# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA



# **MYLENA OLIVEIRA COSTA**

Seletividade de fungos entomopatogênicos a crisopídeos do gênero *Ceraeochrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae)

São Cristóvão 2024.2

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA



## **MYLENA OLIVEIRA COSTA**

Seletividade de fungos entomopatogênicos a crisopídeos do genêro *Ceraoechrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae)

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup> Eliana Maria dos Passos

Monografia apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade Federal de Sergipe como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ecologia

São Cristóvão 2024.2

#### **AGRADECIMENTOS**

A solidão, quando escolhida, é um luxo. Mas a vida, quando compartilhada, ganha sentido. Dedico esta página a todos que se fizeram presentes nesta jornada. Aqui, expresso os meus mais sinceros agradecimentos.

Aos meus queridos pais, Cleissia e Metódio, e ao meu irmão, Caio, agradeço por todo o amor, incentivo e apoio. Seus esforços contribuíram para a minha formação pessoal e acadêmica. Apesar da distância, levo vocês comigo diariamente. Amo-vos!

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliana Maria dos Passos, sou grata pela orientação, disponibilidade, paciência e ensinamentos durante estes últimos três anos.

Aos meus colegas de curso — Gilmara, Iza, Brenna, Laís, Caie, Yuri e Ricardo — e, em especial, aos meus amigos Stefany, Emanoel e Geovanna, agradeço pelos bons momentos de descontração e risadas. Vocês deram cores a esta experiência.

Às minhas parceiras de laboratório, Stephane, e, em especial, à Carolina, pela indicação no estágio, agradeço pelas conversas, incentivo, companheirismo e agradável convivência durante esses anos.

À Universidade Federal de Sergipe, pelo ensino de qualidade e gratuito, e a todos os professores que cruzaram o meu caminho — em especial ao Professor Adauto, por ter me aceitado na pesquisa quando eu ainda era uma caloura.

A todos que acreditam no meu potencial — em especial a Solange, por todo o apoio à minha vinda à capital; a Izadora, pela amizade e companheirismo de anos; e a Junior, por ser meu refúgio. Amo vocês!

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação.

Muito obrigada!

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
OBJETIVOS	10
Objetivo Geral	10
Objetivos Específicos	10
Hipótese	11
MATERIAL E MÉTODOS	11
Manutenção das criações de <i>Ceraeochrysa spp.</i>	11
Preparo das suspensões fúngicas	13
Seletividade dos fungos sobre ovos de Ceraeochrysa spp	14
Efeito dos fungos sobre larvas de Ceraeochrysa spp.	15
Capacidade de consumo das larvas de Ce. cornuta pós-aplicação de B. bassiana	16
Análise dos dados	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	26

#### **RESUMO**

O controle biológico tem-se destacado como alternativa viável para redução da dependência de agrotóxicos, uma vez que faz uso de grupos de inimigos naturais para controlar pragas com o uso de parasitoides, predadores e entomopatógenos. Diante desse cenário, o objetivo deste estudo foi avaliar a seletividade dos fungos entomopatogênicos Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae e Purpureocilium lilacinum sobre os crisopídeos Ceraeochrysa cornuta, Ceraeochrysa claveri e Ceraeochrysa everes, visando determinar sua compatibilidade para uso em programas de Manejo Integrado e Ecológico de Pragas. As variáveis consideradas foram: viabilidade dos ovos; viabilidade larval (1º instar); tempo de desenvolvimento larval (1º instar) e ; capacidade de consumo. Para isso, foram coletados 192 ovos e 200 larvas em primeiro instar, recém-eclodidas, das três espécies de Ceraeochrysa. O grupo tratamento é caracterizado pela imersão de 96 ovos e 100 larvas nas três suspensões fúngicas na concentração 1 × 10<sup>7</sup> conídios/mL durante cinco segundos, enquanto o grupo controle (96 ovos e 100 larvas) não recebeu nenhuma aplicação. Os experimentos foram mantidos 28 ± 2 °C, umidade relativa de  $50 \pm 10\%$  e fotoperíodo natural. Os resultados demonstram que nenhum dos fungos afetou a viabilidade dos ovos das três espécies de Ceraeochrysa testadas, que se manteve entre 75% e 80%, sem diferença estatística em relação aos controles. Nas larvas, a viabilidade foi superior a 92% no tratamento e no controle, e o tempo de desenvolvimento larval não foi afetado, exceto por um discreto aumento ( $\approx$  2h) em Ce. claveri com B. bassiana e P. lilacinum, biologicamente insignificativo. Além disso, a aplicação de B. bassiana não alterou a capacidade de consumo de Ce. cornuta, consumindo quantidades similares de presas em comparação ao grupo controle. Portanto, os fungos B. bassiana, M. anisopliae e P. lilacinum mostram-se seletivos às espécies de Ceraeochrysa, não comprometendo sua sobrevivência, desenvolvimento ou eficiência como predador. O estudo sugere que a combinação desses agentes de controle biológico é viável e pode ser adotada em estratégias de MIP e MEP, oferecendo uma alternativa sustentável e eficiente para o manejo de pragas.

Palavras-chave: Seletividade, Controle biológico, Chrysopidae, Fungos entomopatogênicos.

# INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de agrotóxicos tem sido um tema de grande preocupação devido aos seus impactos negativos à saúde humana e ao meio ambiente, bem como a seleção de insetos-pragas resistentes e a eliminação de organismos benéficos (Bolzan 2019; Goedel et al. 2021; Shimizu & Mourão 2022). A utilização de agrotóxicos em grande escala, em especial, pelo setor agropecuário tem sido objeto de vários tipos de estudos, tanto pelos danos à saúde humana, como pelos danos ao meio ambiente. Na saúde da população humana estão associados a intoxicações agudas, subagudas e crônicas (Silva et al. 2022), que podem desencadear alterações auditivas, doenças degenerativas, câncer, malformações congênitas e outras patologias (Lara & Garcia 2020). Paralelamente, no meio ambiente, contaminam o solo e os mananciais hídricos (Mello et al. 2020, p. 318), afetando os diferentes níveis tróficos, onde o acúmulo das substâncias pode desequilibrar cadeias alimentares e prejudicar à ação dos agentes naturais de controle biológico (Parra, 2023). Além disso, leva a resistência de diversas espécies de insetos-alvos, devido à alta pressão de seleção imposta pelo uso indevido do método de controle (Zhu et al. 2015; Irac 2016), o que gera cada vez mais dependência por novos produtos químicos no mercado.

De acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2023), o Brasil foi o maior consumidor mundial de agrotóxicos, com 720 kt de aplicações de agrotóxicos para uso agrícola em 2021. Esses dados refletem o afrouxamento na legislação sobre o uso desses químicos, como a alteração normativa do Decreto nº 5.981/2006, que simplificou o regramento acerca dos registros de produtos denominados equivalentes (Vipievski et al. 2022). Dal Bosco & Abreu (2023), alertam que a flexibilização das leis que regulam os agrotóxicos pode representar um retrocesso no direito socioambiental, além de potencializar danos ecológicos graves, comprometendo a qualidade vida tanto das gerações atuais, quanto das futuras.

Neste contexto, o controle biológico tem-se destacado como alternativa viável para redução da dependência de agrotóxicos, uma vez que faz uso de grupos de inimigos naturais para controlar pragas de forma sustentável, como o uso de parasitoides, predadores e entomopatógenos. Para atender à crescente demanda tanto do setor produtivo como da sociedade por alternativas e produtos cada vez mais sustentáveis, o Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o programa Nacional de Bioinsumos (Decreto Nº 10.375, 2020), que tem por objetivo fomentar o uso de recursos biológicos na agricultura, reduzindo a dependência de insumos químicos (BRASIL, 2020). Atualmente, segundo dados do Catálogo Nacional de Bioinsumos, são mais de mil produtos registrados na categoria de bioinsumos tanto para controle de pragas, como também inoculantes (BRASIL, 2020).

Ainda que prevaleça a "cultura de químicos" no controle de pragas, e que os produtos fitossanitários sejam a primeira linha de defesa agropecuária utilizada (Parra 2014, Carvalho et al. 2021), no Brasil o controle biológico vem aumentando mais do que no resto do mundo (Parra & Coelho 2022). Segundo dados do site AgroLink, o mercado de insumos biológicos no país cresceu mais de 70% entre 2020 e 2022, atingindo um faturamento de R\$ 2,3 bilhões em 2023, o que demonstra a eficácia e a viabilidade econômica desses insumos.

Umas das práticas de controle biológico dar-se por meio da liberação de parasitoides — que utilizam a praga como hospedeiro para desenvolvimento de suas larvas — e predadores — organismos de vida livre que consomem várias presas ao longo do seu desenvolvimento — (Parra & Coelho 2022). Os predadores apresentam alta capacidade reprodutiva, grande voracidade, alta capacidade de busca e plasticidade ecológica (Loureiro et al. 2024), sendo importantes dentro do contexto do manejo integrado de pragas (Sujiie et al. 2020). Dentre estes, destacam-se os crisopídeos, insetos pertencentes à Ordem Neuroptera, que são encontrados nos mais variados agroecossistemas e apresentam grande potencial de uso como predadores em programas de controle biológico de pragas (Duque 2008; Albuquerque 2009; Scudeler et al. 2020;). Os crisopídeos são predadores vorazes em sua fase larval, desempenhando papel significativo sobre pragas em diversos cultivos de importância agrícola (Oliveira et al. 2014). Entre suas principais presas estão pulgões, ácaros fitófagos, cochonilhas, cigarrinhas, moscabranca, psilídeos, tripes, ovos e larvas de insetos da ordem Lepidoptera, Coleóptera e Díptera (Freitas 2001; Albuquerque 2009; Pappas et al. 2011).

Atualmente, há registros da presença de insetos da família Chrysopidae em todos os países da América do Sul, sendo esta a família mais diversa de crisopídeos no Brasil, com 182 espécies (Machado & Martins 2022). Dentre os gêneros que ocorrem no Brasil, *Ceraeochrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae) é o mais abundante, com 34 espécies registradas e contém espécies com atributos que podem torná-las predadoras importantes em vários sistemas

agrícolas (Almeida et al. 2009; Machado & Martins 2022). As espécies de *Ceraeochrysa* são comumente encontradas em bordas de florestas com frequência ao redor de culturas agrícolas (Martins 2014), e que, portanto, seriam as mais apropriadas para uso em culturas perenes, como pomares de frutíferas e silviculturas (Albuquerque 2009).

Dentre as espécies de crisopídeo deste gênero, *Ce. cornuta* Navás, 1925 tem sido indicada por estudos de predação como potencial agente de controle biológico de pragas importantes (Souza et al. 2015; Jumbo et al. 2019). De acordo com Passos et al. (2022), a oferta de diferentes estágios biológicos da mosca-branca-do-cajueiro (*Aleurodicus cocois* Curtis 1846, Hemiptera: Aleyrodidae) se mostrou adequada para o desenvolvimento e reprodução de *Ce. cornuta*, indicando seu potencial como agente de controle desta praga.

A espécie *Ce. claveri* Navás, 1911 devido ao seu alto potencial reprodutivo e elevada capacidade de busca, a torna capaz de predar ovos e larvas de *Plutella xylostella (L.)* (Lepidoptera: Plutellidae) nas partes mais internas da cabeça do repolho, (Almeida et al. 2009), além de serem vorazes consumidoras de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwaya-ma, 1908 (Hemiptera: Liviidae) (Pacheco-Rueda et al. 2015). Além disso, a espécie *Ce. everes* Banks, 1920 também pode ser um agente eficaz no controle biológico. Santos et al. (2022) verificaram que *Ce. everes* possui capacidade de predação, desenvolvimento e reprodução tendo como recurso alimentar ninfas da cochonilha-rosada-do-hibisco (*Maconellicoccus hirsutus* Green 1908, Hemiptera: Pseudococcidae)

Além dos agentes de controle macrobiológicos como os predadores, o controle biológico pode ser feito com a utilização de agentes microbiológicos ou patógenos de insetos, e por isso, é chamado de controle microbiano. Os fungos entomopatogênicos foram os primeiros agentes patógenos a serem utilizados no controle microbiano, destacando-se por sua capacidade de reduzir populações de pragas em níveis abaixo dos níveis de dano econômico, devido à capacidade desses microrganismos em ocasionar doenças epizoóticas naturais (Alves 1998; Lacey et al. 2015; Rubio, Souza, Pereira 2021). As espécies mais utilizadas pertencem a ordem Hypocreales, e são elas o *Metarhizium anisopliae* (Mets., 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilllemin, 1912 (Alfaro-Valle et al. 2022). A espécie *Purpureocillium lilacinum* (Thom.) (Luangsa-ard et al. 2011) também tem se destacado em aplicações voltadas ao controle de populações de insetos-pragas agrícolas, principalmente de nematoides, uma vez

que possui capacidade de parasitar os ovos de *Meloidogyne incognita* (Thylenchida: Heteroderidae) e impedir o nascimento e crescimento de novos organismos (Dahlin et al. 2019).

O potencial inseticida do fungo M. anisopliae ficou amplamente conhecido devido a comprovação de sua eficácia no controle da cigarrinha das folhas em cana-de-açúcar (Alves 1998; Loureiro et al. 2012), entretanto há relatos do uso desse fungo para o controle de diversos insetos-pragas incidentes em sistemas agrícolas, incluindo soja, milho e café (Iwanicki et al. 2019; Clifton et al. 2018). Além disso, há evidências de que esse fungo pode se associar às raízes do café e promover o seu crescimento, resistência ao estresse hídrico e proteger contra o minador-da-folha-do-cafeeiro (Leucoptera coffeella Guérin-Méneville, 1842, Lepidoptera: Lyonetiidae) (Franzin et al. 2022; Moreira et al. 2018). Outro fungo, B. bassiana, é amplamente utilizado para o controle de diversas pragas, dentre elas a broca-da-bananeira (Cosmopolites sordidus Germar, 1824, Coleoptera: Curculionidae), percevejo-da-soja (Euschistus heros, Hemiptera: Pentatomidae) e pragas de grãos armazenadas do trigo (Alves 1998; Wakil et al. 2021). B. bassiana também coloniza tecidos internos de plantas como algodão (Lopez & Sword 2015), milho (Tall & Meyling 2018) e soja (Russo et al. 2018), provocando efeitos negativos diretos na reprodução, longevidade e alimentação de insetos herbívoros associados a essas culturas (McKinnon et al. 2017). Considerado um fungo nematófago, P. lilacinum é uma das espécies mais estudadas do gênero (Alves 1998), também possui capacidade patogênica a espécies de insetos, tais como pulgão-do-algodoeiro (Aphis gossypii, Hemiptera: Aphididae), mosca-branca (Bemisia tabaci, Hemiptera: Aleyrodidae) ácaro-rajado (Tetranychus urticae, Acari: Tetranychidae) e tripes (Thysanoptera) (Medeiros 2016), e promove o crescimento das plantas de algodoeiro após inoculação nas sementes (Lopez & Sword 2015).

A eficácia do manejo de pragas está intrinsicamente vinculada às complexas interações ecológicas entre os organismos existentes (Loureiro et al. 2024). A aplicação simultânea de dois organismos pode manifestar-se tanto sob forma sinérgica, favorecendo a coexistência em um mesmo ecossistema (Dias et al. 2020), quanto antagônica (Carvalho et al. 2023). É importante ressalvar ainda que, há escassez de estudos sobre os impactos de entomopatógenos em inimigos naturais (Dias et al. 2019), o que limita a otimização de estratégias de controle biológico consorciado no âmbito do Manejo Integrado de Pragas (MIP) e do Manejo Ecológico de Pragas (MEP), técnicas que visam, respectivamente, à integração de táticas de controle com base

econômica e ao manejo fundamentado na regulação natural dos ecossistemas, particularmente no que concerne à compatibilidade entre diferentes grupos de agentes de controle.

Tendo em vista que a utilização de inimigos naturais para o manejo de pragas constitui uma alternativa ecologicamente sustentável em comparação aos métodos químicos, com reduzido impacto negativo sobre organismos não-alvo e potencial para integração em programas de MIP e MEP, este estudo teve como objetivo avaliar a seletividade dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. lilacinum* sobre três espécies de crisopídeos (*Ce. cornuta, Ce claveri* e *Ce. everes*, Neuroptera:Chrysopidae).

#### **OBJETIVOS**

## **Objetivo Geral:**

Avaliar a seletividade de fungos entomopatogênicos sobre os crisopídeos do gênero Ceraeochrysa.

#### **Objetivos Específicos:**

- a. Avaliar a seletividade dos fungos *Metarhizium. anisopliae, Beauveria bassiana* e *Purpureocilium lilacinum* sobre ovos de *Ceraeochrysa cornuta, Ceraeochrysa claveri* e *Ceraeochrysa everes*;
- b. Verificar o efeito dos fungos *Metarhizium. anisopliae, Beauveria bassiana* e *Purpureocilium lilacinum* sobre larvas de *Ceraeochrysa cornuta, Ceraeochrysa claveri* e *Ceraeochrysa everes*;
- c. Testar a capacidade de consumo da larva em primeiro instar de *Ceraeochrysa cornuta* pós-aplicação fúngica de *Beauveria bassiana*.

# Hipótese:

- Não há diferença entre a porcentagem de larvas que eclodem dos ovos tratados e não tratados com as suspensões fúngicas;
- II. Há baixa ou nenhuma mortalidade de lavas do predador, mesmo após o tratamento com as suspensões fúngicas;
- III. Não há aumento na duração do desenvolvimento, em dias, do primeiro instar larval do predador após o tratamento com as suspensões fúngicas;
- IV. Não há alteração no comportamento predatório ocasionado pela aplicação direta do fungo entomopatogênico sobre as larvas do predador.

### MATERIAL E MÉTODOS

## Manutenção das criações de Ceraeochrysa spp.

As criações de *Ce. cornuta*, *Ce. claveri* e *Ce. everes* foram mantidas no Laboratório de Controle Biotecnológico de Pragas – LCBiotec, gerida pela Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe – Emdagro, localizado no Parque Tecnológico (SergipeTec - São Cristóvão/SE.)

Para a manutenção de cada criação, os insetos adultos foram mantidos em gaiolas de tubo PVC (300 x 300mm), fechadas com tecido "voil" e apoiada sobre placa plástica (Figura 1A). Nesta fase, a dieta, composta de mel e levedo de cerveja (1:1), foi ofertada para os insetos sobre lâmina plástica, e a água, em tubos tipo Eppendorf vedados com um pedaço de esponja umedecida, ambos fixados em toda a lateral superior da gaiola (Figura 1B). Após atingirem a maturação sexual, os adultos copulam e as fêmeas passam a ovipositar, especialmente no tecido "voil" (Figura 1C) e nas laterais da gaiola.

Os ovos foram coletados utilizando tesoura de ponta fina e pincéis, e cuidadosamente, individualizados em microplacas tipo Elisa (Figura 1D). Após as eclosão, as larvas foram transferidas individualmente para placas plásticas tipo Petri (6,5 × 1,5 cm) (Figura 1E), onde foram ofertados ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae), obtidos

comercialmente, para sua alimentação. Devido à necessidade de *Ceraeochrya* em construir pacotes de "lixo" com detritos do ambiente, as larvas recebem também pedaços de folhas de oitizeiro (*Licania tomentosa* Benth) como fonte de "lixo". A serosidade coletada pela larva auxilia na formação do casulo e proteção da pupa (Silva & Maia 2011).

A troca de alimento, disponibilidade de folhas de oiti e a verificação do estágio do desenvolvimento do inseto foi feito três vezes por semana até a formação da pupa. As pupas (Figura 1F) foram mantidas nas placas de Petri por 10 dias, e posteriormente foram transferidas para gaiolas de PVC com alimento e água, a fim de dar suporte alimentar aos adultos que emergirão.

As criações das espécies de predadores do gênero Ceraeochrysa foram mantidas em sala de criação com temperatura de  $28 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $50 \pm 10\%$  e fotoperíodo natural.

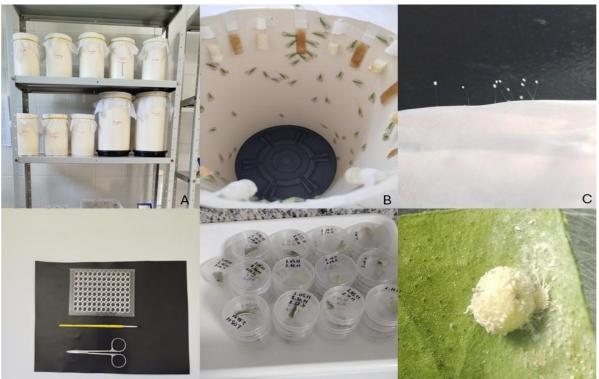


Figura 1. Criação de Ceraeochrysa spp, gaiola com adultos (A); detalhe da oferta de água e alimento (B); ovos no tecido voil (C); materiais para coleta dos ovos (D); larvas individualizadas em placas do tipo Petri (E); pupa (F).

## Preparo das suspensões fúngicas

Os fungos *B. bassiana* (isolado SE-117), *M. anisopliae* (isolado SE-203) e *P. lilacinum* (isolado SE-401) foram obtidos do Banco de fungos entomopatogênicos da Emdagro, mantidos no Laboratório de Controle Biotecnológico de pragas (LCBiotec), localizado no Parque Tecnológico (SergipeTec - São Cristóvão-SE).

Para a preparo das suspensões fúngicas, inicialmente o isolado de cada espécie de fungo foi repicado em placas de Petri de vidro (80 x 15mm) contendo meio de cultura sólido Batata-Dextrose-Ágar (BDA), suplementado com antibiótico e Cloranfenicol (0,25 g/L). Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de germinação do tipo B.O.D., a  $25 \pm 2^{\circ}$ C e fotoperíodo de 12:12H, por 7 dias, para a germinação e crescimento do fungo.

A partir dos fungos cultivados foram preparadas as suspensões fúngicas. Para isso, os fungos crescidos na superfície do meio de cultura foram raspados utilizando-se espátula de metal, e adicionados, separadamente, no becker contendo  $10 \, \text{ml}$  de solução Tween  $80^{\$}$  (0,05%). As suspensões fúngicas resultantes foram filtradas em gaze esterilizada, a concentração de conídios presentes em cada suspensão foi quantificada por meio da diluição seriada e contagem direta em câmara de Neaubauer e microscópio óptico (400x). Em seguida, foram preparadas as suspensões dos fungos para uso nos experimentos, com a concentração ajustada  $1 \times 10^7$  conídios/mL.

Antes da utilização das supensões nos ensaios de seletividade, a viabilidade conidial de cada isolado foi avaliada por meio da inoculação de 100  $\mu$ L da suspensão fúngica, na concentração de 1  $\times$  10<sup>5</sup> conídios/mL, no centro de placas de Petri de plástico do tipo Rodac (60  $\times$  10 mm) contendo 5 mL de meio de cultura sólido BDA, suplementado com antibiótico Cloranfenicol (0,25 g/L). As placas foram seladas e mantidas em B.O.D. a 25  $\pm$  2°C e fotoperíodo de 12:12h, por 18-20 horas. A avaliação foi realizada através da contagem dos conídios germinados e não germinados presentes na superfície do meio de cultura. O percentual de conídios germinados foi considerado como a taxa de viabilidade do fungo.

## Seletividade dos fungos sobre ovos de Ceraeochrysa spp.

Para avaliar a seletividade dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana, M. anisopliae* e *P. lilacinum* sobre os ovos, 192 ovos de cada espécie de crisopídeo (*Ce. cornuta*, *Ce. claveri* e *Ce. eeres*) foram coletados 24 horas após a oviposição. Dos ovos coletados, 96 foram tratados por imersão, individualmente, durante cinco segundos, em 1,5 mL de suspensão fúngica na concentração 1 × 10<sup>7</sup> conídios/mL. Em seguida, foram transferidos para microplacas tipo Elisa, previamente higienizadas com álcool 70%, as quais foram cobertas com plástico filme perfurado por alfinete entomológico para permitir a ventilação. Para cada tratamento, utilizouse um grupo controle com 96 ovos, que após a coleta foram diretamente dispostos individualmente em microplaca tipo Elisa, como no tratamento. Para cada tratamento e seu respectivo controle, os oito ovos dispostos em cada linha vertical da microplaca foram considerados uma repetição, totalizando 12 repetições (Figura 2).

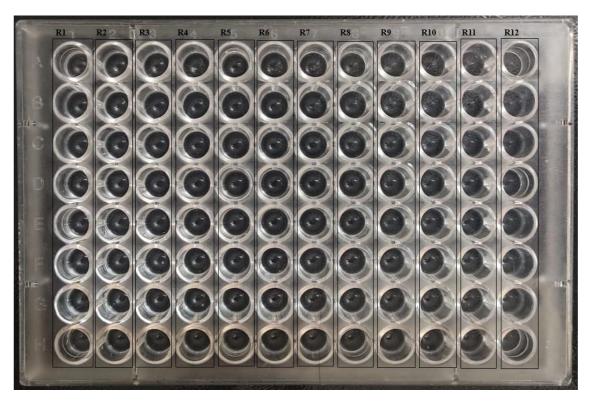


Figura 2. Esquema da disposição dos ovos em microplaca tipo Elisa. Cada linha vertical (R1-R12) representa uma repetição contendo oito ovos, totalizando 12 repetições por tratamento.

A viabilidade dos ovos foi avaliada entre 4 e 5 dias após a exposição ao tratamento, período correspondente ao tempo médio de eclosão das larvas. Os ovos inviáveis foram acomodados individualmente em cada poço da microplaca tipo Elisa higienizada, contendo discos de papel filtro autoclavado umedecidos com água destilada estéril e vedada por plástico filme, formando uma câmara úmida. As câmaras úmidas contendo os ovos inviáveis foram acondicionadas a uma temperatura de  $28 \pm 2$  °C, umidade de  $50 \pm 10\%$ , e fotoperíodo natural por sete dias.

Após esse período, procedeu-se à observação dos ovos inviáveis sob estereomicroscópio para verificar se o fungo testado era o agente causal da inviabilidade. A verificação concentrouse na presença de micélios desenvolvidos sobre os ovos, que caso exibisse uma massa pulverulenta de conídios verdes confirmaria infecção por *M. anisopliae*, ou se fosse observado uma massa de conídios esbranquiçados sugeriria infecção por *B. bassiana*, ou ainda se fosse encontrado uma massa de conídios lilases indicaria infecção por *P. lilacinum*.

## Efeito dos fungos sobre larvas de Ceraeochrysa spp.

Para verificar o efeito dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. lilacinum* sobre as larvas, 200 larvas de cada espécie de crisopídeo (*Ce. cornuta*, *Ce. claveri* e *Ce. everes*) em primeiro instar, recém-eclodidas, foram obtidas a partir de ovos coletados das gaiolas de criação. Para tanto, 100 larvas foram imersas individualmente, utilizando um pincel fino, por cinco segundos em 1,5 mL de suspensão fúngica na concentração 1 × 10<sup>7</sup> conídios/mL. Para cada tratamento, utilizou-se um grupo controle com 100 larvas, o qual não recebeu aplicação da suspensão. As larvas tratadas e do grupo controle foram individualizadas em placas plásticas tipo Petri (6,5 × 1,5 cm), e alimentadas diariamente com ovos de *E. kuehniella*.

A avaliação da viabilidade das larvas e a verificação do estágio do desenvolvimento foi realizada por 4 a 5 dias. As larvas mortas foram acomodadas em câmara úmida, constituída por placa plástica tipo Petri contendo disco de papel filtro autoclavado umedecido com água destilada estéril e vedadas com plástico filme. As câmaras úmidas contendo as larvas mortas foram acondicionadas a uma temperatura de  $28 \pm 2$  °C, umidade de  $50 \pm 10\%$  e fotoperíodo natural por sete dias, para a verificação do agente causal da mortalidade. Após esse período, as larvas foram observadas em estereomicroscópio para confirmação da mortalidade causada pelo

patógeno, seguindo as mesmas características dos fungos descritas anteriormente.

### Capacidade de consumo das larvas de Ce. cornuta pós-aplicação de B. bassiana

A escolha da espécie *Ce. cornuta* se deve a esta ser a espécie de *Ceraeochrysa* mais encontrada no estado de Sergipe, especialmente se alimentando de ninfas da mosca-negra-doscitros. Já o fungo *B. bassiana* (isolado SE-117) foi escolhido por ocasionar maior mortalidade das ninfas da mosca-negra-dos-citros em avaliações prévias de sua patogenicidade (Oliveira, dados não publicados).

A avaliação da capacidade de consumo de *Ce. cornuta* pós-aplicação de *B. bassiana*, foi realizada utilizando larvas de primeiro instar do crisopídeo, logo após a eclosão, e recebendo a oferta de diferentes densidades de presas, ninfas em segundo instar da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae).

Inicialmente, larvas de *Ce. cornuta* foram tratadas com suspensão fúngica de *B. bassiana* (1 × 10<sup>7</sup> conídios/mL) como descrito no experimento anterior. Enquanto, no grupo controle, as larvas não receberam nenhuma aplicação. Todas as larvas, do tratamento e do controle, foram acomodadas individualmente em caixas acrílicas do tipo Gerbox (11 x 11 x 3,5cm), foram ofertadas folhas de citros infestadas com densidades/quantidades diferentes de ninfas da mosca-negra-dos-citros. As larvas dos crisopídeos que não se alimentaram nos primeiros 5 minutos foram substituídas por larvas mais ativas (Jumbo et al. 2019).

Após um período de 24 horas, as larvas dos crisopídeos foram retiradas das caixas e o número de presas que restaram nas folhas foram contabilizados, obtendo-se o valor de presas consumidas. As densidades de presas ofertadas para as larvas do crisopídeo foram de 30 e 70, sendo cada densidade composta por 15 e 12 repetições, respectivamente.

#### Análise dos dados

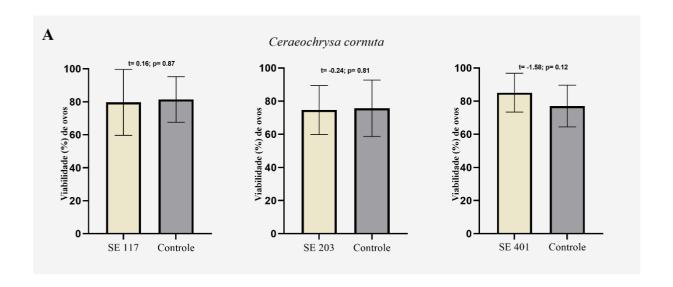
Os dados de viabilidade dos ovos (%), viabilidade das larvas (%), duração do primeiro instar larval (dias) e da capacidade de consumo das três espécies de *Ceraeochrysa* tratados com suspenções fúngicas de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. lilacinum*, foram comparados com seus respectivos controles por meio de testes *t* de Student, utilizando o procedimento SAS PROC

TTEST: Pooled ou Satterthwaite, considerando a igualdade de variância (SAS Institute 1999-2001). Os gráficos foram elaborados utilizando o software GraphPad Prism 8.0.1.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Seletividade dos fungos sobre ovos de crisopídeos Ceraeochrysa spp.

Os fungos B. bassiana, M. anisopliae e P. lilacinum foram seletivos aos ovos das três espécies de crisopídeos do gênero Ceraeochrysa (Figura 3). Observou-se que nenhum dos três fungos utilizados causou a inviabilidade dos ovos de Ce. cornuta, Ce. claveri e Ce. everes, uma vez que o percentual de viabilidade dos ovos tratados e não tratados não diferiram estatisticamente entre si pelo teste t (p > 0,05). Na maioria dos bioensaios realizados, a viabilidade dos ovos, dos tratamentos e seus respectivos controles, se manteve entre 75% e 80%.



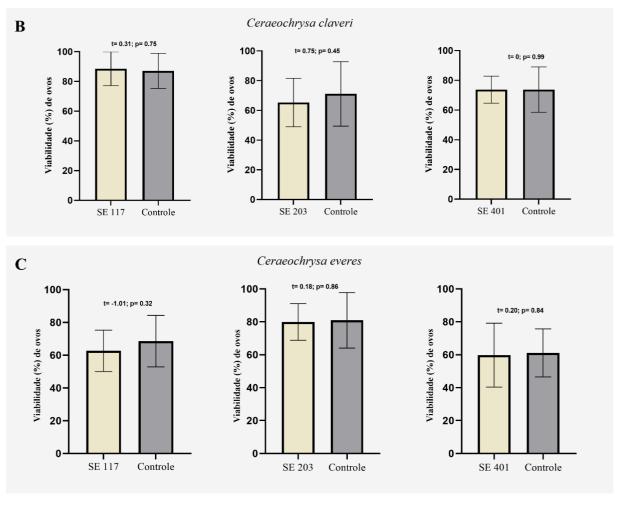


Figura 3. Viabilidade de ovos (média±SD) de *Ceraeochrysa cornuta* (A), *Ceraeochrysa claveri* (B) e *Ceraeochrysa everes* (C) após aplicação das suspensões fúngicas de *Beauveria bassiana* SE 117, *Metarhizium anisopliae* SE 203 e *Purpureocilium lilacinum* SE 401, e seus respectivos controles.

Levando em consideração que os experimentos foram realizados em períodos diferentes, as diferenças discretas na viabilidade dos ovos de *Ceraeochrysa* podem estar relacionadas a características reprodutivas das espécies, como tempo da geração em laboratório, fecundidade das fêmeas, diferença no fotoperíodo em relação às estações e exposição ao estresse térmico.

Os resultados deste estudo assemelham-se aos de Pessoa et al. (2005). Esses autores ao avaliarem a compatibilidade entre *B. bassiana*, na concentração 1,0 x 10<sup>7</sup> conídios/mL, sobre ovos do inseto predador *Chrysoperla externa* Hagen, 1861 constataram 98% de viabilidade nos ovos tratados com o fungo. Além disso, os resultados desse estudo assemelham-se aos

resultados de Cardoso et al. (2007), onde os fungos *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W.Gams, 1914 e *M. anisopliae* na concentração de 2,1 × 10<sup>7</sup> não afetaram a viabilidade dos ovos de *Ceraeochrysa cincta* Schneider, 1851 quando aplicados por imersão. Desse modo, é possível que os ovos das espécies de Chrysopidae apresentem resistência a esses patógenos. Essa resistência pode ser atribuída à proteção conferida pelo córion, que é a camada externa dos ovos de insetos, e apresenta normalmente textura rígida e se constitui na principal barreira de proteção do embrião contra agrotóxicos (Castilhos et al. 2014). Portanto, acredita-se que essa estrutura também atue como uma barreira física contra a penetração de fungos entomopatogênicos, impedindo ou dificultando o contato direto do micélio com o embrião. O papel de proteção realizado pelo córion, ganha força a partir dos resultados apresentados por Carvalho et al. (2021), os quais mostraram que os estágios de ovo e pupa de *Ceraeochrysa cubana* são mais tolerantes a acaricidas.

Embora a viabilidade dos ovos tratados com as suspensões fúngicas não tenham diferido significativamente do seu controle, o procedimento de confirmação do agente causal foi realizado (Figura 4). Nesse sentido, observamos que dentre os ovos inviáveis, o fungo *B. bassiana* cresceu sobre os ovos de *Ce. cornuta* (17,70%) e *Ce. everes* (29,17%). Enquanto, *M. anisopliae* e *P. lilacinum* foram observados apenas nos ovos de *Ce. everes* (3,12%) e *Ce. claveri* (1,04%), respectivamente.

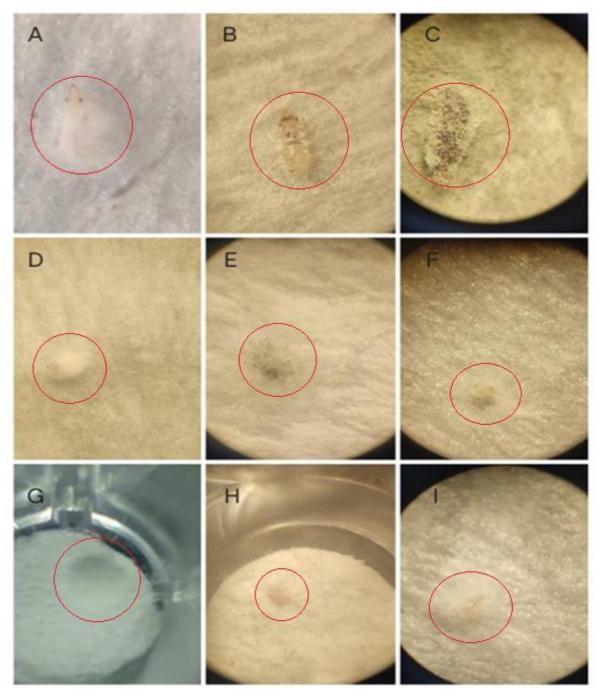
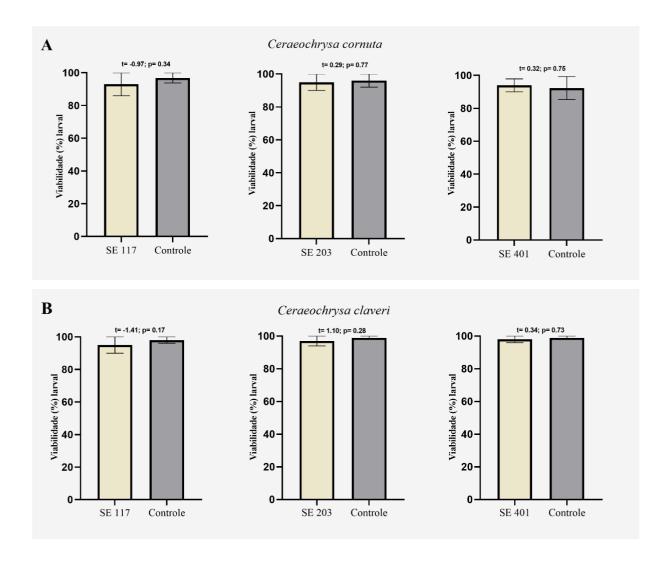


Figura 4. Confirmação do agente causal. (A e G) *B. bassiana* em larva e ovo de *Ce. cornuta*, respectivamente; (B) larva de *Ce. claveri* sem fungo; (C) *B. bassiana* em larva de *Ce. claveri*; (D e I) *B. bassiana* em larvas de *Ce. everes* e *Ce. claveri*, respectivamente; (E e F) *M. anisoplia*e em larvas de *Ce. claveri*; (H) *P. lilacinum* em ovo de *Ce. claveri*.

## Efeito dos fungos sobre larvas de crisopídeos Ceraeochrysa spp.

Os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. lilacinum* não causaram efeito sobre larvas de primeiro instar das três espécies de *Ceraeochrysa* spp. (Figura 5, Tabela 1). Observou-se que nenhum dos três fungos utilizados causou a mortalidade nas larvas de Ce. *cornuta, Ce. claveri* e *Ce. everes*, uma vez que a viabilidade média das larvas tratadas e não tratadas, se mantiveram acima de 92%, não diferindo estatisticamente (p > 0,05).



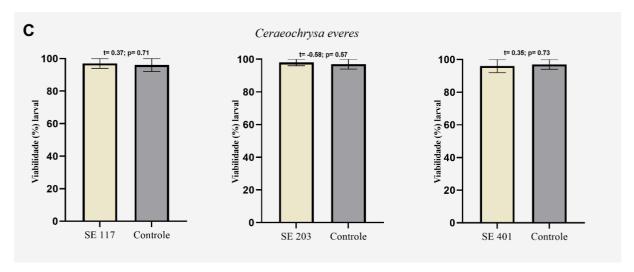


Figura 5. Viabilidade das larvas de primeiro instar (média±SD) de *Ceraeochrysa cornuta* (A), *Ceraeochrysa claveri* (B) e *Ceraeochrysa everes* (C) após aplicação das suspensões fúngicas de *Beauveria bassiana* SE 117, *Metarhizium anisopliae* SE 203 e *Purpureocilium lilacinum* SE 401, e seus respectivos controles.

Tabela 1. Duração média (em dias) para o segundo instar de *Ceraeochrysa cornuta, Ceraeochrysa claveri e Ceraeochrysa everes* após aplicação das suspensões fúngicas *Beauveria bassiana* SE 117, *Metarhizium anisopliae* SE 203 e *Purpureocilium lilacinum* SE 401.

#### Ceraeochrysa cornuta

Isolados	Tratamento	Controle	t; p-valor
SE 117	$4,01 \pm 0,03$	$3,99 \pm 0.03$	1,41; 0,17
SE 203	$4,15 \pm 0,17$	$4,05 \pm 0,14$	-1,39; 0,18
SE 401	$4,10 \pm 0,06$	$4,04\pm0,07$	-1,82; 0,08

### Ceraeochrysa claveri

Isolados	Tratamento	Controle	t; p-valor
SE 117	$3,02 \pm 0,04$	$3,09 \pm 0,20$	-1,04; 0,31
SE 203	$3,02 \pm 0,04$	$3,13 \pm 0,31$	1,06; 0,30
SE 401	$3,06 \pm 0,15$	$3,04 \pm 0.09$	-0,34; 0,73

#### Ceraeochrysa everes

Isolados	Tratamento	Controle	t; p-valor
SE 117	$4,10 \pm 0,10$	$4,10 \pm 0,10$	-0,04; 0,96
SE 203	$4,\!02\pm0,\!04$	$4,14\pm0,11$	3,07; 0,01
SE 401	$4,03 \pm 0,06$	$4,11 \pm 0.08$	2,39; 0,02

Nossos resultados corroboram com os achados obtidos em outros estudos que também avaliaram a seletividade de fungos entomopatogênicos a larvas de crisopídeos. Cardoso et al. (2007), ao aplicarem os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae*, na concentração 2,1 × 10<sup>7</sup>, constataram que ambos os fungos são seletivos a larvas de primeiro instar de *Ce. cincta*. O uso de suspensões fúngicas de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Metarhizium rileyi*, em diferentes concentrações (1x10<sup>7</sup>, 1x10<sup>8</sup>, 1x10<sup>9</sup> conídios/mL) sobre larvas de *Ch. externa*, também apresentaram baixo efeito na redução da viabilidade das larvas de crisopídeo (Dias et al. 2020). Além disso, os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são potencialmente seletivos a outros predadores como a tesourinha, *Marava arachidis* Yersin, 1860 (Dermaptera: Labiidae) (Maddalena et al. 2024).

O controle de pragas de maneira sustentável não se restringe apenas ao uso de fungos entomopatogênicos, outros agentes microbiológicos, tais como vírus e bactérias entomopatogênicas, também são utilizados para essa finalidade e têm se mostrado seletivos aos crisopídeos do gênero *Ceraeochrysa*. Loureiro et al. (2024) observaram compatibilidade entre as larvas de *Ce. cubana* e os entomopatógenos *Bacillus thuringiensis* e *Baculovirus*, ao contrário do inseticida sintético, clorpirifós, que não se mostrou seletivo.

Além de não possuir efeito negativo na viabilidade das larvas de primeiro instar das três espécies de crisopídeos do gênero *Ceraeochrysa* avaliadas em nosso estudo, constatamos também que, do ponto de vista biológico, os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. lilacinum* não afetaram o tempo de desenvolvimento dessas larvas. Ao avaliar a duração média do primeiro instar larval das três espécies de crisopídeos, pode-se observar que houve um discreto, porém significativo (p < 0,05), aumento no tempo de desenvolvimento das larvas de *Ce. everes* tratadas com *B. bassiana* e *P. lilacinum* (Tabela 1). Contudo, embora esses dados tenham sido significativos, a diferença em relação ao grupo controle corresponde a somente 2,8h e 1,9h respectivamente, o que não implica em efeito adverso causado pela aplicação fúngica.

Estudos sobre os aspectos biológicos de diferentes espécies de crisopídeos do gênero *Ceraeochrysa* também demonstram que o primeiro instar larval tem duração média entre 3 e 4 dias. Passos et al. (2022) observaram que *Ce. cornuta* alimentada com ovos de *E. kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) leva  $3,24 \pm 0,05$  dias no primeiro instar. Similarmente, Santos et al. (2022) demonstraram que larvas de *Ce. everes* alimentada com a mesma presa tem

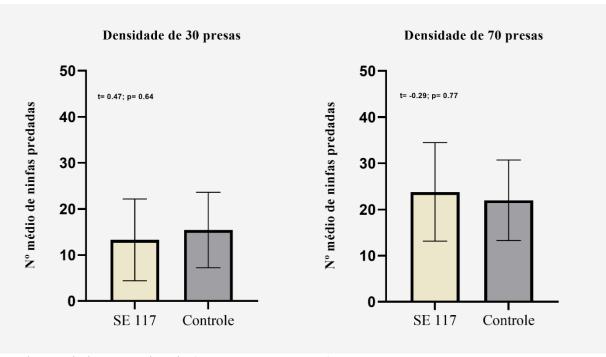
duração de  $4,35 \pm 0,08$  no primeiro instar. E, *Ce. claveri* alimentada com ovos e larvas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), tem duração média de  $3,4 \pm 0,11$  dias no primeiro instar (Almeida et al. 2009).

Desse modo, observa-se que há uma resistência inerente das larvas de *Ceraeochrysa* aos fungos entomopatogênicos testados, que pode ser explicada pelos mecanismos de defesa imune característicos da família Chrysopidae contra organismos que produzem patogênese (Murata et al. 2006; Silva et al. 2006). Além disso, essa resistência também pode está atribuída à coevolução entre hospedeiro e patógenos, uma vez que os fungos entomopatogênicos podem ser muito específicos e infectar apenas certo tipo de hospedeiros (Thungrabeab & Tongma 2007).

Embora a mortalidade das larvas tratadas com as suspensões fúngicas não tenham diferido significativamente do seu controle, o procedimento de confirmação do agente causal foi mantido (Figura 4). Nesse sentido, observamos que dentre as larvas mortas, o fungo *B. bassiana* cresceu sobre as larvas de *Ce. cornuta* (7%) e *Ce. everes* (3%) e *Ce. claveri* (4%). Enquanto, o fungo *M. anisopliae* cresceu em 4% das larvas de *Ce. claveri*, porém não foi verificado crescimento sobre as outras duas espécies de crisopídeo avaliadas. Já o fungo *P. lilacinum* cresceu sobre 2% e 3% das larvas de *Ce. cornuta* e *Ce. everes*, respectivamente. O crescimento dos fungos sobre as larvas mortas confirma a exposição das larvas aos fungos testados, além de reforçar a eficiência destes isolados.

### Capacidade de consumo da larva de Ce. cornuta pós-aplicação de B. bassiana

O fungo entomopatogênico *B. bassiana* não alterou a capacidade de consumo das larvas de primeiro instar de *Ce. cornuta* alimentadas com ninfas de mosca-negra-dos-citros (Figura 6). Após 24 horas em contato com a presas, na densidade de 30, 44.28% (13.28 $\pm$ 8.88) das ninfas haviam sido consumidas pelas larvas de *Ce. cornuta* tratadas com a suspensão fúngica, enquanto no grupo controle observou-se um total de 51,43% (15.42 $\pm$ 8.18), não havendo, portanto, diferença estatística ( $t_{1,14} = 0,47$ ; p = 0,64). Na densidade de 70, observa-se um aumento discreto no consumo médio para as larvas tratadas com a suspensão fúngica, onde 34% (23.8 $\pm$ 10.66) das ninfas foram predadas no tratamento, e 31,42% (22 $\pm$ 8.71) no grupo controle,



sendo estatisticamente iguais ( $t_{1,10} = -0.29$ ; p= 0.77).

Figura 6. Número médio ± SD de ninfas de segundo instar da mosca-negra-dos-citros predadas por larvas de primeiro instar de *Ceraeochrysa cornuta* tratadas e não tratadas com a suspensão fúngica de *B. bassiana* SE 117 após 24h.

Estudos sobre a capacidade de consumo das presas pelos predadores após aplicação fúngica são escassos. Wu et al. (2018) avaliaram o efeito de *B. bassiana* sobre a predação e comportamento do ácaro predador *Phytoseiulus persimillis* Athias-Henriot, 1957 (Acari: Physoteiidae) e sua presa *Tetranychus urticae* Koch, 1936 (Acari: Tetranychidae) onde a aplicação desse fungo não afetou a capacidade de predação do ácaro e representou um risco insignificante em seu comportamento. Paralelamente, Manfrino & Rocca (2024) ao avaliarem o consumo de ovos de *E. kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) pelo percevejo predador, *Orius insidiosus* Say, 1832 (Hemiptera: Anthocoridae), não encontraram efeito no comportamento de busca do predador mesmo após exposição ao fungo *B. bassiana*.

Vale destacar que larvas de *Ce. cornuta* em primeiro instar aumentam o consumo de presas à medida que a oferta de presas cresce (Jumbo et al 2019). Logo, os resultados deste estudo indicam que, mesmo sob exposição ao fungo entomopatogênico *B. bassiana*, *Ce. cornuta* manteve sua alta capacidade predatória.

### **CONCLUSÃO**

Os fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. lilacinum* foram seletivos aos ovos de *Ce. cornuta*, *Ce. claveri* e *Ce. everes*. Além disso, nenhum dos três fungos entomopatogênicos utilizados causou mortalidade ou afetou o tempo de desenvolvimento das larvas de primeiro instar das três espécies de crisopídeos do gênero *Ceraeochrysa* avaliadas. A aplicação da suspensão fúngica de *B. Bassiana* também não alterou a capacidade de consumo das larvas de *Ce. cornuta*. Sendo assim, nossos resultados sugerem que há compatibilidade entre os dois métodos de controle biológico, com potencial de integração desses dois agentes em programas de MIP e MEP.

### REFERÊNCIAS

AgroLink. 2023. Mercado de biológicos está se consolidando no Brasil. https://www.agrolink.com.br/noticias/mercado-de-biologicos-esta-se-consolidando-no-brasil 479575.html

Albuquerque, G.S. 2009. Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae). In: Bioecologia e nutrição de insetos – Base para o manejo integrado de pragas, p. 970–1016.

Alfaro-Valle, E.; Martínez-Hernández, A.; Otero-Colina, G. & Lara-Reyna, J. 2022. High susceptibility of *Tetranychus merganser* (Acari: Tetranychidae), an emergent pest of the tropical crop *Carica papaya*, towards *Metarhizium anisopliae* sl and *Beauveria bassiana* strains. PeerJ 10:e14064. https://doi.org/10.7717/peerj.14064

Almeida, M.F.; Barros, R.; Gondim Júnior, M.G.C.; Freitas, S. & Bezerra, A.L. 2009. Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Ciência Rural 39:313-318. https://doi.org/10.1590/S0103-

#### 84782009000200001

Alves, S.B. 1998. Controle microbiano de insetos. 2. ed. FEALQ, Piracicaba.

Bolzan, A. 2019. Monitoramento e caracterização da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil. Tese (Doutorado em Entomologia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 2020. Programa Nacional de Bioinsumos: Estratégia para promoção da inovação e sustentabilidade na agropecuária. https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 2020. Decreto Nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Diário Oficial da União.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 2006. Decreto Nº 5.981, de 6 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União.

Castilhos, R.V.; Grützmacher, A.D.; Siqueira, P.R.B.; Moraes, I.L. & Gauer, C.J. 2014. Seletividade de agrotóxicos utilizados em pessegueiro sobre ovos e pupas do predador Chrysoperla externa. Ciência Rural 44(11):1921-1928. http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20140248

Cardoso, E.R.; Freitas, S.; Nunes, H.T. & Pessoa, L.G.A. 2007. Seletividade de *Lecanicillium lecanii* e *Metarhizium anisopliae* para larvas de primeiro instar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. Acta Scientiarum. Agronomy 29:563-568. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303026575017

Carvalho, G.A.; Reis, P.R.; Grutzmacher, A.D.; Degrand, P.E.; Yamamoto, P.T. & Bueno, A.F. 2021. Seletividade de produtos fitossanitários: uma estratégia viável para a agricultura sustentável. In: Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Parte 4: Estratégias para incremento da eficiência do Controle Biológico, p. 481-505.

Carvalho, M. M. P.; Corrêa-Reis, L. A.; Pinheiro, M. L. C.; Moreira, M. M.; Vieira, D. A.;

Souza, B. 2023. Is a diet of Planococcus citri nymphs and adults suitable for Chrysoperla externa for use in biological control? Revista Brasileira de Entomologia, v. 67, p. 1-8. https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2022-0010

Clifton, E.H.; Jaronski, S.T.; Coates, B.S.; Hodgson, E.W. & Gassmann, A.J. 2018. Effects of endophytic entomopathogenic fungi on soybean aphid and identification of Metarhizium isolates from agricultural fields. **PLOS** ONE 13:e0194815. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194815

Dahlin, P. et al. 2019. Integrated control of Meloidogyne incognita in tomatoes using fluopyram and Purpureocillium lilacinum strain 251. Crop Protection, v. 124. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104874

Dal Bosco, M.G. & Abreu, T.G. 2023. O princípio da proibição do retrocesso socioambiental: Análise da flexibilização da legislação sobre o uso de agrotóxicos. Veredas do Direito 20:e202511. https://doi.org/10.18623/rvd.v20.2511

Dias, P.M.; Loureiro, E.S.; Pessoa, L.G.A.; Devos, G.L.R.; Barbosa Junior, G.B.; Werner, A.M.; Navarrete, A.A. & Teodoro, P.E. 2020. Selectivity of entomopathogenic fungi to *Chrysoperla* externa (Neuroptera: Chrysopidae). Insects 11:716. https://doi.org/10.3390/insects11100716

Dias, P.M.; Loureiro, E.S.; Pessoa, L.G.A.; Oliveira Neto, F.M.; Tosta, R.A.S. & Teodoro, P.E. 2019. Interactions between fungal-infected *Helicoverpa armigera* and the predator *Chrysoperla externa*. Insects 10:309. https://doi.org/10.3390/insects10100309

Duque, F.J.S. 2008. Espécies de *Ceraeochrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae) presentes em pomares de *Citrus* spp., na Venezuela. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal.

FAO. 2023. Pesticides use and trade, 1990–2021 (FAOSTAT Analytical Briefs Series No. 70). Rome.

Franzin, M.L.; Moreira, C.C.; Silva, L.N.P.; Martins, E.F.; Fadini, M.A.M.; Pallini, A.; Elliot, S.L. & Venzon, M. 2022. *Metarhizium* associated with coffee seedling roots: Positive effects on plant growth and protection against *Leucoptera coffeella*. Agriculture 12:2030. https://doi.org/10.3390/agriculture12122030

Freitas, S. 2001. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. FUNEP, Jaboticabal, 66p.

Goedel, A.D.; Faita, M.R. & Poltronieri, A.S. 2021. Resistência varietal de milho doce crioulo a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Research, Society and Development 10. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21309

Irac. Michigan State University. 2016. Arthropod pesticide resistance database. Disponível em: [http://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=41]

Iwanicki, N.S.; Pereira, A.A.; Botelho, A.B.R.Z. et al. 2019. Monitoring of the field application of *Metarhizium anisopliae* in Brazil revealed high molecular diversity of *Metarhizium spp* in insects, soil and sugarcane roots. Scientific Reports 9:4443. https://doi.org/10.1038/s41598-019-38594-8

Jumbo, L.O.; Teodoro, A.V.; Rêgo, A.S.; Haddi, K.; Galvão, A.S. & Oliveira, E.E. 2019. The lacewing *Ceraeochrysa caligata* as a potential biological agent for controlling the red palm mite *Raoiella indica*. PeerJ 7:e7123. https://doi.org/10.7717/peerj.7123

Lacey, L.A.; Grzywacz, D.; Shapiro-Ilan, D.I.; Frutos, R.; Brownbridge, M. & Goettel, M.S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. Journal of Invertebrate Pathology 132:1-41. https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009

Lara, T.I.C. & Garcia, S.D. 2020. O impacto do uso dos agrotóxicos na saúde pública: revisão de literatura. Revista Saúde e Desenvolvimento Humano 8:85-96. http://dx.doi.org/10.18316/sdh.v8i1.6087

Lopez, D.C. & Sword, G.A. 2015. The endophytic fungal entomopathogens Beauveria bassiana

e *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton *(Gossypium hirsutum)* and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). Biological Control 89:53-60. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010

Loureiro, E.S.; Filho, A.B.; Almeida, J.E.M. & Mendes, J.M. 2012. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em condições de campo. Arquivos do Instituto Biológico 79:47-53. https://doi.org/10.1590/S1808-16572012000100007

Luangsa-Ard, J. et al. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. FEMS Microbiology Letters 312:141-149. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x

Machado, R.J.P. & Martins, C.C. 2022. The extant fauna of Neuroptera (Insecta) from Brazil: Diversity, distribution and history. Revista Brasileira de Entomologia 66:e20220083. https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2022-0083

Manfrino, R.G. & Rocca, M. 2024. Suscetibilidade de *Orius insidiosus* a *Beauveria bassiana*, *Akanthomyces muscarius*, e *Cordyceps fumosorosea* e seus efeitos no comportamento predador. Entomologia Experimentalis et Applicata 00:1-8. https://doi.org/10.1111/eea.13493

Martins, C.C. 2014. Morfologia e filogenia de *Ceraeochrysa* Adams, 1982 (Neuroptera: Chrysopidae). Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade de São Paulo. https://doi.org/10.11606/D.59.2014.tde-05062014-145840

McKinnon, A.C.; Saari, S.; Moran-Diez, M.E.; Meyling, N.V.; Raad, M. & Glare, T.R. 2017. *Beauveria bassiana* as an endophyte: A critical review on associated methodology and biocontrol potential. BioControl 62:1-17. http://dx.doi.org/10.1007/s10526-016-9769-5

Medeiros, F.R. 2016. Patogenicidade de fungos a mosca-negra-dos-citros e compatibilidade entre agrotóxicos e *Purpureocillium lilacinum*. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu.

Mello, C.M.; Eckstein, B.; Marques, D. & Carvalho, D.C. 2020. Controle de doenças de plantas. In: Fontes, E.M.G. & Valadares-Inglis, M.C. (org.). Controle biológico de pragas da agricultura. Embrapa, Brasília, p. 318.

Moreira, S.D.; França, A.C.; Rocha, W.W.; Tibães, E.S.R. & Neiva Júnior, E. 2018. Inoculation with mycorrhizal fungi on the growth and tolerance to water deficit of coffee plants. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 22:747-752. https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n11p747-752

Murata, A.T.; Caetano, A.C.; Bortoli, S.A. & Brito, C.H. 2006. Capacidade de consumo de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. Revista Caatinga 19: 304-309. https://www.researchgate.net/publication/236163407

Oliveira, R.; Alves, P.R.R.; Costa, W.J.D.; Batista, J.L. & Brito, C.H. 2014. Capacidade predatória de *Ceraeochrysa cubana* sobre *Aleurocanthus woglumi*. Revista Caatinga 27:177-182.

Pacheco-Rueda, I.; Lomelí-Flores, J.R.; López-Arroyo, J.I.; González-Hernández, H.; Romero-Nápoles, J.; Santillán-Galicia, M.T. & Suárez-Espinoza, J. 2015. Preferencia de tamaño de presa en seis especies de Chrysopidae (Neuroptera) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Revista Colombiana de Entomología 41:163-169. ISSN 0120-0488

Pappas, M.L.; Broufas, G.D. & Koveos, D.S. 2011. Chrysopid predators and their role in biological control. Journal of Entomology 8:301-326. http://dx.doi.org/10.3923/je.2011.301.326

Parra, J.R.P. 2014. Biological control in Brazil: An overview. Scientia Agricola 71:345-355. https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0167

Parra, J.R.P. 2023. Biological control in Brazil: State of art and perspectives. Scientia Agricola 80:e20230080. https://doi.org/10.1590/1678-992X-2023-0080

Passos, E.M.; Teodoro, A.V.; Costa, D.M.; Lima, L.A. & Mendonça, M.C. 2022. Suitability of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) e *Aleurodicus cocois* (Hemiptera: Aleyrodidae) como alimento para *Ceraeochrysa cornuta* (Neuroptera: Chrysopidae). Revista de Protección Vegetal 37:85-96. E-ISSN: 2224-4697.

Pessoa, L.G.A.; Cavalcanti, R.S.; Moino Júnior, A. & Souza, B. 2005. Compatibilidade entre *Beauveria bassiana* e o predador *Chrysoperla externa* em laboratório. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40:617-619. https://www.researchgate.net/publication/262749203

Rubio, G.O.; Souza, E.C. & Pereira, R.M. 2021. Eficiência da utilização de fungos entomopatogênicos no controle de *Euschistus heros* na cultura da soja. Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar.

Russo, M.L.; Pelizza, S.A.; Vianna, M.F.; Allegrucci, N.; Cabello, M.N.; Toledo, A.V.; Mourelos, C. & Scorsetti, A.C. 2018. Effect of endophytic entomopathogenic fungi on soybean *Glycine max* (L.) Merr. growth and yield. Journal of King Saud University - Science 31:728-736. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.008

Santos, A.C.B.; Régo, A.S.; Lemos, R.N.S.; Dias, G.S. & Lopes, G.S. 2022. Biological aspects of *Ceraeochrysa everes* (Neuroptera: Chrysopidae) fed on pink hibiscus mealybug. Revista Caatinga 35:363-370. https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n212rc

Scudeler, E.L.; Daquila, B.V.; Santos, D.C. & Conte, H. 2020. Crisopídeos: Interface entre biologia e ambiente agrícola.

Shimizu, M.Y. & Mourão, M.A.N. 2022. Gestão ambiental como ferramenta mitigadora de impactos ambientais provocados por pesticidas que afetam populações da espécie de abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae). Revista Ibero-americana de Humanidades, Ciências e Educação 8:1731-1749. http://dx.doi.org/10.51891/rease.v8i4.5190

Silva, S.J.T. & W.J.M.S. Maia. 2011. Uso de tricomas como detritos para criação massal de

Ceraeochrysa everes e Leucochrysa amazônica. In 9° Seminário Anual de Iniciação Científica, Belém, UFRA, 3p.

Silva, T.H.C.; Moreira, L.R.C.; Jordão, L.R.; Silva, N.R.R.N. & Rodrigues, V.D.V. 2022. O uso indiscriminado de agrotóxicos na agricultura, seus impactos na saúde do trabalhador rural e a consequente responsabilidade civil no Brasil. Revista de Direito Sanitário 22:e0007. https://doi.org/10.11606/issn.2316-9044.rdisan.2022.173146

Souza, J.C.; Maia, W.J.M.S.; Galvão, J.R.; Alves Filho, P.P.C. & Barbosa, A.V.C. 2015. Resposta funcional e capacidade predatória da fase larval de *Ceraeochrysa caligata* alimentada com *Brevicoryne brassicae*. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável 10:61-65. https://doi.org/10.18378/rvads.v10i3.3308

Sujii, E.R.; Pires, C.S.S.; Venzon, M. & Fernandes, O.P. 2020. Controle de artrópodes praga com insetos predadores. In: Fontes, E.M.G. & Valadares-Inglis, M.C. (org.). Controle biológico de pragas da agricultura. Embrapa, Brasília, cap. 4, p. 113-137.

Tall, S. & Meyling, N.V. 2018. Probiotics for plants? Growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. Microbial Ecology 76:1002-1008. https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-018-1180-6

Thungrabeab, M. & Tongma, S. 2007. Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on non-target insects. KMITL Science and Technology Journal 7(S1): 8-12. https://doi.org/10.3390/insects15080576

Vipievski, J.M.; Vargas, L.P. & Bet, V.T. 2022. Flexibilização dos agrotóxicos no Brasil: a expansão dos registros e do consumo. Iniciação Científica CESUMAR 24:e10671. https://doi.org/10.17765/2176-9192.2022v24n1e10671

Wu, S.; Xing, Z.; Sun, W.; Xu, X.; Meng, R. & Lei, Z. 2018. Effects of *Beauveria bassiana* on predation and behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. Journal of Invertebrate Pathology 154:1-9. https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.02.014

Zhu, Y.C.; Blanco, C.A.; Portilla, H.; Adamczyk, J.; Luttrell, R. & Huang, F. 2015. Evidence of multiple/cross resistance to Bt and organophosphate insecticides in Puerto Rico population of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Pesticide Biochemistry and Physiology 122:15-21. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.01.007