamento de ovos de *Chrysoperla genanigra* (Neuroptera: Chrysopidae) utilizando-se solução clorada. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 11., 2009, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SINCONBIOL, 2009. 1 CD-ROM.
- BEZERRA, G. C. D. et al. Aspectos biológicos da fase adulta de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) oriunda de larvas alimentadas com *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 603-610, jul./ago. 2006.
- BONANI, J. P. et al. 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**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 31-38, jan./fev. 2009.
- BORTOLI, S. A. de et al. Desenvolvimento e capacidade predatória de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 6, n. 1, p. 145-152, 2006.

BOTTRELL, D. G.; BARBOSA, P.; GOULD, F. Manipulating natural enemies by plant variety selection and modification: a realistic strategy? **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 347-367, Sept. 1998.

BRÉVAULT, T.; QUILICI, S. Visual response of the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*, to colored fruit models. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Saint-Pierre, v. 125, n. 1, p. 45-54, Jan. 2007.

CARVALHO, C. F.; CANARD, M.; ALAUZET, C. Destruction of egg pedicels by sodium hypochlorite and its effects on the hatching of eggs of *Chrysoperla mediterranea* (Holzel) (Neuroptera: Chrysopidae). **Acta Zoologica Fennica**, Helsinki, v. 209, n. 1, p. 75-77, May 1998.

CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. p. 77-115.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. Cambridge: Cambridge University, 1998. 770 p.

COSTA, R. I. F. **Estudos de densidade de ovos e de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) visando adequação na criação de laboratório**. 2002. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

COSTA, R. I. F. et al. Influência da densidade de indivíduos na criação de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1539-1545, 2003. Edição especial.

FERREIRA, R. J. **Técnicas para a produção massal de crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae)**. 1997. 115 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

FIGUEIRA, L. K.; CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Biologia e exigências térmicas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com ovos de *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 319-326, mar./abr. 2000.

FINNEY, G. L. Culturing *Chrysopa californica* and obtaining eggs for field distribution. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 45, n. 5, p. 719-721, 1948.

FINNEY, G. L. Mass-culturing *Chrysopa californica* to obtain eggs for field distribution. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 43, n. 1, p. 97-100, 1950.

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

GIFFONI, J. et al. Ciclo biológico de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada con diferentes presas. **Bioagro**, Cartago, v. 19, n. 2, p. 109-113, 2007.

GOOLSBY, J. A. et al. Augmentative biological control of longtailed mealybug by *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) in the interior plantscape. **Southwestern Entomologist**, Washington, v. 25, n. 1, p. 15-19, Feb. 2000.

GUERRA CHAPEUS. **E.V.A.** Disponível em:
<<http://www.guerrachapeus.com.br/index.htm>>. Acesso em: 20 fev. 2011.

GUMBERT, A. Color choices by bumble bees (*Bombus terrestris*): innate preferences and generalization after learning. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Göttingen, v. 48, n. 1, p. 36-43, Mar. 2000.

HAGLEY, E. A. C. Release of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) for control of the green apple aphid, *Aphis pomi* DeGeer (Homoptera: Aphididae). **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 121, n. 4/5, p. 309-314, Sept. 1989.

HAGLEY, E. A. C.; MILES, N. Release of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) for control of *Tetranychus urticae* Kosh (Acarina: Tetranychidae) on peach grow in protected environment structure. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 119, n. 2, p. 205-206, Apr. 1987.

HASSAN, S. A. Release of *Chrysoperla carnea* (Stephens) to control *Myzus persicae* (Sulzer) on egg plant in small greenhouse plots. **Journal of Plant Disease and Protection**, Rostock, v. 8, n. 2, p. 118-123, 1978.

HUMERES, E. C. et al. Evaluation of natural enemies of *Pseudacysta perseae* (Hemiptera: Tingidae) on avocados in Southern California. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 92, n. 1, p. 35-42, Jan. 2009.

JOHNSON, S. D.; MIDGLEY, J. J. Pollination by monkey beetles (Scarabaeidae: Hopliini): do color and dark centers of flowers influence alighting behavior? **Environmental Entomology**, Lanham, v. 30, n. 5, p. 861-868, May 2001.

KARELIN, V. D.; YAKOVCHUK, T. N.; DANU, V. P. Development of techniques for commercial production of the common green lacewing, *Chrysopa carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Acta Entomologica Fennica**, Helsinki, v. 53, n. 1, p. 31-35, July 1989.

KLINGEN, I.; JOHANSEN, N. S.; HOF SVANG, T. The predation of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on eggs and larvae of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 120, n. 3, p. 363-637, May 1996.

KRISHNAMOORTHY, A.; NAGARKATTI, S. A mass rearing technique for *Chrysopa scelestes* Bank (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Entomological Research**, Bangalore, v. 5, n. 1, p. 93-97, 1981.

LENTEREN, J. C. van. Critérios de seleção de inimigos naturais. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. p. 11-32.

MAIA, W. J. M. S.; CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Exigências térmicas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Homoptera: Aphididae) em condições de laboratório. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 81-86, jan./fev. 2000.

MUNSELL, A. H. **Munsell book of color: removable samples in two binders**. Baltimore: Macbeth, 1976. 75 p.

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

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Viena: R Foundation for Statistical Computing, 2004. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 10 jan. 2011.

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

RIBEIRO, M. J.; CARVALHO, C. F. Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes condições de acasalamento. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 423-427, abr./jun. 1991.

SAINI, E. Almacenaje de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v. 28, n. 1, p. 69-72, 1997.

SCOLPES, N. E. A. The potencial of *Chrysopa carnea* as a biological agent of *Myzus persicae* on glasshouse chrisanthemums. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 64, n. 7, p. 433-439, 1969.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, p. 507-512, 1974.

SILVA, C. G. et al. Desenvolvimento das fases imaturas de *Chrysoperla externa* alimentadas com ninfas de *Bemisia tabaci* criadas em três hospedeiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1065-1070, nov. 2004.

SMITH, R. C. The biology of chrysopidae. **Memoir of the Cornell University**, Ithaca, v. 58, p. 1278-1380, 1922.

SOUZA, B. **Estudos morfológicos do ovo e da larva de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e influência de fatores climáticos sobre a flutuação populacional de adultos em citrus.** 1999. 141 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

TAUBER, M. J. et al. Commercialization of predators: recent lesson from green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae: *Chrysoperla*). **American Entomologist**, Lanham, v. 47, n. 1, p. 24-50, Jan. 2000.

TULISALO, U. Mass rearing techniques. In: SEMERIA, Y.; CANARD, M.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of chrysopidae.** The Hague: Dr. W. Junk, 1984. p. 213-220.

VERZANI, J. **Simple R**: using R for introductory statistics version 0.4.
Disponível em: <<http://cran.r-project.org/doc/contrib/Verzani-SimpleR.pdf>>.
Acesso em: 10 jan. 2011.