

QUALIDADE DA JOANINHA PREDADORA *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE), RESISTENTE A PIRETROIDES, APÓS 130
GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO

por

LEANDRA DE OLIVEIRA COSTA

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres - UFRPE)

RESUMO

O controle biológico aumentativo requer a criação de inimigos naturais para a liberação. Sucessivas gerações de criação em laboratório podem acarretar na ineficiência do inimigo natural em campo. Ainda, insetos resistentes a inseticidas podem apresentar redução de desempenho devido à resistência. A população da joaninha predadora, *Eriopis connexa* (Germar), que possui resistência do tipo metabólica à λ -cicalotrina, está com mais de 130 gerações de criação em laboratório e razão de resistência superior a 260 vezes. Assim, este trabalho determinou aspectos biológicos e comportamentais de *E. connexa*, população resistente (EcViR), em comparação a população recém-coletada e suscetível à λ -cicalotrina (EcCV). Fêmeas das duas populações submetidas ou não à escassez de presa apresentaram sobrevivência similar durante 35 dias de observações, embora fêmeas EcViR apresentaram maior fecundidade. A predação do pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* Davis por adultos de ambas as populações, na ausência ou presença do resíduo de λ -cicalotrina, resultou em resposta funcional do tipo II. Entretanto, joaninhas EcViR exibiram maior taxa de consumo de pulgões tanto na ausência como na presença de λ -cicalotrina. Quando larvas neonatas de ambas as populações foram criadas em três diferentes temperaturas (18, 25 e 32 °C), a duração de desenvolvimento foi similar entre populações. Porém, fêmeas da população EcCV foram

maiores à 18 e 25°C e produziram maior número de ovos à 25 e 32°C. Os resultados mostram que a população EcViR mantém o comportamento de predação e desempenho, mesmo sendo mantida após longo período de criação em laboratório. A fecundidade foi menor quando as fêmeas foram mantidas a 25 e 32 °C. Assim, os resultados corroboram a hipótese de que o comportamento de predação não é afetado na população resistente e criada em laboratório, enquanto a fecundidade é afetada na população resistente devido ao custo adaptativo a resistência, o que é mais evidente em temperaturas mais altas.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, controle de qualidade de inimigos naturais, resistência a inseticidas, criação massal.

QUALITY ASSESSMENT OF THE LADY BEETLE, *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE), RESISTANT TO PYRETHROIDS AFTER 130
GENERATIONS OF REARING IN THE LABORATORY

by

LEANDRA DE OLIVEIRA COSTA

(Under the Direction of Professor Jorge Braz Torres - UFRPE)

ABSTRACT

Augmentative biological control requires the rearing of natural enemies for release. The efficiency of the natural enemy might deteriorate after many generations of laboratory rearing. In addition, insects that are resistant to insecticides may exhibit reduced performance as a result of the costs of insecticide resistance. The insecticide resistant population of the lady beetle, *Eriopis connexa* (Germar) (EcViR), exhibits metabolic resistance to λ -cyhalothrin and has been under laboratory rearing for more than 130 generations, with 260-fold resistance ratio. Thus, the biological and behavioral traits of the EcViR population were compared to those of a field-collected and λ -cyhalothrin-susceptible population (EcCV). Females from both populations showed similar survival during 35 days of observations when subjected or not to food shortages, while a higher fecundity was obtained for EcViR females. Predation of the turnip aphid, *Lipaphis pseudobrassicae* Davis by adults from both populations resulted in a type II functional response, in the presence or absence of λ -cyhalothrin. However, EcViR individuals showed a higher rate of aphid consumption than EcCV, independent of the λ -cyhalothrin residue. The duration of larval development was similar between populations when reared at 18, 25, and 32 °C. On the other hand, larger EcCV females emerged from larvae reared at 18 and 25 °C than female EcViR, and EcCV females produced higher numbers of eggs at 25 and

32 °C. The results show that the EcViR individuals maintained their predation rate and reproductive performance after 100 generations of rearing in the laboratory. On the other hand, the fecundity of EcViR females was lower when fed ad libitum, reared since larvae, and maintained at 25 and 32 °C. Thus, the results corroborate the hypothesis that the predation rate is not affected in the resistant population after laboratory rearing. However, the fecundity is affected in the resistant population due to the adaptive cost of resistance, making it more evident at different temperatures.

KEY WORDS: Biological control, natural enemy quality control, insecticide resistance, mass rearing.

QUALIDADE DA JOANINHA PREDADORA *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE), RESISTENTE A PIRETROIDES, APÓS 130
GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO

por

LEANDRA DE OLIVEIRA COSTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Entomologia.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2024

QUALIDADE DA JOANINHA PREDADORA *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE), RESISTENTE A PIRETROIDES, APÓS 130
GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO

por

LEANDRA DE OLIVEIRA COSTA

Comitê de Orientação:

Jorge Braz Torres

Rogério Lira

Christian Sherley Araújo da Silva-Torres

QUALIDADE DA JOANINHA PREDADORA *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE), RESISTENTE A PIRETROIDES, APÓS 130
GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO

por

LEANDRA DE OLIVEIRA COSTA

Banca examinadora:

Jorge Braz Torres - UFRPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

Roberta Ramos Coelho – PNPd/CAPES

Leandra de Oliveira Costa
Mestre em Entomologia

Prof. Jorge Braz Torres – UFRPE
Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C838q Costa, Leandra de Oliveira
Qualidade da joaninha predadora *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae), resistente a piretroides, após 130 gerações de criação em laboratório: Dissertação / Leandra de Oliveira Costa. - 2024.
65 f. : il.

Orientador: Jorge Braz Torres.
Coorientador: Rogerio Lira.
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Recife, 2024.

1. Controle biológico. 2. Controle de qualidade de inimigos naturais. 3. Resistência a inseticidas. I. Torres, Jorge Braz, orient. II. Lira, Rogerio, coorient. III. Título

CDD 632.7

DEDICATÓRIA

A Deus

Aos meus pais, Dinar Barrozo e Givaldo Bruno

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar forças para desenvolver cada novo projeto que me proponho a realizar.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia (PPGE – UFRPE).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa.

A mim mesma por acreditar nos meus sonhos, nunca desistir e sempre lutar pelo que quero, mesmo quando outras pessoas não me considerem capaz.

Aos meus pais Dinar Barrozo e Givaldo Bruno por todo amor, carinho, suporte, incentivo para que eu continuasse sempre buscando meus sonhos e por nunca deixarem de acreditar em mim.

A Elisângela Rodrigues por ser minha melhor amiga desde a graduação, por compartilhar os melhores momentos, por me ouvir e por se tornar uma parte da minha família.

Ao professor Jorge Braz Torres pela confiança, dedicação, orientação e pelas conversas descontraídas.

Ao Dr. Rogério Lira por toda orientação, dedicação, paciência e ajuda na execução dos experimentos.

A professora Christian Sherley pelas conversas e se mostrar sempre interessada e solícita em ajudar e esclarecer dúvidas.

Aos companheiros do Laboratório de Controle Biológico (LCB): Hélia Marinho, Gemerson Oliveira, Natalia Bermúdez, Roberta Coelho, Deivid Nascimento e Raquel Soares pela ajuda nos experimentos e pelos momentos de descontração.

Aos amigos e confidentes do PPGE: Camila Teixeira, Manoely Reis e Wesley Soares por toda amizade, conselhos sobre a vida pessoal e acadêmica.

Aos amigos do condomínio Castelo dos Estudantes: Alécia, Arielly, Randerson, Camila, Dona Nena, Seu Ivo, Yara, Lídia, Elton, Ianne, Catiane, Lílían, Dona Marta e Tia Jô, por todo o acolhimento, carinho e momentos felizes desde o primeiro dia em que fiz do prédio minha casa.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA.....	11
2 DESEMPENHO DA JOANINHA PREDADORA RESISTENTE A PIRETRÓIDES, <i>Eriopis connexa</i> (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS 137 GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO.....	32
AGRADECIMENTOS	38
LITERATURA CITADA.....	38
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O controle biológico ocorre naturalmente nos ecossistemas, desempenhando o controle de insetos pragas, ervas daninha e doenças, mais precisamente, através de uma espécie regulando outras espécies (Parra *et al.* 2002). Desde meados do século III A.C. existem relatos do uso de formigas *Oecophylla smaragdina* (Fabr.) no controle de lepidópteros e brocas dos citros. No entanto, o controle biológico somente começou a se difundir após a introdução da joaninha *Nuvia* (= *Rodolia*) *cardinalis* (Mulsant) da Austrália nos Estados Unidos em 1888 (Leppla & Williams 1992, Parra 2014). Desde então, o controle biológico tem sido fundamental para o manejo de populações de insetos praga, particularmente no controle de pragas agrícolas. Em um contexto de Manejo Integrado de Pragas (MIP), o controle biológico pode ser definido como uma relação entre dois ou mais organismos em que um é denominado inimigo natural e o outro é a praga/presa. O inimigo natural controla as populações de pragas impedindo ou reduzindo o crescimento populacional por meio da predação, competição ou parasitismo (Bastos & Torres 2003).

A partir do século XX o controle biológico obteve denominações e terminologias visando facilitar a aplicação e o entendimento (Barratt *et al.* 2018), sendo dividido em três modalidades: o natural, o clássico e o aumentativo. O controle biológico natural ou conservativo (CBN) consiste na utilização de táticas para conservar os inimigos naturais presentes em um agroecossistema. O controle biológico clássico (CBC) é definido como a introdução de inimigos naturais exóticos, ou seja, que anteriormente não ocorriam no local de cultivo desejado. E por fim, o controle biológico aumentativo (CBA) é empregado por meio da liberação de inimigos naturais a fim de aumentar o

número de inimigos naturais ausentes ou já presentes no agroecossistema, que pode ser o inimigo natural introduzido ou coletado na mesma região (Parra *et al.* 2002, Bastos & Torres 2003).

Com a evolução do controle biológico aumentativo na década de 70, empresas expandiram suas criações para a oferta comercial de inimigos naturais. Com isso, também, desenvolveram a elaboração de dietas artificiais (Parra *et al.* 2002). Deste modo, até o presente momento o controle biológico aumentativo é baseado na liberação de agentes de biocontrole produzidos por empresas responsáveis por criações massais, visando a aplicação para a obtenção de uma redução rápida das populações de pragas (van Lenteren 2012). Atualmente, estima-se que são utilizadas por volta de 450 espécies de agentes de controle biológico no CBA em todo o mundo, distribuídos entre os entomopatógenos (fungos, bactérias, vírus, nematoides, etc.) e predadores e parasitoides, sendo que parasitoides e predadores lideram as maiores porcentagens de comercialização (van Lenteren *et al.* 2021).

A família Coccinellidae é formada por insetos, popularmente denominados de joaninhas, possui a maioria das espécies dos coleópteros utilizados no CBA (van Lenteren *et al.* 2018). As joaninhas são amplamente conhecidas por sua predação de pragas, preferencialmente, pulgões, cochonilhas, moscas-branca e psílídeos, além de consumirem pequenas larvas de outros coleópteros e lepidópteros e ovos de outros insetos (Evans 2009, Rondoni *et al.* 2021). Devido a essas características predatórias, as joaninhas são utilizadas no CBA. Como exemplo, tem-se a joaninha predadora *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), a qual possui destaque no controle de cochonilhas (Kairo *et al.* 2013). Estudos realizados com *C. montrouzieri*, demonstraram que a população de *Planococcus citri* (Risso) foi reduzida em até 100% (Afifi *et al.* 2010). Da mesma forma, *Harmonia axyridis* (Pallas) utilizadas em experimentos demonstrou ser um predador altamente voraz de ovos e pequenas larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), apresentando

desempenho satisfatório para o CBA (Di *et al.* 2021). Em países como Irã, Alemanha, Turquia, Rússia e China, a joaninha *Oenopia conglobata* (L.) tem sido utilizada para o controle de pulgões, psílídeos e percevejos, mas atualmente este predador se destaca devido ao controle da praga-chave do pistache, *Agonoscena pistaciae* (Burckhardt & Lauterer). A liberação de 100 indivíduos adultos por árvore de pistache foi suficiente para a redução da infestação da praga (Özgen *et al.* 2022).

Para o controle de uma praga bastante importante na agricultura como a mosca-branca, a joaninha predadora *Delphastus catalinae* (Horn) se destaca pela sua eficiência. Em estudos realizados por Gantayda & Sacar (2021), foi observado que apenas uma fêmea de *D. catalinae* era capaz de consumir mais de 150 ovos ou ninfas de mosca-branca por dia, e cada larva do predador consumiu cerca de 1000 ovos durante o desenvolvimento de duas semanas. Além desses exemplos, as joaninhas *Hippodamia convergens* (Guérin-Meneville) e *Eriopis connexa* (Germar) são predadoras de pulgões presentes em muitas culturas de importância econômica (Matos 2020).

Além das espécies supracitadas, várias outras joaninhas se destacam como predadoras de insetos-praga, com potencial para serem utilizadas em programas de controle biológico, independente da modalidade empregada. A espécie *Leis* (*Harmonia*) *dimidiata* (Fabr.) tem potencial para o controle de espécies do gênero *Aphis*, *Myzus persicae* (Sulzer) e *Schizaphis graminum* (Rondani) (Kuznetsov 1997). Assim como os exemplos acima, as espécies *Adalia bipunctata* (L.), *Coccinella septempunctata* (L.), *Cycloneda limbifer* (Casey), *Cycloneda sanguinea* (L.), *Hippodamia variegata* (Goeze), *Menochilus sexmaculatus* (Fabr.), *Nephus quadrimaculatus* (Herbst), *Olla abdominalis* (Casey), *Propylaea japonica* (Thunberg), *Propylea quatuordecimpunctata* (L.), *Scymnus loewii* (Mulsant) e *Stethorus punctillum* (Weise) possuem estudos demonstrando sua viabilidade para o CBA (Saleem *et al.* 2014, van Lenteren *et al.* 2018, Iftikhar *et al.* 2018, Rondoni *et al.* 2021).

Entre essas espécies, algumas já são comercializadas e, assim, empregadas no CBA. Por exemplo, *H. convergens* é amplamente utilizada nos E.U.A., para liberações contra pulgões. A solicitação de compra pode ser direcionada para uma empresa fornecedora específica, ou mesmo, através do *e-commerce* (comercio pela internet). Na Europa, as empresas Koppert (<https://www.koppert.com>) e Biobest (<https://www.biobestgroup.com/>) comercializam três espécies de joaninhas predadoras: *A. bipunctata* para o controle de pulgões; *C. montrouzieri* para o controle de cochonilhas; *D.catalinae* para o controle de mosca-branca. No Brasil, a joaninha predadora *C. montrouzieri* encontra-se registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como CryptoMIP® e Tank® pelas empresas PROMIP (<https://promip.agr.br/>) Manejo Integrado de Pragas e TOPBio (<https://topbiobrasil.com.br/>) Insumos Biológicos Indústria e Comércio Ltda, respectivamente. Além do fornecimento para controle de pragas em grandes áreas, também é possível adquirir kits de joaninhas através de lojas responsáveis em seus respectivos sites. Os kits podem conter larvas ou adultos incluindo dieta artificial para a alimentação e são vendidos em pequenas quantidades para o controle de pulgões de plantas ornamentais e pequenos pomares.

A oferta comercial de joaninhas para o CBA depende de sua produção contínua com qualidade e quantidade suficiente para suprir a demanda de mercado. A criação em larga escala é feita por empresas especializadas visando melhorar os programas de controle biológico (Barbosa *et al.* 2021). A produção em larga escala de inimigos naturais é baseada na manutenção e acompanhamento do desenvolvimento em ambiente controlado, com dieta artificial, presa alternativa ou natural e fotoperíodo ideais. Essa tecnologia de criação controlada permitiu o crescimento do uso de inimigos naturais em várias culturas, resultando em boa aplicabilidade do CBA (Prezotti & Parra 2002, van Lenteren *et al.* 2018).

Preferencialmente, as empresas de controle biológico criam os inimigos naturais em uma presa ou hospedeiro alternativo por ser uma forma mais viável quanto a logística e custo. No entanto, essa forma de criação é válida somente para pequenas criações, pois à medida que o número de indivíduos produzidos aumenta, proporcionalmente aumenta a exigência em mão de obra. Por exemplo, para a criação de joaninhas coccidófagas ou afidófagas é necessário cultivar plantas adequadas como substrato para as pragas, infestar e controlar a flutuação dos próprios insetos sugadores, de modo que não eliminem todas as plantas ou que haja redução destes insetos por questões climáticas (van Lenteren & Tommasini 1999, Michaud 2012). Outro fator que pode prejudicar a criação de inimigos naturais é a contaminação da criação por patógenos (van Lenteren & Tommasini 1999). Então, como alternativa as empresas optam por desenvolver dietas artificiais, que são mais econômicas, demandam pouco tempo de preparo e reduzem os riscos de contaminação do inimigo natural criado (Riddick 2009).

As dietas utilizadas em laboratório geralmente são divididas em artificiais e alternativas: *i*) as artificiais são fabricadas a partir da mistura de vários ingredientes, podendo conter ou não partes de vertebrados e invertebrados; *ii*) as alternativas consistem em presas que normalmente não fazem parte da alimentação do inimigo natural nos agroecossistemas. Contudo, ambas as dietas devem conter todos os nutrientes necessários para permitir o pleno desenvolvimento dos indivíduos, bem como garantir sucesso em todas suas características reprodutivas (Cohen 2003, Sun *et al.* 2017). Estas são categorizadas de acordo com a sua composição, algumas apresentam insetos, partes de animais vertebrados ou a ausência destes componentes em suas formulações. Em muitos casos, para predadores são usualmente fornecidas dietas alternativas que substituem as presas. Por exemplo, na criação de joaninhas predadoras são utilizados ovos ou larvas de lepidópteros. Além de lepidópteros, pupas de dípteros (*Musca domestica* L.), larvas de himenópteros (*Apis mellifera*

L.), larvas e pupas de coleópteros (*Tenebrio molitor* L.), também, são utilizadas como aditivos para melhorar a qualidade das presas alternativas (Sun *et al.* 2017). Espécies como *E. connexa*, *H. axyridis*, *Coleomegilla maculata* (DeGeer) e *O. conglobata* são alimentadas com ovos inviabilizados de *Ephestia kuehniella* (Zeller). Além do uso de insetos, também foram descritas dietas utilizando fígado de suínos para o preparo de dietas para *Coccinella transversoguttata richardsoni* (Brown), *A. bipunctata* (L.), *P. quatuordecimpunctata* (L.) e *C. septempunctata* (Kariluoto *et al.* 1976, Kariluoto 1980).

Todavia, a domesticação que esses inimigos naturais são submetidos na criação em laboratório pela oferta constante de dietas artificiais ou presas alternativas pode resultar na redução do desempenho em campo (Hoekstra 2003, Nunney 2003). O efeito no desempenho se deve ao fato de que esses indivíduos estão em ambiente controlado, que faz com que se adaptem ao novo ambiente, consequentemente perdendo características essenciais para o desempenho em campo (Hoffmann & Ross 2018, van Lenteren 2003a). Além destes, existem outros fatores que podem influenciar no desempenho dos inimigos naturais produzidos em insetários. O armazenamento inadequado, várias gerações criadas em laboratório com dieta artificial e a preocupação apenas em produzir grandes quantidades para o comércio, podem resultar em ofertas de produtos com baixa qualidade (van Lenteren 2003b). Outro fator preocupante é a consanguinidade, a qual pode provocar a perda de variabilidade genética na população, tornando-a mais homozigota e favorecendo a expressão de genes deletérios que podem impactar o desempenho dos insetos em campo (van Lenteren 2003a, Pekkala *et al.* 2014).

Além de fatores biológicos como a alimentação e a genética, os insetos criados em laboratórios podem ser influenciados por fatores físicos, como a temperatura. Variações de temperatura no ambiente da liberação também são responsáveis pelo baixo desempenho do

inimigo natural. Temperaturas extremas afetam o desenvolvimento, sobrevivência, acasalamento, reprodução, capacidade predatória (busca e encontro da presa) e dispersão (Thomson *et al.* 2010). Entretanto, a temperatura não afeta somente o inimigo natural, mas também as presas como pulgões. Os pulgões são sensíveis as chuvas intensas, secas e temperaturas extremas, que causam grandes variações na densidade populacional (Hulle *et al.* 2010). A redução e falta de presas em campo resulta em efeitos adversos no comportamento do predador, os quais podem emigrar dos agroecossistemas de cultivo, ou caso permaneçam, tentar sobreviver através do forrageamento de presas ou alimento alternativo para se manter no local. Por exemplo, recursos florais como pólen e néctar, apesar de não ser parte da dieta essencial do inimigo natural, são empregados como alimento não presa para sobreviver até que as presas se tornem novamente disponíveis (Torres *et al.* 2004, Birkhofer *et al.* 2008). Santos *et al.* (2016) encontraram que fêmeas adultas de *E. connexa* alimentadas com solução de mel a 20% exibiram 100% de sobrevivência até 25 dias e iniciaram oviposição ao serem alimentadas diariamente com ovos de *E. kuehniella*. Outra condição que pode afetar o desempenho do inimigo natural em campo é a exposição aos inseticidas aplicados no manejo das pragas (Torres & Bueno 2018), e para diminuir esse efeito sobre o inimigo natural é necessário fazer uso de inseticidas seletivos.

A seletividade obtida através da resistência a inseticidas por inimigos naturais pode auxiliar na utilização combinada do controle químico e biológico (Johnson & Tabashnik 1999, Bielza 2016, Barbosa *et al.* 2016, Mansoor *et al.* 2019, Lira *et al.* 2023). Contudo, a resistência usualmente resulta em custo adaptativo devido à expressão de genes que conferem aumento na produção de enzimas detoxificativas (Kliot & Ghanim 2012, Ferreira *et al.* 2012, Rodrigues *et al.* 2014, Rodrigues *et al.* 2020). Aparentemente, o efeito não letal pode ser uma característica benéfica, porém, mesmo que a substância não ocasione toxicidade aguda, outros efeitos adversos podem

surgir. Por exemplo, redução da capacidade de predação ou parasitismo, capacidade de voo, longevidade e fecundidade podem influenciar os resultados do manejo de pragas (Desneux *et al.* 2006). Portanto, o custo adaptativo em insetos pode atuar de forma negativa ou positiva no manejo de pragas. Nas pragas, o custo adaptativo pode ser benéfico no manejo, pois pode promover a redução no tempo de desenvolvimento, mas com maior mortalidade de larvas, como na população da traça, *Tecia solanivora* (Povolny), a qual apresenta resistência aos inseticidas clorpirifos e carbofurano (Gutiérrez *et al.* 2019). Essa resistência prejudica o pico de postura da população, que também é afetado pelo atraso e a taxa de crescimento populacional se mostra inferior à população suscetível (Gutiérrez *et al.* 2019). No caso de inimigos naturais, o efeito do custo adaptativo no crescimento populacional afetaria o desempenho no controle de pragas. Por exemplo, a resistência ao inseticida carbaril apresentada pelo parasitoide *Aphytis melinus* (DeBach) resultou em diminuição da população devido a falhas reprodutivas (Spollen & Hoy 1992).

No caso da população de joaninha *E. connexa* resistente a piretroides utilizada neste estudo, os indivíduos apresentam resistência do tipo metabólica, sendo mediada pela maior produção de esterases comparado aos indivíduos suscetíveis (Rodrigues *et al.* 2014, Rodrigues *et al.* 2020). Nessa população, a razão de resistência a λ -cialotrina é superior a 260 vezes, o que tem resultado em sobrevivência na máxima dosagem de bula deste inseticida e outros piretroides (Torres *et al.* 2015).

A fim de verificar tais custos adaptativos na joaninha resistente a piretroides, Santos *et al.* (2016) observaram que fêmeas resistentes à λ -cialotrina produziram 50% menos ovos que fêmeas suscetíveis, pois a sobrevivência da população resistente era menor. Ainda, Lira *et al.* (2016) relataram que as fêmeas descendentes do cruzamento R×S foram significativamente mais férteis que as fêmeas R e S, mostrando um efeito do vigor híbrido entre as populações resistente e

suscetível. Na tentativa de aumentar a variabilidade da população resistente, Nascimento *et al.* (2023) realizaram o cruzamento entre indivíduos suscetíveis (S) e resistentes (R) em acasalamento livre, e confirmou que fêmeas da joaninha resistente apresentaram menor longevidade que fêmeas S, mas que fêmeas da descendência do cruzamento R×S apresentaram sobrevivência similar a fêmeas S e fecundidade superiores aos parentais S e R. Contudo, a re-seleção das populações R×S novamente afetou a fecundidade, embora as fêmeas tenham mantido sobrevivência similar aos parentais suscetíveis. Dessa forma, é fundamental para o CBA encontrar um inimigo natural que se adequa as condições de laboratório para uma criação em larga escala e que não tenha as suas características biológicas e comportamentais afetadas de modo a prejudicar o seu desempenho após liberação. O conhecimento gerado neste sentido é essencial para ofertar inimigos naturais compatíveis com o MIP atual, o qual é grandemente dependente das aplicações de inseticidas sintéticos.

Cada vez mais, agentes de controle biológico são adicionados para comercialização. Segundo a CropLife Brasil, uma associação que conta com uma parceria de 55 empresas envolvidas na produção e comercialização do setor de controle biológico no Brasil, estão registrados cerca de 616 produtos para uso em 2023, com maior porcentagem para os microrganismos (65%) seguido pelos macros (15%) e por fim, em menor quantidade, os semioquímicos (7%) e bioquímicos (13%). Nos últimos dois anos foram registrados 100 produtos e esse número aumenta a cada ano (CropLife Brasil 2023). Então, à medida que o mercado de CBA expande, surge a necessidade de controle de qualidade dos agentes fornecidos para evitar problemas com a eficiência do agente de controle biológico antes e após a liberação, em campo. Desse modo, a Associação Internacional de Fabricantes de Biocontrole (IBMA) e a Associação de Produtores de Biocontrole Natural (ANBP) estabeleceram algumas diretrizes de controle de

qualidade consideradas relativamente fáceis de determinar em laboratório, como percentagem de emergência, longevidade, proporção sexual, fecundidade, tamanho do adulto, taxa de predação/parasitismo, capacidade de voo e desempenho em campo (van Lenteren *et al.* 2010). Estes parâmetros de avaliação de qualidade permitem que empresas do setor mantenham o acompanhamento da qualidade dos materiais ofertados ao setor produtivo, bem como ofertar garantias aos usuários do CBA.

Como exemplo de diretrizes aplicadas, tem-se a comercialização dos ovos de *E. kuehniella* para a alimentação de inimigos naturais predadores ou como hospedeiro para a criação de parasitoides. Assim, os primeiros passos são avaliar a qualidade da dieta oferecida aos adultos, observando qualidade, armazenamento, moagem e mistura da dieta. Outro passo é a verificação da fecundidade e fertilidade dos adultos de *E. kuehniella*, bem como peso de larvas e pupas. Ainda, medir a eficiência de esterilização dos ovos (pois estes são vendidos inviabilizados). Como penúltimo passo, ter um rigoroso controle de temperatura, umidade e ventilação. E, por último verificar a presença de escamas e se estas oferecem riscos à saúde humana ou contaminam os insetos que receberão a dieta/hospedeiro (van Lenteren & Tommasini 1999).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar comparativamente o desempenho de duas populações de *E. connexa*. Uma população considerada padrão sendo recentemente coletada em campo é suscetível ao inseticida λ -cialotrina e, a segunda população teste, sendo representada pela população resistente à λ -cialotrina, criada há mais de 100 gerações em laboratório. Assim, foi testada a hipótese de que a joaninha *E. connexa* resistente a piretroides mantida a mais de 100 gerações em laboratório, em ambiente controlado e alimentada com presa alternativa, mantém as características biológicas e comportamentais de predação similares a uma população suscetível ainda não adaptada as condições de laboratório. O desenvolvimento deste

trabalho é crucial para verificação do comportamento do predador quando liberado em campo. Além disso, a resistência que a população de *E. connexa* de laboratório possui é mais um fator desfavorável que pode reduzir o seu desempenho ao longo das sucessivas gerações e precisa ser monitorada.

Literatura citada

- Afifi, A.I., D.A.E. Arnaouty, A.R. Attia & A.El-M. Abd Alla. 2010.** Biological control of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso) using coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. Pakistan J. Biol. Sci. 13: 216-222.
- Barratt, B.I.P., V.C. Moran, F. Bigler & J.C. van Lenteren. 2018.** The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. BioControl 63:155-167.
- Barbosa, L.R., B.M.C. Castro, E.P. Soliman, C.F. Wilcken, E.T. Iede & J.C. Zanuncio. 2021.** Controle biológico no MIP florestal, p. 147-163. In: P.G. Lemes & J.C. Zanuncio (eds.), Novo manual de pragas florestais brasileiras. Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, 996p.
- Barbosa, P. R.R., J.P. Michaud, A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2016.** Dual resistance to lambda-cyhalothrin and dicofol in *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). Chemosphere 159: 1-9.
- Bastos, C.S. & J.B. Torres. 2003.** Controle biológico como opção no manejo de pragas do algodoeiro. Embrapa Algodão, 29p. (Circular Técnica 72).
- Bielza, P. 2016.** Insecticide resistance in natural enemies, p. 313-329. In A. Horowitz & I. Ishaaya (eds), Advances in insect control and resistance management. Springer, Cham, 350p.
- Birkhofer, K., E. Gavish-Regev, K. Endlweber, Y.D. Lubin, K. Von Berg, D.H. Wise & S. Scheu. 2008.** Cursorial spiders retard initial aphid population growth at low densities in winter wheat. Bull. Entomol. Res. 98: 249-255.
- Cohen, A.C. 2003.** Insect diets: science and technology, 1st ed. Boca Raton, CRC Press. 344p.
- CropLife Brasil. 2023.** Produtos biológicos registrados. Disponível em <https://croplifebrasil.org/publicacoes/produtos-biologicos-registrados/>. Acesso em 23/12/2023.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2006.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.

- Di, N., K. Zhang, Q. Xu, F. Zhang, J.D. Harwood, S. Wang & N. Desneux. 2021.** Predatory ability of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae) for suppression of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects* 12: 1063.
- Evans, E.W. 2009.** Lady beetles as predators of insects other than Hemiptera. *Biol. Control* 51: 255-267.
- Ferreira, E.S., A.R.S. Rodrigues, C.S.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2012.** Life-history costs associated with resistance to lambda-cyhalothrin in the predatory ladybird beetle *Eriopis connexa*. *Agric. For. Entomol.* 15: 168-177.
- Gantyada, K. & S. Sarkar. 2021.** Management of whiteflies (*Bemisia tabaci*) in tomato by using different control methods Kishore Gantyada, Shimpy Sarkar. *Int. J. Entomol. Res.* 6: 120-125.
- Gutiérrez, Y., T. Bacca, L.S. Zambrano, M. Pineda & R.N. Guedes. 2019.** Trade-off and adaptive cost in a multiple-resistant strain of the invasive potato tuber moth *Tecia solanivora*. *Pest Manag. Sci.* 75: 1655-1662.
- Hoekstra, R.F. 2003.** Adaptive recovery after fitness reduction: the role of population size, p. 89-92. In J.C. van Lenteren (ed.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford, CABI Publishing, 352p.
- Hoffmann, A. A. & P.A. Ross. 2018.** Rates and patterns of laboratory adaptation in (mostly) insects. *J. Econ. Entomol.* 111: 501-509.
- Hulle, M., A. Coeur d'Acier, S. Bankhead-Dronnet & R. Harrington. 2010.** Aphids in the face of global changes. *C. R. Biol.* 333: 497-503.
- Iftikhar, A., M.A. Aziz, M. Naeem, M. Ahmad & T. Mukhtar. 2018.** Effect of temperature on demography and predation rate of *Menochilus sexmaculatus* (Coleoptera: Coccinellidae) Reared on *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Pakistan J. Zool.* 50: 1885-1893.
- Johnson, M.W. & B.E. Tabashnik. 1999.** Enhanced biological control through pesticide selectivity, p. 297-317. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), *Handbook of biological control*. San Diego: Academic Press, 1046p.
- Kariluoto, K.T., E. Junnikkala & M. Markkula. 1976.** Attempts at rearing *Adalia bipunctata* L. (Col. Coccinellidae) on different artificial diets. *Ann. Entomol. Fenn.* 42: 91-97.
- Kariluoto, K.T. 1980.** Survival and fecundity of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) and some other predatory insect species on an artificial diet and a natural prey. *Ann. Entomol. Fenn.* 46:101-106.

- Kairo, M.T.K., O. Paraiso, R. Gautam & D.D. Peterkin. 2013.** *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coccinellidae: Scymninae): a review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. CAB Reviews. 8, 20p.
- Kliot, A. & M. Ghanim. 2012.** Fitness costs associated with insecticide resistance. Pest Manag. Sci. 68: 1431-1437.
- Kuznetsov V.N. 1997.** Lady beetles of the Russian Far East centre for systematic entomology. Memoir No. 1. The Sandhill crane press. Ino. 248.
- Leppla, N.C. & D.W. Williams. 1992.** Mass rearing beneficial insects and the renaissance of biological control. Pesq. Agropec. Bras. 27: 231-238.
- Lira, R., A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2016.** Fitness Advantage in heterozygous ladybird beetle *Eriopis connexa* (Germar) resistant to lambda-cyhalothrin. Neotrop. Entomol. 45: 573-579.
- Lira, R., D.V. Nascimento, P.R.R. Barbosa, A.M. Simmons & J.B. Torres. 2023.** Predation performance and survival of susceptible and pyrethroid-resistant *Eriopis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae) to insecticides used in brassica crops. Pest Manag. Sci. 79: 2704-2712.
- Mansoor, M.M. & S.A. Shad. 2019.** Resistance, its stability and reversion rate of resistance to imidacloprid, indoxacarb and chlorfenapyr in a field population of green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). Arch. Phytopathol. Pl. Prot. 52: 884–894.
- Matos, S.T.S. 2020.** Potencial de *Eriopis connexa* e *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) no controle de ácaros tetraniquídeos e do pulgão-verde-do-pessegueiro. Tese de doutorado. UNESP, São Paulo, 115p.
- Michaud, J. P. 2012.** Coccinellids in biological control, p. 488-519. In Hodek, I., A. Honek & H.F. Van Emden (ed.), Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae). Oxford, John Wiley & Sons, 556p.
- Nascimento, D.V., R. Lira & J.B. Torres. 2023.** Heterosis and reselection for pyrethroid resistance trait maintenance in the lady beetle *Eriopis connexa* (Germar). Ann. Appl. Biol. 183: 148-158.
- Nunney, L. 2003.** Managing captive populations for release: a population-genetic perspective, p. 73-87. In J.C. van Lenteren (ed.), Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford, CABI Publishing, 340p.
- Özgen, İ., M. Mamay & E. Yanık. 2022.** Release of the lady beetle (*Oenopia conglobata* L.) to control the common pistachio psylla. Biol. Control 171: 104-940.

- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento. 2002.** Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo, Manole Editora, 609p.
- Parra, J.R.P. 2014.** Biological control in Brazil: an overview. *Sci. Agric.* 71: 420-429.
- Pekkala, N., K.E. Knott, J.S. Kotiaho, K. Nissinen & M. Puurtinen. 2014.** The effect of inbreeding rate on fitness, inbreeding depression and heterosis over a range of inbreeding coefficients. *Evol. Appl.* 7: 1107-1119.
- Prezotti, L. & J.R.P. Parra. 2002.** Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores, p. 295-311. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento(ed.), Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo, Manole Editora, 609p.
- Rodrigues, A.R.S.; H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2014.** Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 110: 36-43.
- Rodrigues, A.S., R.N.C. Guedes, H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2020.** Stability of the resistance to lambda cyhalothrin in the ladybird beetle *Eriopsis connexa*. *Entomol. Exp. Appl.* 168: 644-652.
- Rondoni, G., I. Borges, J. Collatz, E. Conti, A.C. Costamagna, F. Dumont, E.W. Evans, A.A. Grez, A.G. Howe, E. Lucas, J.É. Maisonhaute, A.O. Soares, T. Zaviezo & M.J.W. Cock. 2021.** Exotic ladybirds for biological control of herbivorous insects – a review. *Entomol. Exp. Appl.* 169: 6-27.
- Riddick, E.W. 2009.** Benefits and limitations of factitious prey and artificial diets on life parameters of predatory beetles, bugs, and lacewings: a mini-review. *BioControl* 54: 325-339.
- Saleem M., D. Hussain, H. Anwar, M. Saleem, G. Ghouse & M. Abbas. 2014.** Predation Efficacy of *Menochilus sexmaculatus* Fabricus (Coleoptera: Coccinellidae) against *Macrosiphum rosae* under laboratory conditions. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2: 160-163.
- Santos, E.A., P.M.G. Costa, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2016.** Use of prey and non-prey food by the ladybird beetle *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory-rearing conditions. *Biocontrol Sci. Technol.* 26: 1184-1196.
- Santos, D.S., A.R.S. Rodrigues, J.B. Torres & R. Lira. 2016.** Performance of *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) resistant to lambda-cyhalothrin after extended recovery from knockdown. *Neotrop. Entomol.* 45: 718-724.
- Spollen, K.M. & M.A. Hoy. 1992.** Genetic improvement of an arthropod natural enemy: relative fitness of a carbaryl-resistant strain of the California red scale parasite *Aphytis melinus* DeBach. *Biol. Control* 2: 87-94.

- Sun, Y.X., Y.N. Hao, E.W. Riddick & T.X. Liu. 2017.** Factitious prey and artificial diets for predatory lady beetles: current situation, obstacles, and approaches for improvement: a review. *Biocontrol Sci. Technol.* 27: 601-619.
- Torres, J.B., C.S.A. Silva-Torres & J.R. Ruberson. 2004.** Effect of two prey types on life-history characteristics and predation rate of *Geocoris floridanus* (Heteroptera: Geocoridae). *Environ. Entomol.* 33: 964-974.
- Torres, J.B., A.R.S. Rodrigues, E.M. Barros & D.S. Santos. 2015.** Lambda-cyhalothrin resistance in the ladybeetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) confers tolerance to other pyrethroids. *J. Econ. Entomol.* 108: 60-68.
- Torres, J.B. & A.D.F. Bueno. 2018.** Conservation biological control using selective insecticides—a valuable tool for IPM. *Biol. Control* 126: 53-64.
- Thomson, L., S. Macfadyen & A. Hoffmann. 2010.** Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. *Biol. Control.* 52: 296-306
- van Lenteren, J.C. & M.G Tommasini. 1999.** Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies, p. 276-294. In R. Albajes, M. Lodovica Gullino, J.C. van Lenteren & Y. Elad (eds.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Kluwer Academic Publishers, 545p.
- van Lenteren, J.C. 2003a.** Need for quality control of mass produced biological control agents, p. 1-18. In J.C. van Lenteren (ed.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford, CABI Publishing, 340p.
- van Lenteren, J.C. 2003b.** Quality control of natural enemies: where are we and where do we go? *IOBC WPRS Bull.* 26: 171-176.
- van Lenteren, J.C. 2012.** The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57: 1-20.
- Van Lenteren, J.C., A. Hale, J.N. Klapwijk, J. van Schelt & S. Steinberg. 2010.** Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies, p. 265-303. In J.C. van Lenteren (ed.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford, CABI Publishing, 340p.
- van Lenteren, J.C., K. Bolckmans, J. Köhl, W.J. Ravensberg & A. Urbaneja. 2018.** Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl.* 63:39-59.
- van Lenteren, J.C., V.H.P. Bueno & J. Klapwijk. 2021.** Augmentative biological control, p. 90-109. In P.G. Mason (ed.), *Biological control: global impacts, challenges and future directions of pest management*. CSIRO Publishing, 644p.

CAPÍTULO 2

DESEMPENHO DA JOANINHA PREDADORA RESISTENTE A PIRETRÓIDES, *Eriopis connexa* (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS 137 GERAÇÕES DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO¹

LEANDRA O. COSTA²

²Departamento de Agronomia - Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

¹Costa, L.O. Desempenho da joaninha predadora resistente a piretroides, *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) após 137 gerações de criação em laboratório. A ser submetido.

RESUMO - O controle biológico aumentativo requer criação em larga escala de inimigos naturais. As sucessivas gerações sob condições constantes e presa alternativa podem comprometer a qualidade do inimigo natural, especialmente com indivíduos resistentes a inseticidas devido ao custo adaptativo à resistência. No caso da joaninha predadora, *Eriopis connexa* (Germar) utilizada neste estudo, esta população EcViR exibe resistência metabólica à λ -cialotrina. Foram comparadas características biológicas e comportamentais da população EcViR com uma população suscetível recém coletada (EcCV). Quando fêmeas de ambas as populações foram submetidas a escassez de presa, a fecundidade foi maior para EcViR durante os 35 dias de observação, com sobrevivência semelhante entre populações. A predação de *Lipaphis pseudobrassicae* Davis, na presença e ausência de λ -cialotrina resultou em resposta funcional de tipo II para ambas as populações e maior consumo de pulgões por EcViR, na ausência ou presença de resíduos de λ -cialotrina. A criação de larvas e adultos em três temperaturas constantes (18, 25 e 32 °C) resultou em similar tempo de desenvolvimento entre as populações, com adultos de EcCV maiores e que produziam mais ovos a 25 ou 32 °C. Os resultados indicam que a capacidade reprodutiva sujeita a escassez de presas, a taxa de predação e o tempo de desenvolvimento a 18, 25 e 32 °C não foram afetados em EcViR comparados à EcCV. No entanto, a produção de ovos a 25 e 32 °C foi menor para as fêmeas EcCV que EcViR. A criação contínua de EcViR indicou apenas o efeito esperado pelo custo adaptativo, previamente definido devido à resistência nesta população, o que se tornou mais evidente a temperaturas mais elevadas.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, qualidade do inimigo natural, resistência a inseticidas, criação massal.

PERFORMANCE OF THE LADY BEETLE, *Eriopis connexa* (GERMAR) (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE), RESISTANT TO PYRETHROIDS AFTER 137 GENERATIONS OF
REARING IN THE LABORATORY

ABSTRACT –Augmentative biological control requires the mass rearing of natural enemies. It is hypothesized that successive generation under constant physical conditions and alternative prey compromise the quality of the natural enemy, especially with insecticide-resistant populations, due to the adaptive costs of insecticide resistance. In the case of lady beetle, *Eriopis connexa* (Germar) used in this study, exhibits metabolic resistance to the pyrethroid λ -cyhalothrin. The biological and behavioral traits of the EcViR population were compared to those of a field-collected and susceptible population (EcCV). When females from both populations were subjected to food shortages, higher fecundity was found for EcViR females during 35 days of observations, with similar survival between populations. Predation of *Lipaphis pseudobrassicae* Davis in the presence or absence of λ -cyhalothrin resulted in a type II functional response for both populations and greater aphid consumption by EcViR beetles either in the absence or presence of λ -cyhalothrin residues. Rearing larvae and adults at three constant temperatures (18, 25, and 32 °C) resulted in similar developmental time between populations, but adult EcCV beetles were larger and produced more eggs at 25 and 32 °C. The results indicate that reproductive output subjected to food shortage, predation rate, and the developmental time at 18, 25, and 32°C were not affected in EcViR compared to EcCV. Nevertheless, egg production at 25 and 32 °C was lower for EcViR females compared to EcCV. Therefore, only an effect on fecundity was observed, as predicted previously, due to the adaptive cost of resistance in this population, which became more evident at higher temperatures.

KEY WORDS: Biological control, natural enemy quality control, insecticide resistance, mass rearing.

Introdução

O sucesso que o controle biológico tem obtido nos últimos anos tem impulsionado o uso de agentes de controle biológico de forma aumentativa para o manejo de populações de pragas agrícolas. O controle biológico de pragas pode ser obtido pela conservação dos inimigos naturais já presentes nos agroecossistemas e, também, através do controle biológico aumentativo (CBA) (Bastos & Torres 2003). Contudo, para adoção do CBA é necessário a disponibilidade de inimigos naturais para a liberação. Isto implica na necessidade de criação das espécies desejadas com qualidade por laboratórios conhecidos como biofábricas, além de sempre manter um processo contínuo para disponibilidade do produto. A criação de inimigos naturais, apesar de executada por muito tempo, ainda tem como desafio atender à crescente demanda do setor produtivo pelo CBA (Leppla & Williams 1992). A busca pela produção de grandes quantidades de inimigos naturais enfrenta desafios como espaço físico, mão de obra, custos operacionais, dieta, e manutenção da qualidade do inimigo natural produzido (Glenister & Hoffmann 1998, van Lenteren *et al.* 2010).

Mesmo com sucesso na criação de grandes quantidades de indivíduos é necessário que os inimigos naturais liberados ofereçam o mesmo desempenho que aqueles de campo. Esta qualidade inclui atender parâmetros biológicos da espécie quando criada em biofábricas, bem como ser eficiente após a liberação sob as condições variáveis de campo, diferentes daquelas empregadas na criação. Com o aumento do número de empresas especializadas na criação e comercialização de inimigos naturais, foi também necessário gerar um entendimento para disponibilizar um produto de qualidade. A qualidade de um produto é um critério básico para qualquer produto comercial, e particularmente relevante para organismos vivos, pois estes podem ser influenciados por variáveis ambientais e pelo trajeto do trajeto da biofábrica até o campo. Além de parâmetros biológicos, a eficiência do agente de controle em campo é essencial para que os esforços feitos na divulgação

do uso do controle biológico não sejam perdidos devido a um inimigo natural de baixa qualidade (van Lenteren 2003, Barbosa *et al.* 2021).

A criação de inimigos naturais como vem sendo feita com a joaninha predadora resistente a piretroides, *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) por mais de 100 gerações, é realizada em ambiente controlado, com temperatura e fotoperíodo estáveis e abundante disponibilidade da presa alternativa. Entretanto, podem surgir alguns obstáculos que degradam o inimigo natural após as liberações em campo. Isto porque, contínuas gerações de criação em laboratório podem favorecer a domesticação dos indivíduos ao ambiente controlado (van Lenteren 2003). Desse modo, a temperatura do ambiente de liberação pode comprometer características biológicas dos indivíduos como sobrevivência e desempenho em campo (Cornelissen 2011). Por exemplo, o parasitóide *Trichogramma nubilale* (Ertle & Davis) que apresentou elevada mortalidade no momento da liberação devido a eventualidades climáticas inapropriadas (Andow *et al.* 1995).

Além de possíveis efeitos negativos que ocorrem após a liberação dos agentes de controle em campo, na criação em laboratório existem condições que comprometem a manutenção da qualidade dos insetos. Uma das principais é a consaguinidade na população, em virtude do cruzamento constante entre parentes (Pekkala *et al.* 2014), apesar de não ser claramente demonstrada ou não ocorrer mesmo por longas gerações de criação (de Clercq *et al.* 1998). Contudo, sem a possibilidade de escolha de parceiros com material genético diferente, a população torna-se homozigota podendo favorecer a expressão de genes deletérios (Hoekstra 2003, Nunney 2003, van Lenteren 2003, Pekkala *et al.* 2014), ou a fixação de uma característica na população como vem ocorrendo com as sucessivas gerações de pressão de seleção para resistência na população EcViR de *E. connexa* (Rodrigues *et al.* 2020).

A expressão de genes que conferem a maior produção de enzimas de detoxificação e, consequentemente, conferem resistência implica em custo adaptativo na população de *E. connexa* (EcViR) utilizada neste estudo. (Rodrigues *et al.* 2014, Rodrigues *et al.* 2020). Geralmente, a detoxificação é acompanhada de um “*trade-off*”, havendo a redução da fecundidade para garantir a sobrevivência (Gazave *et al.* 2001, Desneux *et al.* 2006), também observado com a *E. connexa* (Ferreira *et al.* 2012, Lira *et al.* 2016). A maior produção de enzimas detoxificativas resulta em menor fecundidade nesta espécie de entorno de 50% em comparação aos indivíduos suscetíveis (Santos *et al.* 2016).

Visando maior qualidade de controle desses agentes, a Associação Internacional de Fabricantes de Biocontrole (IBMA) e a Associação de Produtores de Biocontrole Natural (ANBP) estabeleceram diretrizes de qualidade como: taxa de predação/parasitismo, tamanho do adulto, longevidade, sobrevivência, fertilidade, fecundidade, emergência, proporção sexual, capacidade de voo e desempenho em campo (van Lenteren *et al.* 2010). Essas diretrizes facilitam o monitoramento dos indivíduos, isto porque o inimigo natural pode ser afetado por diversas variáveis que reduzem sua qualidade. Como exemplo tem-se a população de joaninhas *E. connexa* objeto deste estudo que apresenta sucessivas gerações de criação em laboratório e resistência a inseticidas como agravantes. Contudo, esta população resistente a piretroides possui vantagem relativa aos demais inimigos naturais, ou mesmo, populações desta espécie suscetíveis a piretroides, pois sobreviverá as aplicações desses inseticidas. Portanto, avaliar características que podem afetar o seu desempenho torna-se importante.

Assim, neste trabalho testou-se a hipótese de que a joaninha *E. connexa* com este tipo de resistência, mantida a mais de 100 gerações em laboratório, em ambiente controlado e alimentada com presa alternativa, mantém as características biológicas e comportamentais de predação

similares a uma população suscetível ainda não adaptada as condições de laboratório. Isto considerando que sobreviver, reproduzir e consumir a presa estão entre os fatores essenciais para o uso desta população no CBA. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar comparativamente duas populações da joaninha *E. connexa*, uma população resistente à λ -cialotrina e outra recém-coletada de campo e suscetível a este inseticida, testando desempenho biológico e sobrevivência em estresse de temperatura e escassez de presa. Além de verificar a resposta funcional em diferentes densidades de uma presa alvo, o pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* Davis (Hemiptera: Aphididae), na presença do inseticida.

Material e Métodos

A criação dos insetos e os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Pernambuco, Brasil. Sob fotoperíodo de 12:12h Luz: Escuro (L:E), $60 \pm 12\%$ de umidade relativa (UR) e temperatura de 25 ± 1 °C, exceto o experimento empregando diferentes temperaturas que foi realizado em câmara climática tipo BOD.

Criação de *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). Duas populações da joaninha foram usadas no estudo, uma população resistente à λ -cialotrina e criada em laboratório e outra população recentemente coletada em campo e suscetível à λ -cialotrina. A população resistente alvo do estudo, foi coletada em cultivo de repolho no município de Viçosa, MG, em 2013, por Jorge Braz Torres (UFRPE), apresentando uma razão de resistência de até 37 vezes (Rodrigues *et al.* 2013). Esta população, denominada de EcViR. Durante o estudo, a população encontrava na geração 134, sendo mantida sob pressão de seleção, aplicando λ -cialotrina a 5 mg de i.a./L, a cada duas gerações. A população suscetível de campo foi coletada em 2023 no

município de Campo Verde, MT (15.24261 °S e 54.40168 °O) em cultivo de algodão por Jorge Braz Torres (UFRPE), esta população de campo foi denominada de EcCV. Os adultos oriundos da primeira geração desta população em laboratório foram submetidos a um bioensaio de toxicidade à λ -cicalotrina empregando concentração discriminatória CL₉₀ de 0,75 mg i.a./L, caracterizando-a como suscetível.

As duas populações foram criadas de acordo com a metodologia descrita em Rodrigues *et al.* (2013). Os indivíduos adultos foram criados em gaiolas de acrílico transparente, nas dimensões de 50 × 40 × 50 cm (C × L × A), possuindo aberturas circulares laterais fechadas com tecido *voil* para permitir as trocas gasosas. No fundo das gaiolas foi adicionado papel toalha amassados para fornecer abrigo, local de acasalamento e substrato para oviposição. As posturas foram coletadas a cada dois dias e separadas em recipientes plásticos de 80mL (J. Prolab®, São José dos Pinhais, PR) até a eclosão das larvas. As larvas foram criadas na densidade de duas larvas por recipiente até formar pupas. Larvas e adultos foram alimentados com ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). No entanto, para os adultos foi oferecida uma dieta complementar composta de mel e levedura-de-cerveja, na proporção de 1:1. Também foi ofertado pulgões quando havia disponibilidade.

Coleta de Pulgões para os Estudos de Predação. A presa modelo utilizada para os estudos de predação foi o pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae). A obtenção dos pulgões foi feita em cultivo de couve-comum na área experimental da Fitossanidade do Departamento de Agronomia, da UFRPE.

Sobrevivência de Adultos de *Eriopis connexa*, em Condições de Escassez de Presa (Experimento #1). A escassez de presa é uma condição que pode ocorrer em campo com os insetos predadores por várias razões desde a flutuação populacional da presa à sua redução populacional

após aplicação de controle químico. É esperado que indivíduos resistentes sobrevivam após aplicação inseticida, podendo se encontrar em situação de escassez de presa. Adultos machos e fêmeas das populações EcViR (131^a geração) e EcCV (2^a geração), com mesma data de emergência foram obtidos para a condução do experimento, que durou 35 dias, correspondendo mais de 50% da longevidade média para a espécie (Lira *et al.* 2016, Santos *et al.* 2016). Os adultos foram criados individualmente e no quarto dia de idade machos e fêmeas foram pareados para copularem por 24h, pois uma cópula é suficiente para manter alta fertilidade da fêmea por um período de 15 dias (Colares *et al.* 2015). No quinto dia de vida adulta e após 24h de período de permissão de cópula, as fêmeas foram individualizadas em recipientes de 80 mL contendo pedaço de papel toalha como substrato para oviposição e designada para os respectivos tratamentos. As fêmeas, com cinco dias de idade e copuladas foram criadas empregando duas condições: i) fêmeas sem escassez de presa, consistindo da oferta de ovos de *E. kuehniella*, em abundância e; ii) fêmeas com escassez de presa, para as quais foi disponibilizado apenas uma solução de mel e água a 20% e pólen misto de abelha (Breyer®, União da Vitória, PR) durante 15 dias (i.e., 5 a 20 dias de idade da fêmea). Os machos foram mantidos separadamente nas mesmas condições de suas respectivas fêmeas para posteriormente serem reutilizados no próximo pareamento. Após 15 dias (i.e., indivíduos com 20 dias de idade), machos e fêmeas foram pareados novamente. Para as fêmeas em condição de escassez de presa foram oferecidos ovos de *E. kuehniella* em abundância por mais 15 dias (i.e., 20 a 35 dias de idade dessas fêmeas).

O experimento foi conduzido em delineamento fatorial consistindo das duas populações de *E. connexa* (EcViR e EcCV) e duas condições de disponibilidade de alimento (com e sem escassez de presa), resultando em quatro tratamentos. Cada tratamento foi conduzido com no mínimo 15 casais. Diariamente foi registrada a mortalidade de fêmeas, coleta de posturas para determinação

da fecundidade e viabilidade de ovos. As avaliações foram realizadas duas vezes ao dia, pela manhã e pela tarde para evitar canibalismo dos ovos. Essas avaliações foram registradas até a morte da fêmea ou até completar os 35 dias de avaliação. Quando a postura era realizada na parede do recipiente, a fêmea foi transferida para outro recipiente limpo e postura mantida para avaliação.

Predação do Pulgão das Brássicas por *Eriopis connexa* (Experimento #2). Este experimento foi conduzido para avaliar a taxa de predação da população de joaninha resistente à λ -cialotrina e criada por mais de 100 gerações, em laboratório, em comparação a uma população de joaninha recém-coletada de campo e suscetível. O experimento foi conduzido empregando a metodologia de resposta funcional (Juliano 1993) e conduzido sob duas condições, na ausência e presença de resíduo do inseticida λ -cialotrina. Para esse estudo, foram empregadas seis densidades do pulgão *L. pseudobrassicae* (i.e., 5, 10, 25, 50, 100 e 200 pulgões) com 24 horas de avaliação.

O experimento na ausência do resíduo inseticida (Exp. #2.1) foi realizado empregando discos de folhas de couve (sem tratamento com inseticida) dispostas em placas de Petri de vidro de 9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura forradas com papel filtro. Os pulgões foram obtidos de folhas de couve coletadas da área experimental (sem aplicação de inseticida) e levadas para laboratório, as quais foram dispostas em recipientes fechados contendo orifício recoberto com tecido *voil* e deixados por 24 horas para que os pulgões iniciassem o abandono da folha espontaneamente, evitando assim danos ao seu aparelho bucal no momento da transferência para as placas (Lira *et al.* 2016). Ninfas de tamanho aproximadamente similar foram transferidas para os discos de folhas nas diferentes densidades estudadas. Após a transferência das ninfas, uma fêmea da joaninha (com cinco a 10 dias de idade) de cada população [EcViR (133ª geração) ou EcCV (4ª geração)] foi liberada em cada placa, separadamente. Essas fêmeas foram mantidas sem alimento por 24 horas para nivelar o nível de saciedade. Como controles foram estabelecidas placas contendo 30 pulgões

para quantificar a mortalidade natural e realizar a correção para a quantidade de pulgões consumidos para cada fêmea da joaninha individualmente. As placas contendo pulgões e joaninhas foram transferidas para câmara tipo BOD regulada a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12:12h (L:E). Para manter a regularidade do fotoperíodo, as fêmeas foram mantidas no escuro nas 12 horas que precederam a liberação. Após a liberação, as fêmeas foram mantidas em 12 horas de luz, com posterior 12 horas de escuro, quando foi o momento da avaliação. Após este período, foi contabilizado o número de pulgões vivos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições para cada densidade da presa.

O experimento consistindo de presença do resíduo inseticida na folha (Exp. #2.2) foi realizado de forma similar ao anterior empregando discos de folhas contendo inseticida. Para tanto, foram utilizadas placas de Petri de plástico nas mesmas dimensões para que tivesse uma abertura na tampa de ≈ 3 cm de diâmetro fechadas com tecido organza para evitar que a transpiração da folha contendo resíduo condensasse na tampa provocando a mortalidade dos pulgões e joaninhas. Neste bioensaio, discos de folha de couve foram submersas em calda inseticida na dosagem recomendada para brássicas (KarateZeon® 50 CSa 30mL/100L de água) + espalhante adesivo WillFix® (0,01%).

Os discos de folhas foram mergulhados por 30 segundos na solução inseticida, e em seguida deixados por aproximadamente 2 horas sob bancada para evaporar o excesso de umidade. Os discos de folhas foram transferidos para as placas forradas com papel filtro. Em seguida, os pulgões foram transferidos para as folhas nas diferentes densidades, com liberação de uma joaninha de cada população [EcViR (136ª geração) ou EcCV (7ª geração)]. Foram mantidas as mesmas condições experimentais de #2.1, com adição do controle positivo composto de 10 repetições de 30 ninfas de pulgões na presença do inseticida, a fim de avaliar a mortalidade do pulgão pelo inseticida. Após 24 horas do início do experimento, o número de joaninhas vivas e o

número de pulgões predados foram determinados. Os experimentos na ausência e presença do inseticida foram realizados de acordo com a disponibilidade de pulgões (a infestação das plantas foi prejudicada devido a condições climáticas desfavoráveis para os pulgões), por este motivo foram utilizadas duas gerações diferentes para as duas populações nos estudos de predação.

Resposta de *Eriopis connexa* a Diferentes Temperaturas (Experimento #3). Larvas de *E. connexa* das duas populações EcViR (137ª geração) e EcCV (8ª geração) com dois dias de idade foram individualizadas em potes plásticos de 80 mL contendo um pedaço de papel toalha e ovos de *E. kuehniella* em abundância, como alimento. Neste estudo foram empregadas três temperaturas, sendo uma considerada ideal para o desenvolvimento (25 ± 1 °C) e duas temperaturas com diferenças de 7°C para mais (32 ± 1 °C) ou para menos (18 ± 1 °C). Os insetos foram acondicionados em câmara climática tipo BOD reguladas nas temperaturas constantes e desejadas (18°C, 25°C e 32°C) e fotoperíodo constante de 12:12h (L:E). Os insetos foram observados diariamente para anotações de mortalidade e total de dias para completar o desenvolvimento de larva até adulto.

Após a emergência e antes de alimentarem, os adultos foram pesados usando balança de precisão 0,0001 g (Bioprecisa®, Curitiba, PR) e, alimentados, em seguida por quatro dias. No quinto dia, machos e fêmeas das respectivas temperaturas e populações semelhantes foram pareados e deixados para copular durante 24 horas. Em seguida, as fêmeas foram individualizadas, colocadas em placas de Petri de plástico com orifícios circulares na tampa fechados com tecido organza, contendo pedaços de algodões umedecidos em água no interior de tampas de Eppendorf® como fonte de umidade. As posturas eram coletadas duas vezes ao dia para evitar canibalismo, quando também era anotados eventos de mortalidade. As posturas foram mantidas em placas de 2

cm de diâmetro contendo algodão umedecido e nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo. As observações foram mantidas até 30 dias ou até a morte da fêmea.

Análise Estatística. Os dados do número de ovos produzidos e viabilidade de ovos obtidos no Exp. #1 e duração para o desenvolvimento em função da temperatura, peso de adultos na emergência e número de ovos por fêmea, obtidos no Exp. #3, foram testados para normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Bartlete). Com a exceção da viabilidade de ovos do Exp. #1, que foi transformado em arcoseno da raiz ($\sqrt{x/100}$), as demais variáveis foram transformadas em raiz ($\sqrt{x+0,5}$) para atender os requisitos da análise de variância (ANOVA). Em seguida foram submetidos à ANOVA em esquema fatorial 2×2 (populações $\times$ disponibilidade de presa) ou 2×3 (populações $\times$ temperaturas) empregando o Proc GLM do SAS (SAS Institute 2002). Comparações de médias obtidas para populações foram feitas pelo resultado do teste da ANOVA (Gl = 1, Teste de Fisher) e comparações entre as três temperaturas, para a mesma população, foram feitas pelo de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$). Os dados censurados para mortalidade de fêmeas do Exp.#1 e do período de larva até adulto e de adultos do Exp. #3 foram submetidos aos estimadores Kaplan-Meier (método Log-Rank) empregando o SigmaPlot 14.0 (Systat Software, San Jose, CA, EUA).

O número de pulgões predados em 24 horas de exposição oriundos do experimento #2 foi analisado seguindo a metodologia da resposta funcional. A qual foi estimada em duas etapas: A primeira foi a determinação da forma da curva de resposta funcional através de regressão logística da proporção de pulgões consumidos por um predador (N_e/N_0) em função das densidades de pulgões ofertadas (N_0) usando o Proc CATMOD do programa SAS (SAS Institute 2002). Inicialmente, foi testado o modelo cúbico devido a capacidade de capturar todas as possíveis variações das curvas de resposta funcional (Juliano 1993). Posteriormente, foi feita a redução dos

termos da equação até a obtenção de significância destes. O sinal do termo linear da equação ajustada gerada a partir da proporção de presas mortas (N_a/N_0) pela sua densidade inicial (N_0) foi utilizado para determinar o tipo de resposta funcional. O termo linear quando não significativo indica resposta funcional Tipo I. Quando o termo é significativo e negativo indica resposta funcional Tipo II e, quando o termo linear é positivo a resposta funcional é do Tipo III (Juliano 1993). O segundo passo da análise foi realizado para determinar os parâmetros taxa de ataque (a') e tempo de manipulação (T_h) da resposta funcional, os quais permitem comparações do comportamento de predação entre as populações de joaninhas e condições experimentais referente a ausência e presença de resíduos de λ -cyalettrina. O T_h e a' foram estimados por regressão não linear, empregando o método dos quadrados mínimos de acordo com o protocolo estatístico descrito por Juliano (1993) e, interpretados através do intervalo de confiança (IC) a 95% de probabilidade. Valores que não sobrepõem o IC a 95% indicam diferença estatística entre eles (Di Stefano 2005).

Resultados

Sobrevivência de Adultos de *Eriopsis connexa*, em Condições de Escassez de Presa (Experimento #1). A condição de disponibilidade de presa em que as fêmeas de *E. connexa* foram submetidas, causou variação no número de ovos produzidos em função dos fatores população e disponibilidade de presa, mas não da interação desses fatores (Tabela 1), durante o período de avaliação (Fig. 1). Independente da disponibilidade de presa, a população EcViR produziu, em média, mais ovos que a população EcCV ($725,6 \pm 47,31$ vs. $305,9 \pm 69,86$ ovos/fêmea). Quanto ao efeito da disponibilidade de presa, fêmeas sem escassez de presa, independente da população,

produziram mais ovos que fêmeas com escassez de presa recebendo apenas alimento não presa do 5º ao 20º dia de vida ($673,3 \pm 36,81$ vs. $381,9 \pm 49,50$ ovos/fêmea).

A sobrevivência das fêmeas, de ambas as populações, foi similar independente da disponibilidade de presa ($\chi^2 = 0,009$; Gl= 3; $P = 0,92$). Ao final dos 35 dias de observações, as fêmeas submetidas à condição de escassez de presa do 5º ao 20º dia ou com alimentação abundante apresentaram 90% de sobrevivência.

Predação do Pulgão das Brássicas por *Eriopis connexa* (Experimento #2). Ambas as populações apresentaram resposta funcional tipo II, pois os coeficientes lineares apresentados são negativos, caracterizando uma desaceleração da predação com o aumento da disponibilidade de pulgão estando ou não em contato com resíduo de λ -cialotrina (Tabela 2, Fig. 2). A predação em função da densidade foi superior para a população EcViR (ProcMixed; $t_{1,115} = -2,73$; $P = 0,0072$). O potencial de predação de presa por indivíduos da população EcViR foi superior para ambas as condições, sem contato com λ -cialotrina ($58,3 \times 38,1$ pulgões consumidos) (ProcMixed; $t_{1,115} = -2,61$; $P = 0,0103$) e com exposição à λ -cialotrina ($35,7 \times 23,1$ pulgões consumidos) (ProcMixed; $t_{1,115} = -3,36$; $P = 0,0011$) (Tabela 3). Também, a população EcViR foi mais eficiente na taxa de ataque (menor tempo de busca) que a população EcCV (Tabela 4). Comparando apenas a população suscetível nos ambientes tratado e não tratado, a predação da população suscetível com e sem exposição ao resíduo do inseticida foi superior sem λ -cialotrina (ProcMixed; $t_{1,115} = -3,48$; $P = 0,0007$). Porém, na presença do inseticida as taxas de ataque foram similares para EcViR e EcCV, enquanto que fêmeas da população EcCV requereu maior tempo para atacar e consumir (tempo de manipulação) o pulgão. A diferença entre populações no tempo de manipulação manteve aproximadamente o mesmo entre as condições sem inseticidas (1,53 vezes maior para EcCV) ou com inseticidas (1,55 vezes maior para EcCV) (Tabela 3).

Resposta de *Eriopis connexa* a Diferentes Temperaturas (Experimento #3). Independente da população, a temperatura afetou a duração para completar o desenvolvimento até adulto, considerando médias de ambas as populações de 36,4; 19,0 e 14,3 dias nas temperaturas de 18, 25 e 32 °C, respectivamente. Isto resultou que a criação das larvas e pupas em diferentes temperaturas não ocasionou diferença na duração do desenvolvimento entre as populações EcViR ou EcCV e da interação população e temperatura (Tabela 5).

Contudo, o peso dos adultos produzidos medido no dia da emergência, em jejum e sem distinção de sexo foi variável em função das populações, da temperatura de criação, mas não em função da interação desses fatores (Tabela 5). Independente da temperatura, larvas da população recém-coletada (EcCV) geraram adultos mais pesados ($6,6 \pm 0,24$ mg) comparados aqueles gerados pela população EcViR ($5,5 \pm 0,20$ mg). Em relação a temperatura e independente da população, larvas criadas à 18 °C foram mais pesadas ($7,2 \pm 0,27$ mg) que aqueles adultos criados às 25 °C ($6,1 \pm 0,29$ mg) e à 32 °C ($5,5 \pm 0,25$ mg). O peso de adultos produzidos da população EcViR foi similar entre as temperaturas, e variável para adultos da população EcCV. Adultos desta população criados na temperatura à 18 °C exigiram mais tempo para completar o desenvolvimento e foram mais pesados. Também, diferença de peso de adultos entre as populações foi verificada nas temperaturas de 18 °C ($F_{1,40} = 8,32$; $P = 0,006$) e 25 °C ($F_{1,57} = 7,66$; $P = 0,007$), mas não à 32 °C ($F_{1,50} = 0,19$; $P = 0,66$) (Tabela 5). Além disso, a sobrevivência das larvas foi variável entre as populações na temperatura de 25 °C ($\chi^2 = 10,95$; $P = 0,001$), mas não apresentou diferença a 18 °C ($\chi^2 = 3,22$; $P = 0,073$) e 32 °C ($\chi^2 = 3,27$; $P = 0,070$) (Fig. 3).

Fêmeas das duas populações de *E. connexa* (EcViR e EcCV) criadas nas diferentes temperaturas tiveram a produção de ovos variável em função das populações e das três temperaturas estudadas, bem como da interação populações e temperaturas (Tabela 5). Na média

geral, independente das temperaturas estudadas, fêmeas da população recém-coletada produziram mais ovos que fêmeas resistentes (média $\pm$ EP; EcCV = $360,4 \pm 44,13$ ovos, e EcViR = $177,3 \pm 22,85$ ovos), no período de 22 dias de observações na fase adulta. Independente das populações, como esperado, a maior oviposição foi obtida com as fêmeas criadas à temperatura de 25 °C ($441,3 \pm 52,10$ ovos), seguidas pela temperatura 32 °C ($298,6 \pm 42,59$ ovos) e, menor oviposição à 18 °C ($88,4 \pm 18,13$ ovos). Assim, considerando a produção de ovos para fêmea de cada população separadamente, em função da temperatura estudada, foi observada maior produção de ovos por fêmeas EcCV que EcViR à 25 °C ($F_{1, 18} = 14,38$; $P = 0,014$) e 32 °C ($F_{1, 37} = 12,59$; $P = 0,001$) e similar entre as populações à 18 °C ($F_{1, 20} = 3,20$; $P = 0,088$) (Tabela 5). Quanto a sobrevivência das fêmeas, não houve diferença entre as populações independente da temperatura quando observado até os 22 dias de idade, 18 °C ($\chi^2 = 0,01$; $P = 0,99$), 25 °C ($\chi^2 = 0,04$; $P = 0,84$) e 32 °C ($\chi^2 = 0,08$; $P = 0,77$) (Fig. 3).

Discussão

Seriam os inimigos naturais capazes de se adaptar às condições de laboratório, após longo período de criação? Talvez sim, quando as condições de laboratório forem favoráveis ao requerimento da espécie, melhores que àquelas onde o inimigo natural se encontrava em campo. Isto pode ser corroborado por vários casos em que inimigos naturais de alto desempenho em laboratório não se estabelecem ou apresentam baixo desempenho após liberação. Como exemplos têm-se o ácaro da espécie *Amblyseius californicus* (McGregor), o parasitoide *Trichogramma nubilale* (Ertle & Davis) e a joaninha predadora *A. bipunctata* que apresentaram elevada mortalidade no momento da liberação (Pickett & Gilstrap 1986, Stiling 1993, Lester *et al.* 1999, Collier & van Steenwyk 2004, Kehrli & Wyss 2001). Isto porque em campo, as condições físicas

(ex., temperatura, umidade relativa, fotoperíodo, entre outras) são variáveis. Essas condições limitam a ocorrência das espécies de insetos, independente do seu hábito alimentar (Cornelissen 2011), bem como essas condições afetam a distribuição de recursos para os herbívoros e, consequentemente, para os inimigos naturais que dependem desses para se estabelecerem (Kalinkat & Rall 2015). Isto remete a necessidade de estudos relativo a temperatura e a disponibilidade de recursos em que os inimigos naturais liberados irão ser submetidos. A ausência de estudos, por exemplo, de ajuste climático são responsáveis por mais de 50% de insucessos na liberação de inimigos naturais visando o controle de pragas (Headrick 1994). Ainda, a disponibilidade de presas/hospedeiros de qualidade está intimamente correlacionada com a presença dos inimigos naturais nos agroecossistemas (Perez-Alvarez *et al.* 2019). Isto, entre outros fatores, exige que a qualidade de inimigos naturais em criações de laboratório seja avaliada periodicamente (van Lenteren *et al.* 2010), prevendo possíveis eventos desfavoráveis após a liberação.

A população da joaninha *E. connexa*, alvo deste estudo (EcViR), apresenta resistência a inseticidas piretroides, diferente da população suscetível de campo (EcCV). A caracterização de resistência nesta população, coletada em 2013, e seguida de sucessivas gerações de pressão de seleção vem tornando a característica de resistência fixa nesta população (Rodrigues *et al.* 2020), o que garante a sua sobrevivência em campo após aplicações da maioria dos piretroides destinados ao controle de insetos desfolhadores (Spíndola *et al.* 2013, Torres *et al.* 2015, Lira *et al.* 2019, 2023). A seleção do alelo de resistência à λ -cialotrina, um dos piretroides mais recomendados para o controle de lepidópteros desfolhadores, parece ser comum para populações de *E. connexa* (Rodrigues *et al.* 2013, Costa *et al.* 2018). O uso de populações de inimigos naturais resistentes a inseticidas favorece programas de MIP, porém sua contínua criação em laboratório mais o custo

adaptativo devido à resistência deve ser considerado quanto à qualidade como agente de controle biológico. A liberação de indivíduos EcViR e subsequente cruzamento com indivíduos suscetíveis, de campo, resulta em aumento de desempenho da descendência (Lira *et al.* 2016), e com manutenção da resistência nos descendentes de primeira geração em campo (Nascimento *et al.* 2023). A resistência nesta espécie é dominante e herdada de forma autossômica, conferindo resistência a descendência F1 do cruzamento (Rodrigues *et al.* 2020, Nascimento *et al.* 2023). Desta forma, após aplicação da maioria dos inseticidas piretroides ou inseticidas seletivos (Torres *et al.* 2015, Costa *et al.* 2020, Lira *et al.* 2023), indivíduos desta população sobrevivem em campo e poderão se encontrar em escassez de presas.

A escassez de presa pode ocorrer por flutuação natural ou após aplicação de inseticida para o controle das pragas. De acordo com Machado *et al.* (2019), a ação dos predadores das espécies *Chrysoperla externa* (Hagen), *E. connexa*, *Podisus nigrispinus* (Dallas) e *Orius insidiosus* (Say) em campo foi reduzida mesmo após a aplicação de inseticidas seletivos. Os autores observaram que a abundância de inimigos naturais reduziu na área simultaneamente a redução das pragas após aplicação. Quando submetemos as populações a uma condição simulando um período de escassez de presa em campo do 5º ao 20º dia de vida, quando teriam apenas alimento não presa no ambiente, a população resistente EcViR apresentou melhor desempenho reprodutivo e fêmeas de ambas as populações sobreviveram acima de 90% até os 35 dias de vida. Fêmeas EcViR tanto na condição de escassez como de abundância de alimento produziram mais ovos que a população EcCV, de segunda geração em laboratório. Este resultado sugere que a população EcViR está bem adaptada às condições de criação após longas gerações, comparada à população recém introduzida às condições de laboratório passando a consumir presa alternativa. O uso de alimento não presa (néctar e pólen) é utilizado com sucesso por *E. connexa* para a sua sobrevivência (Santos *et al.*

2016). Interessante que a produção média de ovos de EcViR durante as primeiras gerações por ocasião do seu estabelecimento em laboratório pode ser considerada inferior à obtida neste estudo e, em estudos recentes com esta população (Nascimento *et al.* 2023). A produção média de ovos por fêmea nas primeiras gerações de criação em laboratório de EcViR foi de 340,4 e 390,6 ovos em 56,3 e 66,8 dias de longevidade, respectivamente, valores inferiores a população padrão de suscetibilidade na ocasião, de 738,8 e 797,1 ovos em 71,6 e 129,9 dias de longevidade (Ferreira *et al.* 2012, Santos *et al.* 2016).

Também, a população EcViR apesar de mantida por 136 gerações sob condições físicas supostamente ideais e de abundância de presa alternativa apresentou similar resposta funcional a população recém coletada e suscetível (EcCV), predando o pulgão *L. pseudobrassicae*. Este tipo de resposta encontrado para ambas as populações corrobora com resultados encontrados para outros coccinelídeos (Barbosa *et al.* 2014, Islam *et al.* 2020, Chaudhary *et al.* 2022), incluindo estudos com *E. connexa* (Santos *et al.* 2021). Ainda, foi observado que adultos da população EcViR consumiu mais pulgões tanto na ausência como na presença de resíduos da λ -cialotrina. Contudo, vale salientar que a presença do resíduo do inseticida reduziu o número de pulgões predados, mesmo para a população resistente, caracterizando efeito negativo do inseticida na taxa de predação. Os resultados corroboram ao fato de que mesmo com inseticidas considerados seletivos (neste caso seletividade fisiológica promovida pela resistência metabólica para EcViR), o predador sobrevivente possui a sua predação afetada (Rahmani & Bandani 2016, Luna *et al.* 2018, D'Ávila *et al.* 2018, Afza *et al.* 2020).

A resposta às três temperaturas constantes estudadas, as quais correspondem amplitude térmica comum nos agroecossistemas brasileiros com ocorrência de *E. connexa* (18 a 32 °C), mostra que ambas as populações tiveram similar desenvolvimento (menor duração nas

temperaturas mais elevadas), e sobrevivência e produção de ovos similares a 18 °C. Por outro lado, os resultados sugerem uma menor variabilidade nos resultados para a população EcViR quanto ao peso de adultos criados nessas condições e produção de ovos, que a população recentemente coletada de campo EcCV. Nota-se, no entanto, que a 25 °C a sobrevivência de larva-adulto, e a produção de ovos foram superiores para a população EcCV, quando na 8ª geração de criação em laboratório. Dois pontos podem explicar o melhor desempenho de EcCV: um maior número de gerações de criação em condições controladas empregando presa alternativa, e que população EcCV, não sofre efeito do custo adaptativo para resistência e, ainda, possui maior variabilidade para responder condições de temperatura mais próximas daquela de campo.

A menor produção de ovos nas gerações iniciais de laboratório para fêmeas EcCV (Exp. #1) e sua melhor resposta nas gerações posteriores (Exp. #3) pode ser atribuída ao processo de adaptação dos indivíduos a presa alternativa (ovos de *E. kuehniella*). Por exemplo, coccinélídeos afidófagos possuem maior potencial de adaptação a novas presas do que joaninhas coccidófagas (Majerus 2016). Ao realizar mudança drástica na alimentação oferecendo apenas presas alternativas é observado maior efeito na história de vida de *C. montrouzieri*, que para *C. septempunctata*, *H. axyridis* e *P. japonica* (Chen *et al.* 2020). Geralmente para se estabelecer em dieta alternativa, os indivíduos recém-coletados necessitam ser criado por várias gerações em laboratório, e o tempo de adaptação é dependente da espécie (Economopoulos 1992, Ekesi *et al.* 2007).

Em laboratório, ambas as populações foram alimentadas exclusivamente com ovos de *E. kuehniella*. Durante a escassez de alimento, ou seja, quando apenas alimento não presa (mel + pólen) foi ofertado, ambas as populações interromperam a produção ovos. Esses resultados corroboram outros estudos (Farag *et al.* 2011, Santos *et al.* 2016, Nascimento *et al.* 2021), que

indicam que joaninhas necessitam de alimento essencial para a reprodução, enquanto alimento não presa servem para manter a sobrevivência como observado neste estudo. Portanto, a população de *E. connexa* resistente a piretroides mantida por várias gerações em laboratório, mostrou resposta similar à população suscetível recém coletada quanto à utilização de alimento não presa configurando condição de escassez de presa.

A similaridade na sobrevivência das fêmeas nas duas populações EcViR e EcCV, estando ou não em estresse alimentar, é explicada porque o pólen e outros recursos açucarados são descritos como alimento complementar que fornecem energia e garantem a sobrevivência de coccinelídeos de diversas espécies (Santos *et al.* 2016, He *et al.* 2021, Romero *et al.* 2023). Isto demonstra que fêmeas de ambas as populações não tiveram a sobrevivência reduzida até 35 dias de vida, mesmo com ausência da presa essencial por 15 dias. Assim, a escassez de presa em campo por curtos períodos de tempo, mas com presença de alimento não presa como pólen e néctar permitirá que fêmeas de *E. connexa* se mantenham nos agroecossistemas. Nessas condições de ausência de alimento essencial ocorrerá interrupção na oviposição, a qual será gradativamente recuperada após encontro de presas.

Assim, os resultados mostram efeitos positivos, sem considerável diferença inferior nas respostas biológicas e de predação para a população resistente de *E. connexa*, após mais de 130 gerações de criação em laboratório, em comparação a uma população suscetível e recém coletada. Teoricamente, esta população recém-coletada representa toda a variabilidade para uma resposta próxima àquela que seria observada em uma população de campo. Assim, esses resultados são relevantes quanto a manutenção da qualidade da população EcViR após sucessivas gerações de criação.

A utilização da joaninha *E. connexa* resistente a piretroides pode ser vantajosa mesmo após a manutenção por várias gerações em laboratório. Isto porque é esperado que esses indivíduos resistentes exibam comportamento de predação similar aos indivíduos de campo. Ainda, a liberação e manutenção de inimigos naturais resistentes em campo podem contribuir para o controle de pragas remanescentes após pulverização de inseticida, principalmente quando essa resistência não afeta o comportamento de predação, como observado neste estudo, além de serem capazes de sobreviver a curtos períodos de escassez de alimento.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo e custeio através do Programa PROEX.

Literatura citada

- Andow, D.A. 2019.** Integrating biological control in IPM systems, p. 71-86. In D.A. Andow (ed.), Ecological Interactions and Biological Control. CRC Press, 348p.
- Afza, R., M.A. Riaz & M. Afzal. 2020.** Sublethal effect of six insecticides on predatory activity and survival of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) following contact with contaminated prey and residues. *GesundePflanz* 72: 77-86.
- Barbosa, P.R.R, M.D. Oliveira, J.A. Giorgi, C.S.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2014.** Predatory behavior and life history of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae) under variable prey availability conditions. *Fla. Entomol.* 97: 1026-1034.
- Barbosa, L.R., B.M.C. Castro, E.P. Soliman, C.F. Wilcken, E.T. Iede & J.C. Zanuncio. 2021.** Controle biológico no MIP florestal, p. 147-163. In P.G. Lemes & J.C. Zanuncio (eds.), Novo manual de pragas florestais brasileiras. Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, 996p.
- Bastos, C.S. & J.B. Torres. 2003.** Controle biológico como opção no manejo de pragas do algodoeiro. Embrapa Algodão, 29p. (Circular Técnica 72).

- Chaudhary, D.D., B. Kumar & G. Mishra. 2022.** Functional response in coccinellid beetles (Coleoptera: Coccinellidae) is modified by prey-density experience. *Can. Entomol.* 154: e11.
- Chen, M.L., Y.H. Huang, B.Y. Qiu, P.T. Chen, X.Y. Du, H.S. Li & H. Pang. 2020.** Changes in life history traits and transcriptional regulation of Coccinellini ladybirds in using alternative prey. *BMC Genomics* 21: 1-11.
- Colares, F., J.P. Michaud, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2015.** Polyandry and male mating history affect the reproductive performance of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108: 736-742.
- Collier, T. & R. van Steenwyk. 2004.** A critical evaluation of augmentative biological control. *Biol. Control* 31: 245-256.
- Cornelissen, T. 2011.** Climate change and its effects on terrestrial insects and herbivory. *Neotrop. Entomol.* 40: 155-163.
- Costa, P.M.G., J.B. Torres, V.M. Rondelli & R. Lira. 2018.** Field-evolved resistance to λ -cyhalothrin in the lady beetle *Eriopis connexa*. *Bull. Entomol. Res.* 108: 380-387.
- Costa, P.M.G., R.L. Santos, D.V. Nascimento & J.B. Torres. 2020.** Does spinetoram pose low risk to the neotropical lady beetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae)? *Phytoparasitica* 48: 491-499.
- D'Ávila, V.A., L.C. Reis, W.F. Barbosa, G.C. Cutler, J.B. Torres & R.N.C. Guedes. 2018.** Prey foraging under sublethal lambda-cyhalothrin exposure on pyrethroid-susceptible and -resistant lady beetles (*Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae)). *J. Econ. Entomol.* 111:1042-1047.
- de Clercq, P., M. Vandewalle & L. Tirry. 1998.** Impact of inbreeding on performance of the predator *Podisus maculiventris*. *BioControl* 43: 299–310.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2006.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Di Stefano, J. 2005.** Effect size estimates and confidence intervals, an alternative focus for the presentation and interpretation of ecological data, p. 71–102. In A.R. Burk (ed.), *New Trends in Ecology Research*. Nova Science, New York, 231p.
- Economopoulos, A.P. 1992.** Adaptation of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to artificial rearing. *J. Econ. Entomol.* 85: 753-758.
- Ekesi, S., P.W. Nderitu & C.L. Chang. 2007.** Adaptation to and small-scale rearing of invasive fruit fly *Bactrocera invadens* (Diptera: Tephritidae) on artificial diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 100: 562-567.

- Farag, N.A., T.E. Abd El-Wahab & A.S.H. Abdel-Moniem. 2011.** The influence of some honeybee products as a diet substitute on the different stages of *Coccinella undecimpunctata* L. Egypt Arch. Phytopathol. Pl. Prot. 44: 253-259.
- Ferreira, E. S., A.R.S. Rodrigues, C.S.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2012.** Life-history costs associated with resistance to lambda-cyhalothrin in the predatory ladybird beetle *Eriopis connexa*. Agric. For. Entomol. 15: 168-177.
- Gazave, E., C. Chevillon, T. Lenormand, M. Marquine & M. Raymond. 2001.** Dissecting the cost of insecticide resistance genes during the overwintering period of mosquito *Culex pipiens*. Heredity 87: 441-448.
- Glenister, C.S. & M.P. Hoffmann. 1998.** Mass-reared natural enemies: scientific, technological, and informational needs and considerations, p. 242. In Ridgway, R.L. & M.P. Hoffmann, M.N. Inscoe & C.S. Glenister (eds.), Mass-reared natural enemies: application, regulation, and needs. Lanham, Thomas Say Publications in Entomology, Entomological Society of America, 332p.
- He, X., L.P. Kiær, P.M. Jensen & L. Sigsgaard. 2021.** The effect of floral resources on predator longevity and fecundity: A systematic review and meta-analysis. Biol. Control 153: 104-476.
- Headrick, D. 1994.** Why do natural enemies fail? Am. Entomol. 40: 7-8.
- Hoekstra, R.F. 2003.** Adaptive recovery after fitness reduction: the role of population size, p. 89-92. In J.C. van Lenteren (ed.), Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford, CABI Publishing, 352p.
- Islam, Y.; F.M. Shah, M.A. Shah, M. Musa Khan, M.A. Rasheed, S. Ur Rehman, S. Ali & X. Zhou. 2020.** Temperature-dependent functional response of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on the eggs of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Laboratory. Insects 11: 583.
- Juliano, S.A. 1993.** Nonlinear curve fitting, predation and functional response curves, p. 159–182. In S.M. Scheiner & J. Gurevitch, J. (eds.), Design and analysis of ecological experiments. Chapman and Hall, New York, 432p.
- Kalinkat, G. & B.C. Rall. 2015.** Effects of climate change on the interactions between insect pests and their natural enemies, p. 74-91. In C. Björkman & P. Niemala (eds), Climate change and insect pests. CABI climate change series, 8. CABI, 292p.
- Kehrli, P. & E. Wyss. 2001.** Effects of augmentative releases of the coccinellid, *Adalia bipunctata*, and of insecticide treatments in autumn on the spring population of aphids of the genus *Dysaphis* in apple orchards. Entomol. Exp. Appl. 99: 245-252.
- Leppla, N.C. & D.W. Williams. 1992.** Mass rearing beneficial insects and the renaissance of biological control. Pesq. Agropec. Bras. 27: 231-238.

- Lester, P. J., H.M.A. Thistlewood, D.B. Marshall & R. Harmsen. 1999.** Assessment of *Amblyseius fallacis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of tetranychid mites in an Ontario peach orchard. Exp. Appl. Acarol. 23: 995-1009.
- Lira, R., A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2016.** Fitness advantage in heterozygous ladybird beetle *Eriopis connexa* (Germar) resistant to lambda-cyhalothrin. Neotrop. Entomol. 45: 573-579.
- Lira, R., D.V. Nascimento, J.B. Torres & H.A.A. Siqueira. 2019.** Predation on diamondback moth larvae and aphid by resistant and susceptible lady beetle, *Eriopis connexa*. Neotrop. Entomol. 48: 909-918.
- Lira, R., D.V. Nascimento, P.R.R. Barbosa, A.M. Simmons & J.B. Torres. 2023.** Predation performance and survival of susceptible and pyrethroid-resistant *Eriopis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae) to insecticides used in brassica crops. Pest Manag. Sci. 79: 2704-2712.
- Luna, R. F., L.R. Bestete, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2018.** Predation and behavioral changes in the neotropical lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) exposed to lambda-cyhalothrin. Ecotoxicology 27: 689-702.
- Machado, A.V.A., D.M. Potin, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2019.** Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. Ecotoxicol. Environ. Saf. 184: 109669.
- Majerus, M.E. 2016.** A natural history of ladybird beetles. Cambridge, Cambridge University Press. 339p.
- Nascimento, D.V., R. Lira, E.K.S. Ferreira & J.B. Torres. 2021.** Performance of the aphidophagous coccinellid *Eriopis connexa* fed on single species and mixed-species prey. Biocontrol Sci. Technol. 31: 951-963.
- Nascimento, D.V., R. Lira & J.B. Torres. 2023.** Heterosis and reselection for pyrethroid resistance trait maintenance in the lady beetle *Eriopis connexa* (Germar). Ann. Appl. Biol. 183: 148-158.
- Nunney, L. 2003.** Managing captive populations for release: a population-genetic perspective, p. 73-87. In J.C. van Lenteren (ed.), Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford, CABI Publishing, 340p.
- Pekkala, N., K.E. Knott, J.S. Kotiaho, K. Nissinen & M. Puurtinen. 2014.** The effect of inbreeding rate on fitness, inbreeding depression and heterosis over a range of inbreeding coefficients. Evol. Appl. 7: 1107-1119.
- Perez-Alvarez, R., B.A. Nault & K. Poveda. 2019.** Effectiveness of augmentative biological control depends on landscape context. Sci. Rep. 9: 8664.

- Pickett, C.H. & F.E. Gilstrap. 1986.** Inoculative releases of phytoseiids (Acari) for the biological control of spider mites (Acari: Tetranychidae) in corn. *Environ. Entomol.* 15: 790-794.
- Rahmani, S. & A.R. Bandani. 2016.** Pirimicarb, an aphid selective insecticide, adversely affects demographic parameters of the aphid predator *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). *J. Pl. Prot. Res.* 56: 353-363.
- Rodrigues, A.R.S., A.F. Spindola, J.B. Torres, H.A.A. Siqueira & F. Colares. 2013.** Response of different populations of seven lady beetle species to lambda-cyhalothrin with record of resistance. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 96: 53-60.
- Rodrigues, A.R.S., H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2014.** Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 110: 36-43.
- Rodrigues, A.S., R.N.C. Guedes, H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2020.** Stability of the resistance to lambda-cyhalothrin in the ladybird beetle *Eriopis connexa*. *Entomol. Exp. Appl.* 168: 644-652.
- Romero, V., T. Zaviezo, R. Sánchez & A.A. Grez. 2023.** More than aphids in the guts of coccinellids revealed by molecular and visual analyses. *BioControl* 68:1-12.
- Santos, E.A., P.M.G. Costa, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2016.** Use of prey and non-prey food by the ladybird beetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory-rearing conditions. *Biocontrol Sci. and Technol.* 26: 1184-1196.
- Santos, D.S., A.R.S. Rodrigues, J.B. Torres & R. Lira. 2016.** Performance of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) resistant to lambda-cyhalothrin after extended recovery from knockdown. *Neotrop. Entomol.* 45: 718-724.
- Santos, D.S., R.C.P. Trindade, J.B. Torres, M.S. Lima, L. Santos & F.C. Batista. 2021.** Predation of *Brevicoryne brassicae* and *Aphis craccivora* by *Eriopis connexa* depending on availability. *Acta Biol. Colomb.* 26: 99-104.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT user's guide, release 9.0. Cary, NC: SAS Inst.
- Spíndola, A.F., C.S.A. Silva-Torres, A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2013.** Survival and behavioural responses of the predatory ladybird beetle, *Eriopis connexa* populations susceptible and resistant to a pyrethroid insecticide. *Bull. Entomol. Res.* 103: 485-494.
- Stiling, P. 1993.** Why Do Natural Enemies Fail in Classical Biological Control Programs?. *Am. Entomol.* 39: 31-37.

- Torres, J.B, A.R.S. Rodrigues, E.M. Barros & D.S. Santos. 2015.** Lambda-cyhalothrin resistance in the lady beetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) confers tolerance to other pyrethroids. J. Econ. Entomol. 108: 60-68.
- van Lenteren, J.C. 2003.** Quality control of natural enemies: where are we and where do we go? Bull. IOBC/WPRS 26: 171-175.
- van Lenteren, J.C. 2003.** Need for quality control of mass produced biological control agents, p. 1-18. In J.C. van Lenteren (ed.), Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford, CABI Publishing, 340p.
- van Lenteren, J.C., A. Hale, J.N. Klapwijk, J. van Schelt & S. Steinberg. 2010.** Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies, p. 265-303. In J.C. van Lenteren (ed.), Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures. Wallingford, CABI Publishing, 340p.

Tabela 1. Características reprodutivas da população de *Eriopis connexa* resistente a lambda-cialotrina (EcViR) de 131^a geração de criação em laboratório e da população suscetível e recém coletada de 2^a geração (EcCV), ambas criadas durante 30 dias sem escassez de alimento e submetidas a escassez de alimento (apenas mel + pólen) do 5^o ao 20^o dia de vida.

Populações	Disponibilidade de presa	Número médio de ovos/♀ ¹	Viabilidade de ovos (%) ¹
EcViR	Sem escassez	927,2 ± 77,98a*	28,7 ± 6,32
	Com escassez	490,8 ± 38,50b*	32,1 ± 6,93
EcCV	Sem escassez	325,9 ± 49,17a	46,7 ± 8,16
	Com escassez	265,8 ± 33,92a	34,1 ± 7,16
<i>População (P)</i>	<i>Gl</i> = 1, 56	<i>F</i> = 30,03; <i>P</i> < 0,0001	<i>F</i> = 2,0; <i>P</i> = 0,15
<i>Disponibilidade (D)</i>	<i>Gl</i> = 1, 56	<i>F</i> = 7,71; <i>P</i> = 0,0072	<i>F</i> = 0,91; <i>P</i> = 0,34
<i>P × D</i>	<i>Gl</i> = 1, 56	<i>F</i> = 3,54; <i>P</i> = 0,065	<i>F</i> = 1,66; <i>P</i> = 0,20

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula compara disponibilidade de alimento para a mesma população, enquanto asteriscos indica diferença entre populações para a mesma condição de disponibilidade de alimento (F-teste; $\alpha = 0,05$).

Tabela 2. Parâmetros estimados da resposta funcional (i.e., equação logística) entre a proporção de pulgões, *Lipaphis pseudobrassicae*, consumidos por adultos de *Eriopis connexa*, população resistente (EcViR) após 136 gerações de criação em laboratório e população recém coletada de campo (EcCV) após sete gerações.

Exposição	População	Parâmetro	Valores $\pm$ EP	G.L.	χ^2	Valor de P
- Lambda	EcViR	Intercepto	$3,132 \pm 0,31$	1	102,11	< 0,0001
		Linear	$-0,118 \pm 0,013$	1	76,34	< 0,0001
		Quadrático	$0,0012 \pm 0,0001$	1	55,77	< 0,0001
		Cúbico	$-3,34^{-6} \pm 4,77^{-7}$	1	49,02	< 0,0001
	EcCV	Intercepto	$2,0586 \pm 0,26$	1	61,84	< 0,0001
		Linear	$-0,0650 \pm 0,011$	1	30,15	< 0,0001
		Quadrático	$0,00047 \pm 0,0001$	1	11,85	0,0006
		Cúbico	$-1,19^{-6} \pm 4,34^{-7}$	1	7,52	0,0061
+ Lambda	EcViR	Intercepto	$2,039 \pm 0,2608$	1	61,16	< 0,0001
		Linear	$-0,0648 \pm 0,011$	1	30,16	< 0,0001
		Quadrático	$0,0005 \pm 0,0002$	1	13,01	0,0003
		Cúbico	$-1,32^{-6} \pm 4,32^{-7}$	1	9,29	0,0023
	EcCV	Intercepto	$1,0306 \pm 0,135$	1	57,87	< 0,0001
		Linear	$-0,038 \pm 0,0031$	1	154,25	< 0,0001
		Quadrático	$0,00012 \pm 0,000013$	1	84,25	< 0,0001

Tabela 3. Valores médios (Intervalo de confiança a 95%) da taxa de ataque [$a'(h^{-1})$] e tempo de manipulação (T_h) para adultos de duas populações de *Eriopis connexa* predando o pulgão *Lipaphis pseudobrassicae*, e estimativa do número de presa consumida durante o período de observação ($T = 24h/T_h$).

Exposição	População	Taxa de ataque (a')	Tempo de manipulação (T_h)	T/T_h
- Lambda	EcViR	0,000936 b (0,00036 – 0,00151)	0,4119 b (0,3381 – 0,4857)	58,3 a* (49,4 – 70,9)
	EcCV	0,00214 a* (0,000793 – 0,00350)	0,6303 a (0,5493 – 0,7113)	38,1 b* (33,7 – 43,7)
+ Lambda	EcViR	0,00252 a (0,00077 – 0,00427)	0,6725 b (0,5820 – 0,7630)	35,7 a (31,4 – 41,2)
	EcCV	0,00155 a (-0,0006 – 0,00316)	1,0406 a* (0,8004 – 1,2808)	23,1 b (18,8 – 29,9)

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indica diferença significativa entre populações para a mesma exposição (- ou +lambda-cialotrina), e *indica diferença entre exposição para a mesma população, pelo intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

Tabela 4. Valores estatísticos para os contrastes do coeficiente de inclinação (β) das equações do número de pulgões consumidos (N_e), em função das densidades de pulgão ofertadas (N_0). Todos os contrastes são resultados de igual número de graus de liberdade (g.l. = 115).

Fatores	Contrastes
	EcViR <i>versus</i> EcCV
- Lambda	$\beta = -0,079 \pm 0,029$; $t = -2,73$; $P = 0,0072$
+ Lambda	$\beta = -0,068 \pm 0,026$; $t = -2,61$; $P = 0,0103$
	- Lambda <i>versus</i> + Lambda
EcViR	$\beta = -0,099 \pm 0,029$; $t = -3,36$; $P = 0,001$
EcCV	$\beta = -0,088 \pm 0,025$; $t = -3,48$; $P = 0,0007$

Tabela 5. Efeito de três temperaturas na duração para completar o desenvolvimento e peso de adultos de *Eriopis connexa*, recém-coletada em campo e suscetível (EcCV) após oito gerações, e população resistente (EcViR) a piretroides criada por 137 gerações em laboratório.

Populações	Temp. (°C)	Duração (dias)	Peso de adultos (mg)	No. médio de ovos/♀
EcViR	18	35,9 ± 0,24a ^{ns}	6,3 ± 0,31 a	120,1 ± 28,54 b
	25	19,3 ± 0,26b ^{ns}	5,1 ± 0,38 a	274,2 ± 48,12 a
	32	14,1 ± 0,08c ^{ns}	4,9 ± 0,34 a	163,0 ± 22,48 b
EcCV	18	36,7 ± 0,27 a	7,8 ± 0,36 a*	56,6 ± 20,12 c ^{ns}
	25	18,9 ± 0,24 b	6,7 ± 0,38ab*	578,0 ± 61,33 a*
	32	14,4 ± 0,11 c	5,6 ± 0,39b ^{ns}	403,0 ± 65,78 b*
		<i>GLerro</i> = 150	<i>GLerro</i> = 147	<i>GLerro</i> = 75
<i>População (P)</i>		<i>F</i> = 1,34; <i>P</i> =0,29	<i>F</i> = 11,83; <i>P</i> =0,008	<i>F</i> = 15,88; <i>P</i> =0,002
<i>Temperatura (T)</i>		<i>F</i> = 4824,04; <i>P</i> <0,0001	<i>F</i> = 7,42; <i>P</i> =0,0008	<i>F</i> = 29,66; <i>P</i> <0,0001
<i>P × T</i>		<i>F</i> = 2,36; <i>P</i> =0,37	<i>F</i> = 1,93; <i>P</i> =0,14	<i>F</i> = 6,89; <i>P</i> =0,0019

¹Médias (±EP) seguido de mesma letra compara valores entre temperaturas para a mesma população (Teste de Tukey HSD, $\alpha = 0,05$); enquanto asteriscos (*) indica diferença entre populações comparando a mesma temperatura (Teste F; $\alpha = 0,05$).

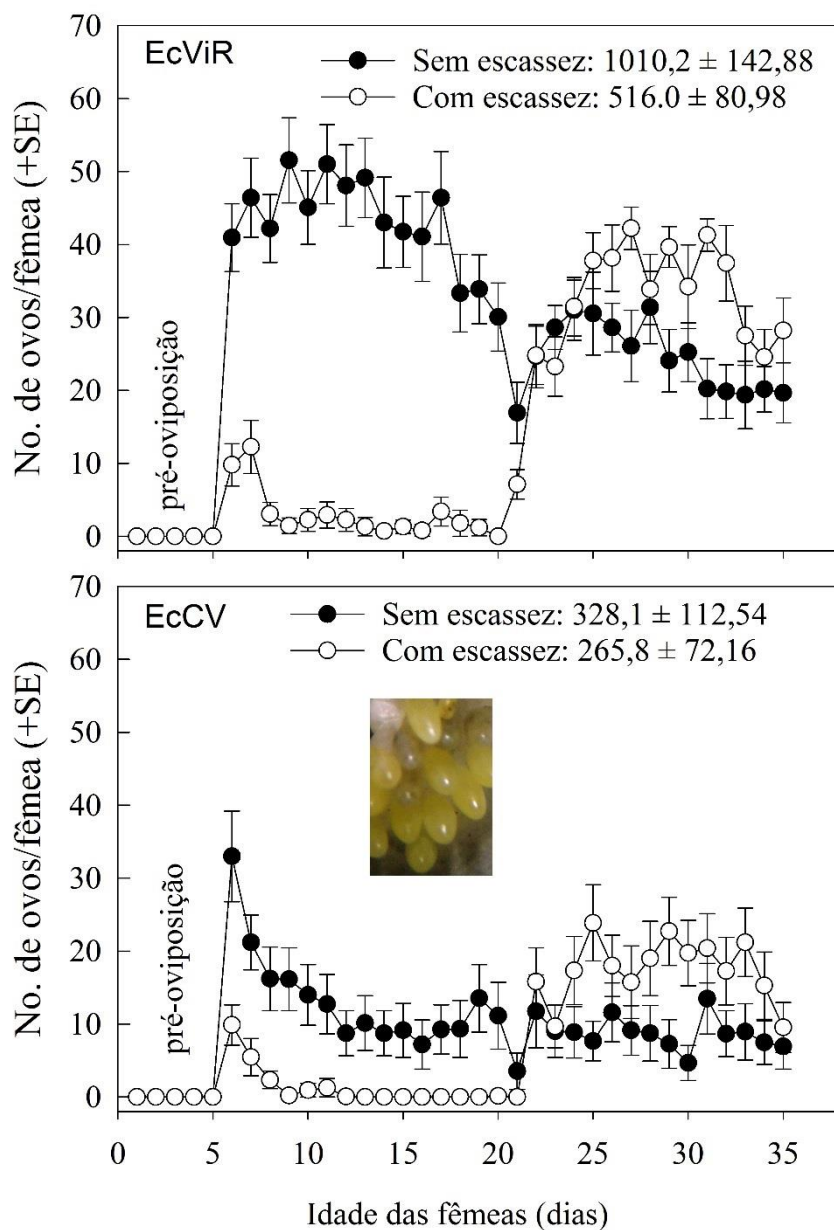


Figura 1. Dinâmica média na produção de durante o período de 35 dias para fêmeas de *Eriopsis connexa* das populações resistente de laboratório (EcViR) e recém coletada de campo (EcCV) submetidas sem e com escassez de presa do 5º ao 20º dia de vida.

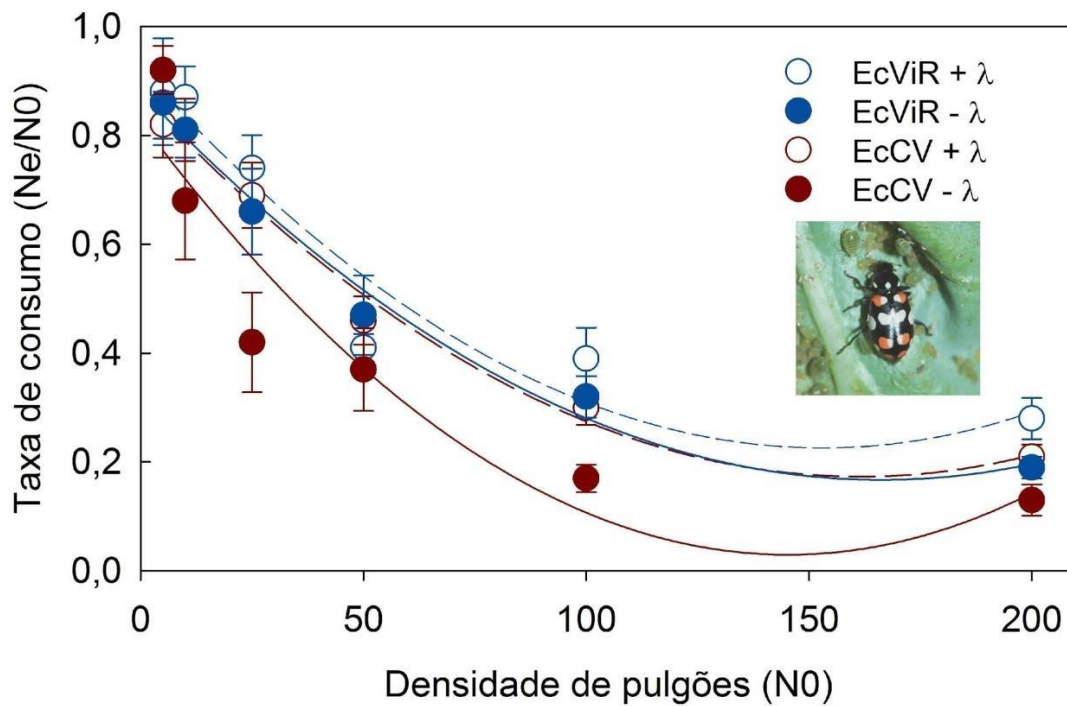


Figura 2. Proporção de pulgões (Ne/N_0), *Lipaphis pseudobrassicae*, consumidos por adultos da joaninha *Eriopsis connexa*, recentemente coletada e suscetível à λ -cialotrina (EcCV) após sete gerações, e por indivíduos resistentes à λ -cialotrina (EcViR), após 136 gerações de criação em laboratório.

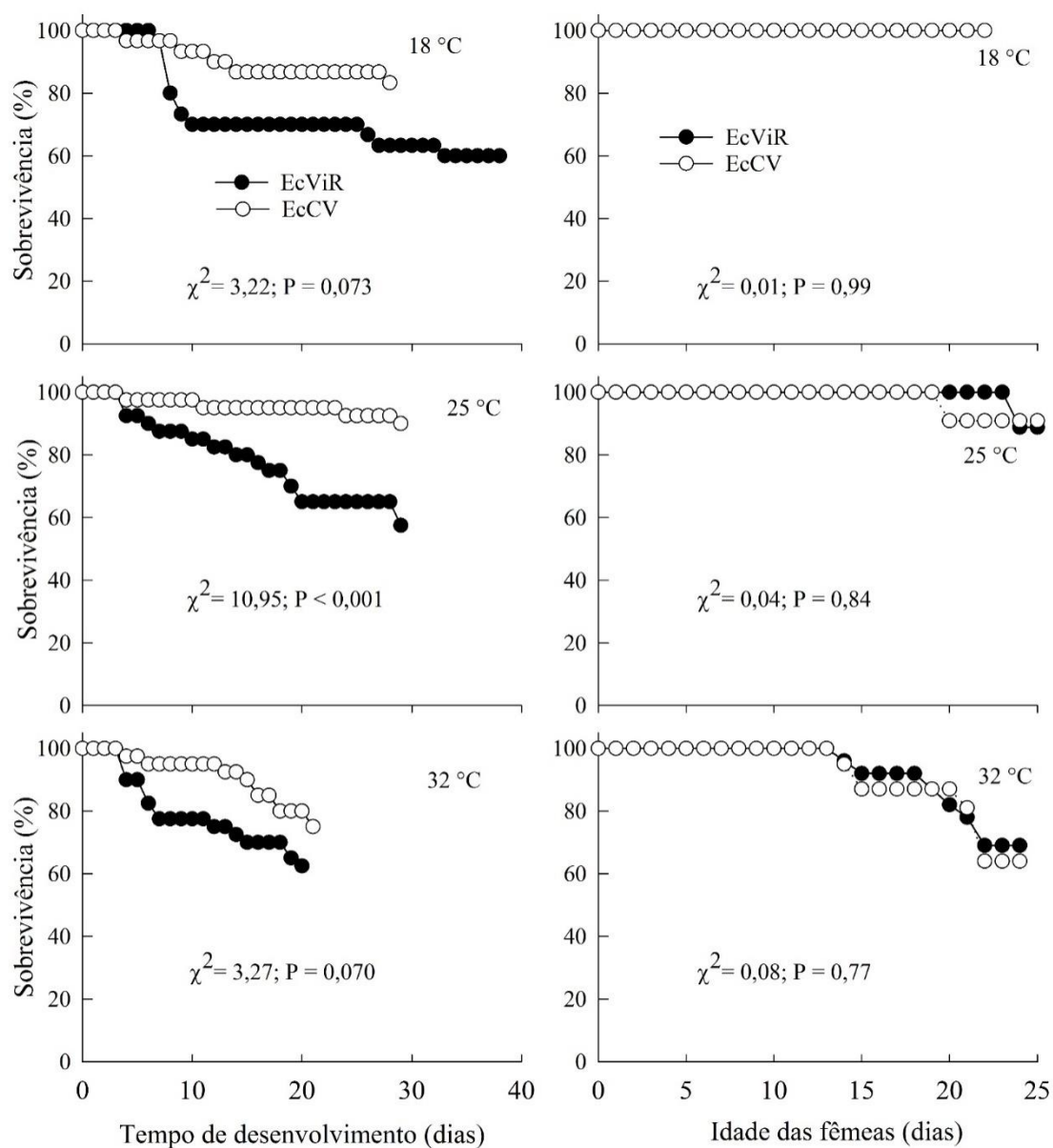


Figura 3. Curvas de sobrevivência para larvas até a emergência de adultos e para a fase adulta até 22 dias de idade das populações de *Eriopis connexa* resistente a piretroides (EcViR) na 137ª geração e população suscetível recém coletada (EcCV) na 8ª geração de criação em laboratório nas temperaturas de 18, 25 e 32 °C. Curvas estimadas pelo método Kaplan-Meier e comparadas por pares pelo teste de Log-Rank ($\alpha = 0,05$).

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os insetos predadores empregados no controle biológico aumentativo (CBA) são produzidos em insetários especializados e, subsequentemente, disponibilizados para a comercialização. No Brasil tem sido crescente o interesse pelo CBA. Contudo, este depende da produção de forma contínua de grandes quantidades de insetos, o que exige uso de dieta artificial (não presa), presas alternativas, ou uma combinação de ambas. Essas criações são mantidas em condições físicas estáveis como temperatura, umidade relativa e fotoperíodo.

Ainda, é desejado que os inimigos naturais produzidos em laboratório apresentem características que conferem melhor desempenho que aqueles de campo, que não estão conseguindo suprimir a população da praga pela simples ausência nos agroecossistemas ou por um baixo desempenho como a suscetibilidade aos inseticidas aplicados para o controle das pragas. Geralmente, para o controle desses insetos são utilizados inseticidas de amplo espectro como os piretroides, os quais são um entrave para o uso de predadores comercializados. Assim, espécies ou populações com resistência a piretroides, sobrevivem à exposição sendo um adicional para a sobrevivência nesses agroecossistemas. Contudo, independente se possui resistência ou não, a qualidade do predador precisa ser constantemente avaliada, comparada a padrões pré-determinados para a espécie, ou mesmo, em comparação com indivíduos de campo.

A joaninha predadora *E. connexa*, é comum em vários agroecossistemas associada a pragas Sternorrhynca, em especial, às infestações com pulgões. Os pulgões são pragas pouco controladas

com piretroides. De fato, após aplicações com piretroides é comum a ocorrência de surtos de pulgões devido à redução da população de inimigos naturais, incluindo as joaninhas predadoras.

Desta forma, a população de *E. connexa* resistente à lambda-cialotrina, usada neste estudo, tem sido criada por mais de 130 gerações e oferece esta característica que favorece a sua sobrevivência após exposição à lambda-cialotrina e, também, a outros piretroides.

Esses predadores criados em condições de laboratório em condições favoráveis de abundância de presa e temperatura serão expostos a condições adversas após a liberação. Condições essas que podem ser variações de temperatura, escassez de alimento e presas de campo diferente da presa alternativa usada na criação. Ao realizarmos os estudos simulando algumas adversidades que os inimigos naturais podem sofrer em campo, foi observado que:

- 1) Fêmeas adultas da população resistente de *E. connexa* (EcViR), na 131ª geração de criação em laboratório, apresentaram sobrevivência similar à população suscetível e recém coletada em campo (EcCV), quando foram submetidas a escassez de presa do 5º ao 15º dia de vida, alimentando-se apenas em mel+pólen;
- 2) Ambas as populações interromperam a oviposição quando submetidas à escassez de presa, mas retornaram a oviposição após se alimentarem da presa alternativa *Ephestia kuehniella*;
- 3) Fêmeas da população EcViR produziram mais ovos que a população EcCV durante 35 dias de vida, passando por um período de 10 dias de escassez de presas;
- 4) O comportamento de predação em função de diferentes densidades de presa, o pulgão *Lipaphis pseudobrassicae*, foi similar em ambas às populações resultando em uma resposta funcional do tipo II;

- 5) A taxa de predação de pulgão foi superior para fêmeas EcViR que EcCV, tanto na presença como na ausência de lambda-cialotrina;
- 6) O desenvolvimento de larva a adulto foi similar para ambas as populações criadas a 18, 25 e 32 °C;
- 7) A produção de ovos foi similar para fêmeas de ambas as populações criadas desde larva à 18 °C, mas superior para fêmeas EcCV nas temperaturas de 25 e 32 °C.

Os resultados sugerem que a população estudada de *E. connexa*, resistente a piretroides, apresenta menor fecundidade na condição de abundância de alimento e criadas em temperaturas de 25 e 32°C, em comparação à população suscetível. Contudo, nas demais condições a joaninha resistente apresentou resultado similar ou superior à população suscetível e recém-coletada, incluindo reprodução sob escassez de presa essencial e taxa de predação.