

Seletividade de *Lecanicillium lecanii* e *Metarhizium anisopliae* para larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório

Eliane Ribeiro Cardoso^{1*}, Sérgio de Freitas², Henrique Teixeira Nunes¹ e Luis Gustavo Amorim Pessoa²

¹Departamento de Produção Vegetal, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Av. Pádua Dias, 11, 13418-900, Piracicaba, São Paulo, Brasil. ²Departamento de Fitossanidade, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: ribeiroeliane@bol.com.br

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade dos fungos *Lecanicillium lecanii* e *Metarhizium anisopliae* para larvas de *Ceraeochrysa cincta*, utilizando-se a aplicação por imersão e a aplicação em bases de vidro, formando filme seco (IOBC modificado). Nos dois métodos, foram aplicados os tratamentos: 1 - *L. lecanii*; 2 - *M. anisopliae* - 2.1×10^7 conídios viáveis mL⁻¹; 3 - solução de Tween 80® a 0,05% como testemunha. Avaliou-se a mortalidade, duração média do período larval, fecundidade e a viabilidade dos ovos. Todos os insetos mortos foram submetidos à assepsia, para confirmação da mortalidade causada pelo fungo. Em ambos os bioensaios, as mortalidades confirmadas pelos fungos foram iguais a zero. No filme seco o efeito total dos fungos sobre o predador foi classificado como pouco nocivo de acordo com as categorias propostas pelo método IOBC. *L. lecanii* e *M. anisopliae* não afetaram a viabilidade dos ovos de *C. cincta*, quando aplicados por imersão. Na concentração que foi estabelecida para a realização dos bioensaios, os fungos entomopatogênicos *L. lecanii* e *M. anisopliae* foram seletivos para larvas de 1º ínstar de *C. cincta*.

Palavras-chave: controle microbiano, crisopídeos, fungo entomopatogênico

ABSTRACT. Selectivity of *Lecanicillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* for *Ceraeochrysa cincta* first instar larvae (Neuroptera: Chrysopidae) in laboratory. This paper aimed to evaluate the selectivity of the fungi *Lecanicillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* for *Ceraeochrysa cincta*. Two bioassays were developed: 1st) application of dry film proposed by the International Organization for Biological Control IOBC (modified) - they were applied in glass bases, forming dry film. 2nd) immersion application. In the two methods, the following treatments were applied: 1- watery suspension of *L. lecanii*; 2- the same for *M. anisopliae* (both at 2.1×10^7 viable conidia mL⁻¹); and 3- Tween 80® 0.05% watery solution. The larvae mortality, the average duration of the larvae period, the females fecundity and the eggs viability were evaluated. All the dead insects were submitted to asepsis to confirm the mortality caused by the fungi. In both bioassays, the mortality caused by the fungi was not verified. In the bioassay dry film, the fungi total effect on the predator was classified as not very harmful according to the categories proposed by the IOBC method. *L. lecanii* and *M. anisopliae* did not affect the viability of *C. cincta* eggs, when applied by immersion. In the established concentration for the accomplishment of the bioassays, entomopathogenic fungi *L. lecanii* and *M. anisopliae* were selective for first instar larvae of *C. cincta*.

Key words: microbial control, green lacewing, entomopathogenic fungi.

Introdução

O uso de agentes biológicos no controle de insetos-praga agrícolas no Brasil tem aumentado consideravelmente nos últimos anos (Parra, 2001). Dentre estes, destacam-se os fungos entomopatogênicos, que apresentam grande potencial para o controle destes insetos. Esses agentes foram os primeiros a serem utilizados no controle microbiano. A ocorrência desses fungos em

condições naturais, tanto enzoótica como epizooticamente, tem sido, no Brasil e em outros países, um fator importante na redução das populações de pragas (Alves, 1998).

Além dos patógenos, os insetos predadores também são importantes por serem eficientes em uma ampla diversidade de presas, tais como pulgões, moscas-brancas, cochonilhas, lagartas, ácaros etc., podendo ser úteis em programas de manejo

integrado de pragas para várias culturas. Dentre as espécies encontradas em plantios de seringueira, particularmente *Ceraeochrysa cincta* está presente durante o ano todo. Segundo Scomparim (1997), a capacidade deste inseto para predação do percevejo-de-renda é muito alta, pois durante o período larval cada indivíduo desta espécie pode alimentar-se de 6.275 ninfas ou 129 adultos de *Leptopharsa heveae* em média, em condições de laboratório. Lopez e Freitas (1996) também estudaram as larvas de *C. cincta* verificando-se um alto potencial para controlar o pulgão *Rhodobium porosum* que ocorre em plantios de roseiras. Observaram que durante o seu desenvolvimento, cada larva de *C. cincta* consome 139 pulgões, em média.

Para o estudo da seletividade, a imersão é um dos métodos mais simples para aplicação de suspensão de conídios em insetos dentre os utilizados em experimentos com fungos entomopatogênicos (Yokomi e Gottwald, 1998). Uma das vantagens da imersão é a garantia da máxima exposição do inseto aos conídios do fungo a ser testado. Assim, o inseto é submetido a uma pressão máxima e se a mortalidade não for significativa nessas condições, dificilmente será em outras condições menos favoráveis ao patógeno. Outras vantagens são a facilidade de aplicação e a não exigência de materiais e equipamentos sofisticados.

Segundo Hassan et al. (1985), um grupo de trabalho do IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/West Palaearctic Regional Section) propôs o método do filme seco para avaliação de efeitos de inseticidas químicos e biológicos em inimigos naturais de insetos e ácaros. A proposta dos autores foi a de padronizar essa metodologia de avaliação no mundo todo. A principal vantagem do método IOBC é a utilização de um número menor de insetos, em comparação com outros métodos, que exigem no mínimo 50 indivíduos por tratamento.

Ventura et al. (1996) observaram o efeito do fungo *M. anisopliae* sobre o terceiro ínstar larval do predador *Chrysoperla kolthoffi*, em condições de laboratório. Foram utilizadas suspensões contendo $1,5 \times 10^4$; $1,5 \times 10^5$; $1,5 \times 10^7$; $1,5 \times 10^8$; $1,5 \times 10^9$; $1,5 \times 10^{10}$; $1,5 \times 10^{11}$; $1,5 \times 10^{12}$ con. mL⁻¹. As larvas apresentaram alta suscetibilidade para o fungo testado, especialmente a partir da concentração $1,5 \times 10^8$, e com mortalidade de 100% na maior concentração de $1,5 \times 10^{12}$ con. mL⁻¹. Neste caso, a concentração foi de quase 1 milhão de conídios por mL mais alta comparada com que foi estabelecido no presente

estudo ($2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL⁻¹).

Donegan e Lighthart (1989) estudaram o fungo *B. bassiana* associado a tratamentos estressantes tais como inanição, nutrição e temperatura sobre o inseto predador *Chrysoperla carnea*, em condições de laboratório. Utilizando larvas no final do primeiro ínstar, testaram cinco concentrações do fungo (10^5 até 10^9 con. mL⁻¹) e uma solução inerte como controle; observaram que os tratamentos estressantes provocaram efeitos letais e subletais do fungo sobre o inseto. A mortalidade larval foi aumentada pelos tratamentos nutrição e inanição individualmente e em associação tanto entre eles quanto com outros tratamentos. O tratamento temperatura, sozinho, não teve efeito significativo na resposta da interação inseto-patógeno.

Pavlyushin e Smits (1996) verificaram que o efeito dos fungos *L. lecanii*, *B. bassiana* e *Paecilomyces fumosoroseus* sobre predadores *C. carnea*, e *Chrysoperla nipponensis* nas concentrações de $0,5 \times 10^7$ e $2,5 \times 10^7$ con. mL⁻¹, foi pequeno, pois ocorreu mortalidade de apenas 4% para as espécies de crisopídeos e quando se utilizou uma suspensão contendo $1,0 \times 10^8$ conídios mL⁻¹ essa mortalidade alcançou os 28% para o fungo *B. bassiana*.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a seletividade de *L. lecanii* e *M. anisopliae* para larvas de 1º ínstar do inseto predador *C. cincta* utilizando dois métodos de avaliação, em laboratório.

Material e métodos

Criação de *Ceraeochrysa cincta*

A criação dos insetos foi realizada no Laboratório de Biossistemática e Criação massal de Crisopídeos do Departamento de Fitossanidade da FCAV/Unesp, Jaboticabal, Estado de São Paulo, utilizando a metodologia de criação desenvolvida por Freitas (2001a e b).

Cultivo dos fungos e preparo das suspensões

No Laboratório de Entomopatógenos do Departamento de Fitossanidade da FCAV/Unesp, os isolados ARSEF 6430 de *Lecanicillium lecanii* e E9 de *Metarhizium anisopliae* foram repicados em meio de cultura contendo batata, dextrose, ágar e 1% de extrato de levedura (BDAL), em seguida multiplicados e incubados em estufa do tipo BOD à temperatura de $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e fotofase de 14h. O isolado E9 de *M. anisopliae* foi cedido pela coleção do Laboratório Biocontrol Sistema de Controle Biológico – Sertãozinho, Estado de São Paulo, repicado e multiplicado nas mesmas condições.

Para a preparação das suspensões aquosas de conídios, em cada placa contendo colônias de *L.*

lecanii, foram adicionados 5 mL de Tween 80® a 0,05% e 10 mL para *M. anisopliae*. As colônias foram raspadas com o auxílio de um bastão com ponta de borracha, filtradas em funil com Perfex®.

A concentração de cada fungo foi quantificada em câmara de Neubauer, segundo metodologia de Alves e Moraes (1998). Um dia antes de instalar o bioensaio foi preparado o teste de viabilidade. Esta avaliação permitiu o ajuste da concentração dos dois fungos para $2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL⁻¹.

Bioensaios

Método do filme seco - IOBC modificado (IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms")

As suspensões de *L. lecanii* e *M. anisopliae* foram aplicadas utilizando-se $2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL⁻¹ e solução aquosa de Tween 80® a 0,05% como testemunha, totalizando três tratamentos. Para cada tratamento, utilizou-se de uma bandeja contendo 30 bases de vidro com espessura de 3 mm, medindo 10x10 cm, as quais receberam aplicação de 5 mL das suspensões, utilizando-se Torre de Potter, regulada para uma pressão de 5 bar In⁻². Depois de aplicados os fungos, as bases foram deixadas durante 2h para secar à sombra; após esse tempo, colocou-se sobre cada base uma larva de *C. cincta*; no interior de um anel de PVC medindo 3 polegadas de diâmetro, 1 cm de altura e tecido voal colado na parte superior delimitando a área. Na parte interna destes anéis, passou-se grafite, com a finalidade de impedir as larvas de subirem, forçando-as, assim, a permanecer em contato com os conídios. Essas bandejas foram mantidas a $27,5 \pm 3,5^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h, e nas primeiras 18h de instalação, a umidade relativa do ar foi mantida em torno de $90 \pm 10\%$. As larvas de 1ª instar foram alimentadas a cada dois dias com ovos de *Sitotroga cerealella* e a partir do 3ª instar todos os dias.

Foram feitas contagens das larvas mortas. Os insetos mortos tanto na fase larval quanto pupal foram desinfetados com álcool 70% durante 30 segundos, seguidos de lavagem em água estéril por mais 30 segundos. Foram acondicionadas em câmaras úmidas mantidas a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, observando diariamente cada inseto morto para confirmação da mortalidade pelos fungos.

As pupas com 5 dias de idade foram individualizadas e transferidas para vidros de penicilina, fechados com filme de PVC (Magipac), no qual permaneceram até a emergência dos adultos. Após a sexagem, foram formados casais do mesmo tratamento, os quais foram mantidos em gaiolas, contendo em cada uma três casais. Todas as gaiolas foram envolvidas internamente por uma folha de

papel sulfite, para o inseto fazer a oviposição e trocada a cada três dias, fazendo-se a contagem desses ovos, retirados delicadamente com o auxílio de uma tesoura mediante um corte no pedicelo.

Esses adultos receberam água e dieta à base de mel e extrato de levedura, a cada dois dias. No bioensaio IOBC (modificado), o tratamento testemunha foi formado por sete gaiolas totalizando 21 casais e para os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae* por cinco gaiolas formando 15 casais em cada tratamento.

A fecundidade (média de ovos postos fêmea⁻¹ dia⁻¹) foi avaliada durante 24 dias, a cada 3 dias.

A viabilidade dos ovos (posturas produzidas pelas fêmeas originadas de larvas tratadas) foi determinada uma semana após a transferência dos casais para as gaiolas, garantindo que todas as fêmeas estivessem ovipositando, avaliando-se durante 24 dias. Estes foram individualizados, contados e posteriormente quantificaram-se os que deram origem às larvas e que não morreram presas ao córion.

Para avaliação dos dados, foi aplicada a fórmula abaixo (Degrande, 1996) que permite calcular os coeficientes de fecundidade e viabilidade, diferente do proposto pelo método IOBC que inclui na fórmula apenas a fecundidade, embora sugira avaliar a viabilidade. Esta fórmula permitiu enquadrar o bioinseticida em uma das categorias propostas pelo IOBC (Tabela 1), sendo considerado inócuo o tratamento que teve efeito total até 30% (Degrande, 1996) e não 50%, como é proposto por Bigler (1988).

$E = 100\% - (100\% - M) \times R_1 \times R_2$, em que:

E = efeito total do tratamento;

M = mortalidade até a fase de pupa, total corrigido pela fórmula de Abbott (1925);

R_1 = n° de ovos postos por fêmea tratada com fungos ou inseticida/n° ovos postos por fêmea tratada com Tween 80® a 0,05%;

R_2 = viabilidade média dos ovos oriundos de fêmeas tratadas com fungo/viabilidade média dos ovos oriundos de fêmeas tratada com Tween 80® a 0,05%.

Tabela 1. Classificação do efeito total (E) do fungo sobre a população testada, segundo as normas do IOBC proposta por Bigler (1988) e modificada por Degrande (1996).

E (%)	Classe
< 30	Inócuo
De 30 a 79	Pouco nocivo
De 80 a 99	Moderadamente nocivo
> 99	Nocivo

Imersão

Na imersão, as larvas foram tratadas com suspensões aquosas de conídios de *L. lecanii* e *M. anisopliae*, com concentrações de aproximadamente

$2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL^{-1} (com Tween 80® a 0,05%) e solução de Tween 80® a 0,05% (Testemunha), totalizando três tratamentos.

Grupos de cinco larvas de *C. cincta* foram colocados em uma peneira de 30 mm de diâmetro (colado tecido voal no fundo) e mergulhados durante cinco segundos em um Becker pequeno de 50 mL, repetindo esse procedimento duas vezes. Em seguida, as larvas de *C. cincta* foram cuidadosamente retiradas com o auxílio de um pincel fino, e individualizadas em “ependorfs” perfurados onde foram mantidas a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Durante as primeiras 18h, a umidade relativa do ar também foi mantida em torno de 90% para favorecer a germinação do fungo. As larvas foram alimentadas a cada dois dias com ovos de *S. cerealella*.

Para a avaliação, foi observada a mortalidade, como no método IOBC. A mortalidade por outras causas que não os fungos foi avaliada pelo fato da mortalidade confirmada pelos fungos ser igual a zero. Também foi observada a ocorrência de deformação nos insetos bem como a duração média do período larval. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 70 larvas de primeiro ínstar por tratamento, distribuídas em sete repetições, cada uma com 10 observações. Os dados foram transformados em arcsen raiz ($\arcsin(x/100)$) e submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

Método do filme seco (IOBC modificado)

Nesta metodologia de avaliação não foi observada mortalidade de *C. cincta* causada por *L. lecanii* e *M. anisopliae* na concentração de $2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL^{-1} .

As mortalidades causadas pelos fungos foram iguais a zero, ocorrendo crescimento e esporulação apenas de fungos sapróbios (*Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.).

Não se constatou mortalidades dos insetos pelos fungos. As mortalidades por outras causas foram relativamente baixas, quando comparadas com a testemunha. O mesmo se observa nos valores de mortalidade corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) (Tabela 2).

Generoso (2002) trabalhou com o método do filme seco e verificou que os isolados CG 149 de *B. bassiana* e JAB 12 de *P. fumosoroseus* foram seletivos e classificados como pouco nocivos para larvas de 1º e 2º ínstar de *C. externa*, provocando um baixo índice de mortalidade. Também observou o desempenho

reprodutivo dos adultos originados de larvas de 1º ínstar de *C. externa* e constatou uma fecundidade de 9,8 ovos por fêmea no tratamento testemunha.

Tabela 2. Mortalidade larval, pupal, total e mortalidade corrigida (Abbott, 1925) nos diferentes tratamentos aplicados em larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta*, mantidas a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.

Tratamento	População inicial (n°)	Larvas mortas (n°)	Pupas mortas (n°)	Mortalidade total (%)	Mortalidade total corrigida (%)
Testemunha	30	1	0	3,3	-
<i>L. lecanii</i>	30	5	2	23,3	20,7
<i>M. anisopliae</i>	30	8	1	30,0	27,6

Nas mesmas condições de temperatura, fotoperíodo e umidade, o valor obtido no presente bioensaio apresentou o dobro do número de ovos e os quocientes de viabilidade média dos ovos colocados por fêmeas tratadas com *L. lecanii* e *M. anisopliae* foram relativamente altos, variando de 94,7 a 99,8% (Tabela 3). Provavelmente estes tratamentos não afetaram a viabilidade dos ovos. Isto pode ser um indicativo de que as condições laboratoriais adotada neste trabalho foram bem próximas ao ideal.

A fecundidade da testemunha (média do número de ovos postos por fêmea por dia) foi três vezes maior do que a das fêmeas tratadas com os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae*. Levando-se em consideração a classificação proposta pelo IOBC, ambos os fungos foram enquadrados como pouco nocivos. O efeito total e a classificação dos fungos também podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Desempenho reprodutivo dos adultos, efeito total (E) e classificação dos tratamentos aplicados em larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta*, mantidas a $26 \pm 3^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.

Tratamento	Fecundidade ¹ (ovos fêmea ⁻¹ dia ⁻¹)	Viabilidade ² (%)	R ₁ ³	R ₂ ⁴	E (%)	Classificação
Testemunha	22	99,8	8,53	-	-	-
<i>L. lecanii</i>	7,3	95,7	0,41	0,96	66,1	Pouco nocivo
<i>M. anisopliae</i>	7,6	94,7	0,43	0,95	69,0	Pouco nocivo

¹Média do nº ovos postos fêmeas⁻¹ dia⁻¹; ²considerada num período de 24h; ³Quociente de fecundidade; ⁴Quociente de viabilidade.

As durações médias do período larval observadas no método IOBC para a testemunha, *L. lecanii* e *M. anisopliae* foram 10,74, 10,23 e 10,47 dias, respectivamente. No entanto, não houve diferença estatística (Tukey $p < 0,05$). Nota-se por estes dados que as médias dos tratamentos foram próximas. Ru et al. (1975), trabalhando com a biologia de *Chrysopa lanata* usando a mesma temperatura de $26,5^\circ\text{C}$, observaram duração média de 10,29 dias, muito semelhante ao que ocorreu nesse trabalho.

No presente trabalho, foi oferecido como

alimento para as larvas de *C. cincta*; ovos de *S. cerealella*. Segundo Hagen (1950) e Gautam e Navarajan Paul (1988), o período larval bem como o ciclo biológico dos crisopídeos podem ser modificados de acordo o tipo de alimento que é oferecido na fase larval.

Método de Imersão

A mortalidade confirmada pelo fungo nesse método de aplicação foi nula, ocorrendo a presença de fungos sapróbios. A mortalidade total foi relativamente baixa nos tratamentos *L. lecanii* e *M. anisopliae* comparada com a testemunha (Tabela 4).

Tabela 4. Mortalidade larval, pupal, total e mortalidade corrigida (Abbott, 1925) nos tratamentos aplicados por imersão em larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta*, mantidas a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, e fotofase de 12h. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.

Tratamento	Nº inicial de insetos	Mortalidade			Corrigida (%)
		Larval (nº)	Pupal (nº)	Total (%)	
Testemunha	70	9	2	15,7	-
<i>L. lecanii</i>	70	11	7	25,7	11,9
<i>M. anisopliae</i>	70	15	5	28,6	15,3

A mortalidade total no método de aplicação imersão, observada quando as larvas foram tratadas com Tween 80® a 0,05%, comparada com os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae* foram estatisticamente iguais entre si (Tabela 5).

Tabela 5. Mortalidade total nos tratamentos aplicados por imersão em larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta* e duração média do período larval, mantidas a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, fotofase de 12h. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.^{1,2}

Tratamento	Mortalidade (%) ¹	Período larval (dias)
Testemunha	21,4 a	11,2 a
<i>L. lecanii</i>	29,8 a	11,4 a
<i>M. anisopliae</i>	30,0 a	11,3 a
Teste F	1,21 ^{NS}	0,32 ^{NS}
CV (%)	43,70	3,84

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ²Médias transformadas em arc sen raiz ($\sqrt{x/100}$).

Núñez (1988), trabalhando com *C. cincta* observou a duração média do período larval de $16 \pm 1,1$ dias a 25°C e 78% de umidade relativa. A alimentação oferecida para as larvas e a temperatura pode ter sido influenciada no período mais longo.

Para *C. cincta*, alimentada com ovos de *S. cerealella* e temperatura de 25°C , Narciso (1996) observou duração média do período larval de 12,92 dias, valor obtido bem maior do que o verificado nesse trabalho. A temperatura relativamente mais baixa de 25°C influenciou no período mais longo que os observados neste bioensaio na qual a temperatura manteve-se $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Observando os dados da duração média do período larval (Tabela 5), foi possível verificar que não houve diferença estatística.

Nota-se que as médias do bioensaio imersão foram próximas ao método IOBC.

Com relação aos parâmetros avaliados para adultos oriundos de larvas de 1º ínstar de *C. cincta* que receberam aplicação dos fungos por imersão, verificou-se que a fecundidade no tratamento *M. anisopliae* foi afetada nas quatro semanas e, portanto, as médias apresentaram diferença estatística. E para o fungo *L. lecanii* causou maior interferência na fecundidade das duas últimas semanas (Tabela 6).

Tabela 6. Fecundidade das fêmeas de *Ceraeochrysa cincta* que receberam aplicação de fungos na fase larval (primeiro ínstar) e foram mantidas a $26,5 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.¹

Tratamento	Fecundidade (Média de ovos fêmea ⁻¹ dia ⁻¹)			
	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana
Testemunha	3,8 a	3,7 a	3,6 a	3,5 a
<i>L. lecanii</i>	4,0 a	3,7 a	1,9 b	1,5 b
<i>M. anisopliae</i>	1,5 b	1,4 b	1,4 c	1,4 b
Teste F	64,7**	107,9**	122,6**	120,7**
CV (%)	12,4	9,5	10,2	11,6

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados referentes à viabilidade dos ovos provenientes de fêmeas de 1º ínstar de *C. cincta* tratadas com os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae*, são apresentados na Tabela 7. Observou-se que não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, indicando que esses fungos não afetaram a viabilidade dos ovos de *C. cincta*.

Tabela 7. Viabilidade (%) de ovos de *Ceraeochrysa cincta* que receberam aplicação de fungos na fase larval (primeiro ínstar) mantidos a $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Jaboticabal, Estado de São Paulo, 2003.^{1,2}

Tratamento	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana
Testemunha	90,0 a	90,0 a	87,6 a	88,6 a
<i>L. lecanii</i>	85,7 a	88,6 a	85,9 a	83,8 a
<i>M. anisopliae</i>	82,8 a	87,7 a	87,8 a	87,9 a
Teste F	1,95 ^{NS}	0,8 ^{NS}	0,2 ^{NS}	1,03 ^{NS}
CV (%)	7,3	3,6	7,2	6,8

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ²Médias transformadas em arcsen raiz ($\sqrt{x/100}$).

Conclusão

a) Nas condições em que foram realizados os bioensaios, pode-se estabelecer que *L. lecanii* (isolado ARSEF 6430) e *M. anisopliae* (E9) na concentração de $2,1 \times 10^7$ conídios viáveis mL⁻¹ são seletivos para larvas de 1º ínstar de *C. cincta*;

b) Os fungos *L. lecanii* e *M. anisopliae* não afetaram a viabilidade dos ovos de *C. cincta*, quando aplicados por imersão.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório Biocontrol Sistema de Controle Biológico – Sertãozinho,

Estado de São Paulo, por ceder gentilmente da sua coleção de fungos o isolado E9 de *Metarhizium anisopliae*.

Referências

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, Savannah, v. 18, p. 265-267, 1925.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 11, p. 289-290, 366.
- ALVES, S.B.; MORAES, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 23, p. 765-797.
- BIGLER, F.A. laboratory method for testing side-effect of pesticides on larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera, Chrysopidae). *Bull. SROP/WPRS*, Zurich, v. 11, n. 4, p. 71-77, 1988.
- DEGRANDE, P.E. *Otimização e prática da metodologia da IOBC para avaliar o efeito de pesticidas sobre Trichogramma cacoeciae (Trichogrammatidae) e Chrysoperla carnea (Chrysopidae)* 1996. Tese (Doutorado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- DONEGAN, K.; LIGHTHART, B. Effect of several stress factors on the susceptibility of the predatory insect *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), to the fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *J. Inv. Pathol.*, San Diego, v. 54, p. 79-84, 1989.
- FREITAS, S. *Criação de crisopídeos (Bicho lixeiro) em laboratório*. Jaboticabal: Funep, 2001a.
- FREITAS, S. *O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas*. Jaboticabal: Funep, 2001b.
- GAUTAM, R.D.; NAVARAJAN PAUL, A.V. Influence of adult food supplements on *Chrysopa scelestes* Banks (Chrysopidae: Neuroptera). *J. Entomol. Res.*, New Delhi, v. 12, n. 1, p. 25-27, 1988.
- GENEROSO, A.R. *Compatibilidade de Beauveria bassiana e Paecilomyces fumosoroseus com Chrysoperla externa (Neuroptera: Chrysopidae) e metodologia para avaliação da seletividade*, 2002. Dissertação (Mestrado em Microbiologia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- HAGEN, K.S. Fecundity of *Chrysopa californica* as affected by synthetic foods. *J. Econ. Entomol.*, Lanham, v. 43, n. 1, p. 101-104, 1950.
- HASSAN, S.A. et al. Standart methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Work Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *EPPO Bull.*, Oxford, v. 15, p. 214-255, 1985.
- LOPEZ, C.C.; FREITAS, S. Pulgões associados a roseiras no município de Jaboticabal. *Rev. Agric.*, Piracicaba, v. 71, n. 1, p. 104-105, 1996.
- NARCISO, R.S. *Aspectos biológicos de Ceraeochrysa cincta (Schneider, 1851) (Neuroptera, Chrysopidae), sob condições de laboratório e diferentes substratos alimentares*, 1996. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1996.
- NUÑEZ, Z.E. Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera, Chrysopidae). *Rev. Peruana Entomol.*, Lima, v. 31, p. 76-82, 1988.
- PARRA, J.R.P. *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. 6. ed. Piracicaba: Esalq/Fealq, 2001.
- PAVLYUSHIN, V.A.; SMITS, P.H. Effect of entomopathogenic fungi on entomophagous arthropods. Insect pathogens and insect parasitic nematodes. Proceedings of the first joint meeting. *Bull. OILB SROP*, Zurich, n. 9, p. 247-249, 1996.
- RU, N. et al. Biology of *Chrysopa lanata* (Neuroptera: Chrysopidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Lanhan, v. 68, n. 2, p. 187-190, 1975.
- SCOMPARIM, C.H.J. *Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) em seringueira e seu potencial no controle biológico de percevejo-de-renda (Leptopharsa heveae) (Hemiptera: Tingidae)*. 1997. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.
- VENTURA, M.A. et al. Susceptibility of third instar larvae of the green lacewing *Chrysoperla kolthoffi* (Navas) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin var. *anisopliae* Tulloch in the laboratory (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae). Pure and applied research in neuropterology. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NEUROPTEROLOGY, 5., 1996, Cairo. *Proceedings...* Cairo, 1994. p. 241-249.
- YOKOMI, R.K.; GOTTWALD, T.R. Virulence of *Verticillium lecanii* isolates in aphids determined by detached-leaf bioassay. *J. Inv. Pathol.*, San Diego, v. 51, p. 250-258, 1988.

Received on September 02, 2005.

Accepted on February 05, 2007.