

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO DA PROTEÍNA Cry3Aa E PRODUTO BT COM
Chrysoperla rufilabris (BURMEISTER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE)
E *Ceraeochrysa cincta* (SCHNEIDER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE)
PARA CONTROLE DE *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (COL.:
CHRYSOMELIDAE) E *Plutella xylostella* (L.) (LEP.:
PLUTELLIDAE)**

Msc. Matheus Moreira Dantas Pinto

Agrônomo

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO DA PROTEÍNA Cry3Aa E PRODUTO BT COM
Chrysoperla rufilabris (BURMEISTER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE)
E *Ceraeochrysa cincta* (SCHNEIDER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE)
PARA CONTROLE DE *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (COL.:
CHRYSOMELIDAE) E *Plutella xylostella* (L.) (LEP.:
PLUTELLIDAE)**

Discente: Matheus Moreira Dantas Pinto

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Co-orientador: Prof. Dr. Juan Luis Jurat-Fuentes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

2024

P659a Pinto, Matheus Moreira Dantas
Associação da proteína Cry3Aa e produto Bt com *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) (Neur.: Chrysopidae) e *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neur.: Chrysopidae) para controle de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae) e *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) / Matheus Moreira Dantas Pinto. -- Jaboticabal, 2024
71 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli
Coorientador: Juan Luis Jurat-Fuentes

1. Entomologia. 2. Controle biológico. 3. Sustentabilidade. 4. MIP. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Registro de impacto

O presente estudo apresenta soluções sustentáveis para o manejo de pragas, que por sua vez, atende aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU) na agenda 2030, com destaque para os objetivos: Fome zero; Consumo e produção sustentável; Vida na água; Vida terrestre.

Impact record

This study presents sustainable solutions for pest management, which in turn meets the Sustainable Development Goals (SDGs) of the United Nations (UN) in the 2030 agenda, with emphasis on the goals: Zero hunger; Responsible consumption and production; Life below water; Life on land.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASSOCIAÇÃO DA PROTEÍNA Cry3Aa E PRODUTO BT COM *Chrysoperla rufilabris* (BURMEISTER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE) E *Ceraeochrysa cincta* (SCHNEIDER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE) PARA CONTROLE DE *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (COL.: CHRYSOMELIDAE) E *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)

AUTOR: MATHEUS MOREIRA DANTAS PINTO
ORIENTADOR: SERGIO ANTONIO DE BORTOLI
COORIENTADOR: JUAN LUIS JURAT-FUENTES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI (Participação Virtual)
 Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
SERGIO ANTONIO DE BORTOLI
 Data: 21/02/2024 12:43:12-0300
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Profa. Dra. ALESSANDRA MARIELI VACARI (Participação Virtual)
 Departamento de Ciência Animal / Universidade de Franca (UNIFRAN) - Franca/SP



Documento assinado digitalmente
ALESSANDRA MARIELI VACARI
 Data: 16/02/2024 13:51:25-0300
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Prof. Dr. FRANCISCO SOSA DUQUE (Participação Virtual)
 Departamento de Agronomia / Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) - C.



Documento assinado digitalmente
FRANCISCO JOSÉ SOSA DUQUE
 Data: 20/02/2024 09:39:27-0300
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Prof. Dr. CALEB CALIFRE MARTINS (Participação Virtual)
 Departamento de Agronomia / Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) - Caxia



Documento assinado digitalmente
CALEB CALIFRE MARTINS
 Data: 15/02/2024 23:15:58-0300
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK (Participação Virtual)
 Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
RICARDO ANTONIO POLANCZYK
 Data: 20/02/2024 19:23:39-0300
 Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MATHEUS MOREIRA DANTAS PINTO – nascido em 21 de dezembro de 1994 em Capanema-PA, filho de Devancir da Silva Pinto e Silvane Moreira Dantas Pinto. Agrônomo formado em 2017 pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, onde atuou como estagiário no Laboratório de Zoologia Agrícola, obtendo experiência com Entomologia Agrícola em pesquisas de bioecologia de moscas-das-frutas e seus parasitoides sob a supervisão do Prof. Dr. Álvaro Remígio Ayres. Na graduação foi monitor bolsista nas disciplinas de Zoologia Agrícola e Genética. Em 2017 iniciou o curso de pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, recebendo bolsa do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq), onde obteve o título de Mestre em 2019 sob a orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, atuando no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos – LBCI. Em 2019 iniciou o doutoramento pela mesma universidade e mesmo orientador, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), desenvolvendo trabalhos de pesquisa na linha de controle biológico de pragas com ênfase no grupo de predadores da família Chrysopidae, envolvendo biologia e criação de insetos pragas e diversos inimigos naturais. Em 2022 foi aprovado no processo seletivo pelo programa de internacionalização Capes-PrInt para realizar o “Doutorado Sanduíche” por um período de 1 ano na Universidade do Tennessee, nos Estados Unidos da América, sob a supervisão do Prof. Dr. Juan Luis Jurat-Fuentes, onde desenvolveu pesquisas com as proteínas Bt Vip4 e Cry3Aa, RNA interferente e *Chrysoperla rufilabris* para controle de *Leptinotarsa decemlineata*. Publicou artigos científicos em periódicos de elevado fator de impacto na área, participou de eventos científicos nacionais e internacionais, como o Simpósio de Controle Biológico e o ESA Meeting. Recebeu premiação de 2º melhor trabalho apresentado de forma oral na categoria pós-graduação/macro biológicos na competição de estudantes promovida pela Koppert no SICONBIOL 2023. Em dezembro de 2023 foi selecionado para uma bolsa do CNPq de Desenvolvimento Tecnológico Industrial – Nível A, na Embrapa Algodão.

A meus familiares, em especial meus pais, que nunca mediram esforços em me prover uma vida digna e sempre me apoiarem em meus objetivos e sonhos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelos incentivos, conselhos e apoio desde os meus primeiros momentos de vida nesse mundo.

À minha companheira Maynumi Curralo Scarano, por ser minha fortaleza nos momentos difíceis e minha parceira nos momentos de alegria.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, a qual leva a condição de orientador a outro patamar e tem dedicado e oferecido seu tempo para boas conversas e ótimos conselhos, não só para a vida acadêmica/profissional, mas também para a vida pessoal.

À grande amiga Dagmara Gomes Ramalho, pela amizade, apoio, conselhos e companhia desde minha chegada em Jaboticabal-SP.

Ao maravilhoso casal da Horta Viva Verde, Sr. Paulo e Sra. Silvia e toda sua família, pela inesperada e muito bem-vinda amizade.

Aos amigos Caroline Placidi De Bortoli e Rafael Ferreira dos Santos pela imprescindível ajuda durante meu processo de estabelecimento nos Estados Unidos.

Ao Prof. Dr. Juan Luis Jurat-Fuentes, pela reconfortante recepção durante todo o período em que estive sob sua supervisão em seu laboratório.

A equipe do Laboratório de Fisiologia e Resistência de Insetos pela amizade e orientações durante minha estadia na Universidade do Tennessee.

Aos queridos amigos Swati Mishra e Kirtan Davda por terem proporcionado meus melhores momentos do intercâmbio e pela amizade que durará a vida toda.

Ao colega Dawson Karnis, que abriu as portas da sua casa nos Estados Unidos para me hospedar quando foi necessário.

Ao professor Dr. Guilherme Duarte Rossi, por ter fornecido informações cruciais para eu poder realizar o intercâmbio.

À servidora Aline Cáceres Dutra da Silva, pelo apoio ímpar necessário para o intercâmbio ser possível e pelo excelente exemplo de como exercer sua profissão de forma profissional e empenho para atender as demandas.

Aos colegas do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, pelos momentos de trabalho e descontração.

Ao PPG de Entomologia Agrícola e seus docentes, pelas aulas e estrutura que foram de grande importância para meu processo de evolução na pós-graduação e realização dos trabalhos.

E a todos que de forma direta e indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Cultura da batata	3
2.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	4
2.3. Cultura das brassicáceas	6
2.4. <i>Plutella xylostella</i>	6
2.5. Chrysopidae	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1. Insetos	10
2.1.1. <i>Chrysoperla rufilabris</i>	10
2.1.2. <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	11
2.1.3. <i>Ceraeochrysa cincta</i>	11
2.1.4. <i>Plutella xylostella</i>	12
2.2. Proteína Cry3Aa	12
2.3. Bioensaios	14
2.3.1. Parâmetros biológicos de <i>Chrysoperla rufilabris</i> exposta de forma direta e indireta a proteína Cry3Aa	14
2.3.2. Parâmetros biológicos de <i>Ceraeochrysa cincta</i> exposta de forma direta e indireta ao produto Bt Agree®	15
2.3.3. Resposta funcional de <i>Chrysoperla rufilabris</i> associada ou não a proteína Cry3Aa predando <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	16
2.3.4. Consumo médio de <i>Ceraeochrysa cincta</i> associado ou não ao produto Bt Agree® predando <i>Plutella xylostella</i>	18

2.3.5. Sobrevivência de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> expostas a proteína Cry3Aa associada a <i>Chrysoperla rufilabris</i>	18
2.3.6. Influência da associação de <i>Chrysoperla rufilabris</i> e da proteína Cry3Aa nos danos causados em folhas de batata por <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	19
3. RESULTADOS	19
3.1. Parâmetros biológicos de <i>Chrysoperla rufilabris</i> exposta de forma direta e indireta a proteína Cry3Aa.....	19
3.2. Parâmetros biológicos de <i>Ceraeochrysa cincta</i> exposta de forma direta e indireta ao produto Bt Agree®	22
3.3. Resposta funcional de <i>Chrysoperla rufilabris</i> associado ou não a proteína Cry3Aa predando <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	26
3.4. Consumo médio de <i>Ceraeochrysa cincta</i> associado ou não ao produto bt Agree® predando <i>Plutella xylostella</i>	28
3.5. Sobrevivência de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> exposta a proteína Cry3Aa associada a <i>Chysoperla rufilabris</i>	29
3.6. Influência da associação de <i>Chysoperla rufilabris</i> e da proteína Cry3Aa nos danos causados em folhas de batata por <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	30
4. DISCUSSÃO	31
4.1. Efeitos nos parâmetros biológicos dos crisopídeos	31
4.2. Efeitos de Bt nos parâmetros predatórios dos crisopídeos.....	34
5. CONCLUSÕES	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
Juliano SA (2020) Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: Scheiner SM, Gurevitch J (Eds.). Design and analysis of ecological experiments . Oxford: Academic Press. p. 159-182.	45

ASSOCIAÇÃO DA PROTEÍNA Cry3Aa E PRODUTO BT COM *Chrysoperla rufilabris* (BURMEISTER) (NEUR: CHRYSOPIDAE) E *Ceraeochrysa cincta* (SCHNEIDER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE) PARA CONTROLE DE *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (COL: CHRYSOMELIDAE) E *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)

RESUMO – *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) são reconhecidas mundialmente como pragas-chave de plantas das famílias Solanaceae e Brassicaceae, respectivamente. Ambas as espécies já demonstraram resistência a maioria dos produtos registrados para seus controles, incluindo produtos à base de Bt (*Bacillus thuringiensis* Berliner). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a compatibilidade da proteína purificada Cry3Aa e do produto a base de Bt Agree® com os predadores *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) e *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). Para isso foram analisados os resultados da exposição direta e indireta dos predadores a proteína Cry3Aa e ao produto Agree®, avaliando-se parâmetros de biologia, além de tabela de vida de fertilidade e aspectos predatórios utilizando resposta funcional e preferência e sobrevivência dos predadores, bem como os danos de *L. decemlineata* exposta ou não a proteína Cry3Aa e a *C. rufilabris*. Não foram observadas alterações negativas nos parâmetros biológicos das duas espécies de predadores, exceto por um aumento nos parâmetros de vida de *Ce. cincta*, quando esta foi alimentada com ovos de *C. cephalonica* associados ao produto Agree. O que causou efeitos negativos foi a alimentação pelos estágios larvais das pragas. Nas condições em que as presas foram expostas a proteína Cry3Aa e ao Agree® os melhores desempenhos predatórios foram observados para os primeiros estágios larvais dos predadores, que apresentaram maiores taxas de predação quando as presas foram expostas aos produtos Bt. Foi observado efeito sinérgico e menores danos em folhas de batata quando ambas as ferramentas foram utilizadas associadas. Os resultados do presente estudo sinalizam para a compatibilidade dessas ferramentas de controle biológico, o que indica que seu uso conjunto pode ser uma alternativa para melhorar os programas de manejo integrado dessas duas importantes pragas-chave.

Palavras-chave: controle biológico, manejo, predadores, *Bacillus thuringiensis*.

ASSOCIATION OF Cry3Aa PROTEIN AND A BT-BASED PRODUCT WITH *Chrysoperla rufilabris* (BURMEISTER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE) AND *Ceraeochysa cincta* (SCHNEIDER) (NEUR.: CHRYSOPIDAE) FOR CONTROL *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (COL.: CHRYSOMELIDAE) AND *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)

ABSTRACT - *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) and *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) are recognized worldwide as key pests of plants in the Solanaceae and Brassicaceae families, respectively. Both species have shown resistance to most of the products registered for their control, including products based on Bt(*Bacillus thuringiensis* Berliner). The aim of this study was to assess the compatibility of the purified Cry3Aa protein and the Bt-based product Agree® with the predators *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) and *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). To this end, the results of direct and indirect exposure of the predators to the Cry3Aa protein and the Agree® product were analyzed, evaluating biological parameters, as well as the fertility life table and predatory aspects using functional response and predator preference and survival, as well as the damage of *L. decemlineata* exposed or not to the Cry3Aa protein and to *C. rufilabris*. No negative changes were observed in the biological parameters of the two predator species, except for an increase in the life parameters of *Ce. cincta* when it was fed *C. cephalonica* eggs associated with the Agree product. What caused negative effects was feeding by the larval stages of the pests. In the conditions in which the prey was exposed to the Cry3Aa protein and Agree®, the best predatory performances were observed for the first larval stages of the predators, which showed higher predation rates when the prey was exposed to the Bt products. A synergistic effect and less damage to potato leaves was observed when both tools were used in combination. The results of this study point to the compatibility of these biological control tools, indicating that their joint use could be an alternative for improving integrated management programs for these two important key pests.

Keywords: biological control, management, predators, *Bacillus thuringiensis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do processo de produção e purificação da proteína Cry3Aa.....	13
Figura 2. Ilustração da arena utilizada para os testes de reposta funcional.....	17
Figura 3. Taxas de sobrevivência específica (lx) e fecundidade por idade (mx) estimadas para fêmeas de <i>Chrysoperla rufilabris</i> alimentadas com ovos de <i>Ephestia kuehniella</i> não associado (A) e associado (B) com a proteína Cry3Aa.....	22
Figura 4. Taxas de sobrevivência específica (lx) e fecundidade por idade (mx) estimadas para fêmeas de <i>Ceraeochrysa cincta</i> alimentadas com ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> não associada (A) e associada (B) com o produto Agree® e lagartas de <i>Plutella xylostella</i> não tratadas (C) e tratadas (D) com o produto Agree®	25
Figura 5. Resposta funcional de larvas de 1º ínstar (A), 2º ínstar (B) e 3º ínstar (C) de <i>Chrysoperla rufilabris</i> alimentada com larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> tratadas ou não com a proteína Cry3Aa.....	27
Figura 6. Sobrevivência de larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> sem nenhum tipo de controle empregado (A), apenas com Cry3Aa (B), com larva de 3º ínstar de <i>Chrysoperla rufilabris</i> (C) e com Cry3Aa + larva de 3º ínstar de <i>Ch. rufilabris</i> (D)	29
Figura 7. Danos causados por larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> sem nenhum tipo de controle empregado (A), apenas com Cry3Aa (B), com larva de 3º ínstar de <i>Chrysoperla rufilabris</i> (C) e com Cry3Aa + larva de 3º ínstar de <i>Chrysoperla rufilabris</i> (D)	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Períodos dos estágios imaturos de <i>Chrysoperla rufilabris</i> alimentados com ovos de <i>Ephestia khueniella</i> e larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> , associados ou não a proteína Cry3Aa.....	20
Tabela 2. Fecundidade e fertilidade de <i>Chrysoperla rufilabris</i> alimentados com ovos de <i>Ephestia khueniella</i> e larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> , associados ou não a proteína Cry3Aa.....	20
Tabela 3. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de <i>Chrysoperla rufilabris</i> alimentada com ovos de <i>Ephestia khueniella</i> e larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> , associados ou não a proteína Cry3Aa.....	21
Tabela 4. Períodos dos estágios imaturos de <i>Ceraeochrysa cincta</i> alimentada com ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e larvas de <i>Plutella xylostella</i> , associados ou não ao produto Bt Agree®	23
Tabela 5. Fecundidade e fertilidade de <i>Ceraeochrysa cincta</i> alimentada com ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e larvas de <i>Plutella xylostella</i> , associados ou não ao produto Bt Agree®	23
Tabela 6. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de <i>Ceraeochrysa cincta</i> alimentada com ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> e larvas de <i>Plutella xylostella</i> , associados ou não ao produto Bt Agree®	24
Tabela 7. Parâmetros estimados resultantes da análise de regressão logística polinomial da proporção de larvas de <i>Leptinotarsa decemlineata</i> em folhas de batata, tratadas e não tratadas com Cry3Aa, predadas por <i>Chrysoperla rufilabris</i> durante 24 horas.....	26

Tabela 8. Taxa de ataque (a') (limites de confiança de 95%), tempo de manuseio (T_h) (limites de confiança de 95%) e número estimado de presas atacadas (limites de confiança de 95%) durante o período de observação ($T = 24 \text{ h}/T_h$) de *Chrysoperla rufilabris* predando larvas de *Leptinotarsa decemlineata* em folhas de batata, tratadas e não tratadas com Cry3Aa.....28

Tabela 9. Predação média de *Ceraeochrysa cincta* em larvas de *Plutella xylostella* associadas ou não com produto Bt Agree®28

1. INTRODUÇÃO

O controle de pragas consideradas pragas-chave sempre será um desafio, pois o estatus de praga-chave caracteriza espécies que normalmente apresentam alto grau de especificidade, adaptação e resiliência no ambiente, com o Besouro do colorado, *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae), e a Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), recebendo esse estatus para suas respectivas famílias botânicas-alvo (Weber, 2003; Rakow, 2004). *Leptinotarsa decemlineata* é praga-chave de espécies da família Solanaceae, com destaque para a cultura da batata, *Solanum tuberosum* (L.), enquanto *P. xylostella* é considerada de Brassicaceae, com destaque para a couve {*Brassica oleracea* (L.) var. *acephala*}, brócolis (*B. oleracea* var. *italica*) e repolho (*B. oleracea* var. *capitata*) (Rakow, 2004; Alyokhin et al., 2008).

Tanto os adultos, como as larvas de *L. decemlineata*, alimentam-se principalmente de folhas, mas podem também atacar galhos e tubérculos expostos, que, sem controle, pode resultar na perda total das culturas de batata (Logan et al., 1985; Alyokhin, 2007). Com relação à *P. xylostella*, apenas a fase larval é responsável pelos danos diretos nas folhas de e flores de brássicas (Sarfraz et al., 2011). Tal voracidade, em combinação com a elevada fertilidade e a ocorrência de resistência, coloca essas duas espécies como as principais preocupações para as áreas produtoras de batata e de brássicas (Casagrande, 1987; Talekar e Shelton, 1993; Maharijaya e Vosman, 2015; Banazeer et al., 2022).

Os problemas de resistência dessas pragas são devidos principalmente ao fato de que historicamente os inseticidas químicos perfazem o método mais utilizado na estratégia de controle de *L. decemlineata* e de *P. xylostella* (Zago et al., 2014; Ullah et al., 2022). A falta de alternativas trouxe alguns problemas, sendo essas duas pragas bem conhecidas pela elevada capacidade de desenvolver resistência aos inseticidas registrados e utilizados em seus manejos (Stankovic et al., 2012; Szendrei et al., 2012; Agboyi et al., 2016). Atualmente, *L. decemlineata* tem relato de resistência a 56 e *P. xylostella* a 95 princípios ativos, com tecnologias Bt {*Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bacillales: Bacillaceae)} inclusas para ambas as espécies (Banazeer et al., 2022; Mota-Sanches e Wise, 2023). Devido a essas espécies terem desenvolvido resistência às principais classes de produtos químicos, houve

necessidade de buscar alternativas para o controle e atualmente as opções são mais variadas (Alyokhin, 2007; Maharijaya e Vosman, 2015; Kadoić Balaško et al., 2020).

Essas alternativas incluem práticas culturais, produtos químicos sinérgicos, RNAi e agentes de controle biológico (Sexson e Wyman, 2005; Cock et al., 2010; Kaleem Ullah et al., 2022; Liu et al., 2022). O controle biológico é uma das alternativas com grande potencial, dada a crescente procura de produtos agrícolas saudáveis e orgânicos, que exigem práticas de cultivo mais sustentáveis e menos agressivas ao homem e ao ambiente (van Lenteren et al., 2017). Entre as alternativas biológicas, a bactéria gram-positiva *B. thuringiensis* é promissora (Walker et al., 2003), em especial *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* que produz a proteína Cry3A, com resultados satisfatórios para o controle de coleópteros como *L. decemlineata* através de plantas de batata transgênica que expressam o gene Cry3A responsável por codificar a proteína Cry3Aa (Perlak et al., 1993; Park et al., 2009; Mi et al., 2015). Para *P. xylostella* alguns produtos formulados já estão disponíveis no mercado há algum tempo, por exemplo o Agree®, que utiliza *B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91 e var. *hurstaki* em sua composição. No entanto, apesar dos inseticidas à base de Bt serem considerados os mais bem sucedidos entre os bioinseticidas microbianos (Raymond e Federici, 2017), ambas as espécies já possuem registro de resistência a Bt (Banazeer et al., 2022; Mota-Sanches e Wise, 2023).

Uma alternativa de controle biológico também é a utilização de predadores (Hough-Goldstein et al., 1993), entre eles os crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae). Dentre as espécies de Chrysopidae, *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister, 1839) tem grande importância na América do Norte, possuindo relatos de ocorrência em plantios de batata, e disponibilidade para venda, porém, há poucos registros da associação deste predador com pragas da família Chrysomelidae (Coleoptera), com grande escassez para *L. decemlineata* (Nordlund et al., 1991). Tratando-se da região Neotropical, *Ceraeochrysa cincta* (Schneider, 1851) (Neuroptera: Chrysopidae) possui grande destaque por ocorrer em vários agroecossistemas (Tauber e Teresa de León, 2001), e haver registros de sua associação com *P. xylostella* (De Oliveira Pimenta et al., 2020). Os adultos dessas duas espécies alimentam-se principalmente de pólen e néctar, mas as larvas são notórias pela sua voracidade contra as presas e com resultados bastante satisfatórios para grande variedade de artrópodes-praga (Principi e Canard, 1984). Essas larvas se alimentam normalmente de artrópodes de corpo mole, como pulgões, lagartas, moscas brancas e ácaros (Legaspi et al., 1994; Giles et al., 2000; Hassanpour et al., 2009; Hernández-Juárez et al., 2016).

Embora o uso de inimigos naturais seja uma alternativa importante para o manejo sustentável de *L. decemlineata* e de *P. xylostella*, isoladamente eles normalmente não são capazes de manter as densidades populacionais dessas pragas abaixo dos níveis de dano econômico (Ferro, 1994). Assim, como estratégia de Manejo Integrado de Pragas (MIP), o uso combinado de diferentes métodos de controle oferece vantagens em comparação com o uso desses métodos individualmente (Liu et al., 2014 b; Stenberg, 2017).

Um único método de controle pode criar forte pressão de seleção sobre as pragas, especialmente o químico com inseticidas sintéticos, na qual o uso combinado de diferentes métodos pode não apenas atrasar o desenvolvimento de resistência, mas também aumentar a eficiência de cada método empregado, como um efeito sinérgico (IRAC, 2018). No entanto, o fator mais importante a saber antes de selecionar quaisquer métodos é se eles são compatíveis para serem usados conjuntamente.

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a compatibilidade e eficiência do uso combinado de *Ch. rufilabris* com a proteína Cry3Aa e de *Ce. cincta* com o produto Bt Agree®, para o controle *L. decemlineata* e *P. xylostella*, respectivamente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura da batata

A batata, *S. tuberosum*, é uma planta do tipo herbácea pertencente à família botânica Solanaceae, que possui outras espécies vegetais de grande importância econômica, como por exemplo, o tomate (*Solanum lycopersicum* (L. H. Karst)). A batata é considerada anual, de preferência cultivada em clima temperado, subtropical ou tropical, pois temperatura é um dos fatores mais limitantes para o seu cultivo, já que não tolera temperaturas abaixo de 10°C e acima de 30°C (Reddy et al., 2018). É uma planta exigente em água, sendo necessário o suprimento diário para um melhor desenvolvimento e produção. A formação dos tubérculos se inicia por volta de 25 dias após o plantio e pode ser colhido por volta de 60 a 70 dias, quando atingem tamanho satisfatório para comércio, com chances de ocorrer variações em função da variedade (Reddy et al., 2018).

Acredita-se que a batata foi cultivada pela primeira vez pelo povo Inca na região dos Andes, no Chile, onde posteriormente foi introduzida na Europa por exploradores espanhóis por volta do século 16, daí levada para outros países como Inglaterra e Irlanda (Lee, 2006). Por volta de 1780, a batata ganhou grande destaque e no século 20 passou a ser considerada uma das culturas alimentares mais importantes para o consumo humano, por razões econômicas e nutricionais (Koch et al., 2019; Devaux et al., 2020; Devaux et al., 2021). Atualmente a batata é um elemento essencial para a segurança alimentar e fonte de renda, sobretudo para os países em desenvolvimento (Zhang et al., 2017), sendo cultivada em vários continentes como nas Américas, Ásia, Europa e África com área de plantio estimada de 19 milhões de hectares, com destaque para os maiores produtores, Ásia e África (Muthoni et al., 2010; Devaux et al., 2021). O tipo de consumo pode variar, mas cerca de 2/3 de toda a produção é destinada ao consumo do tubérculo fresco, com estimativa média de cerca de 50 kg de batata por pessoa por ano (Devaux et al., 2020).

Com tamanha importância socioeconômica, a cultura da batata chama a atenção de muitos pesquisadores, com o trabalho dirigido para uma produção que se adeque às exigências atuais de cultivo e que forneça um produto de qualidade e em quantidade, sem aumento significativo da área de cultivo, com menos desperdício de insumos, com segurança para o homem e outros animais, bem como ao meio ambiente (Andrivon, 2017; Smith et al., 2017; Devaux et al., 2020). Esses desafios se tornam ainda maiores frente ao ataque de pragas, com destaque para *L. decemlineata* (Weber, 2003), cuja principal forma de controle ainda é a utilização de inseticidas químicos.

2.2. *Leptinotarsa decemlineata*

L. decemlineata originalmente não era praga de batata, uma vez que não compartilharam o mesmo centro de origem, que se acredita ser no México. Porém, com a introdução dessa espécie na Europa, durante a Primeira Guerra Mundial, de forma acelerada se adaptou e tornou-se a praga mais destrutiva para a cultura da batata (Hare, 1990; Radcliffe e Lagnaoui, 2007). Cerca de 158 países e territórios cultivam batata em todo o mundo, sendo na América do Norte, Europa e Ásia que os produtores enfrentam os maiores problemas com as infestações de *L. decemlineata* que é ausente no Brasil (Weber, 2003; Devaux et al., 2021). Os maiores danos podem ser identificados nas folhas, porém em caso

de superpopulação ou escassez de folhas, tanto as larvas como os adultos podem se alimentar dos ramos e tubérculos (Horton et al., 1997).

Os adultos iniciam a alimentação logo que emergem do solo (onde passam a fase pupal), em seguida as fêmeas iniciam a oviposição por volta de 5-10 dias após a emergência. A oviposição ocorre na superfície das folhas e as larvas começam a consumir a área foliar logo após a eclosão (Hare, 1990). A fase larval tem 4 ínstaes que se completam num período de 10-20 dias, sendo elas mais vorazes à medida que os ínstaes avançam (Ferro et al., 1985). A fase adulta é relativamente longa, onde pode variar de 55 a 120 dias, em média (Peferoen et al., 1981).

Devido a adaptações genéticas, *L. decemlineata* é conhecida por desenvolver resistência a inseticidas de forma acelerada (Stanković et al., 2004), o que faz os produtores utilizarem dosagens mais elevadas de inseticidas químicos e com maiores números de aplicações, na esperança de sanar o problema, porém, para a seleção de populações cada vez mais resistentes e de modo mais rápido (Maharijaya e Vosman, 2015). Dosagens maiores acompanhado de pulverizações cada vez mais frequentes torna o cultivo de batata menos sustentável e mais prejudicial para o ambiente e saúde humana (Wustman e Carnegie, 2000). Inclusive já foi possível selecionar populações resistentes em laboratório a um dos mais novos produtos (a base de dsRNA) desenvolvidos para o controle de *L. decemlineata* (Mishra et al., 2023).

Devido a isso, a demanda mundial por alimentos mais saudáveis e de cultivo sustentável, tem sido observado grande esforço na procura de estratégias de controle mais seguras e seletivas para o controle de *L. decemlineata*, com os inimigos naturais incluídos nesse processo (Alyokhin et al., 2015). Porém, os estudos ainda são muito incipientes e com poucos registros de inimigos, sejam predadores ou parasitoides (Maharijaya e Vosman, 2015). Espécies de inimigos naturais, como *Pterostichus melanarius* (Illiger, 1798) (Coleoptera: Carabidae), *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae), e alguns isolados de Bt como *Bacillus pumilus* (Meyer and Gotthell), *B. cereus* Frankland & Frankland e *B. megaterium* de Bary, já foram explorados em estudos para avaliar suas eficiências no controle de *L. decemlineata* (Erturk et al., 2008; Alvarez et al., 2013; Sablon et al., 2013), porém ainda sem resultados concretos de utilização em campo.

2.3. Cultura das brassicáceas

Brassicaceae compreende cerca de 375 gêneros e 3500 espécies descritas (Sarfraz al., 2006). Em *Brassica* existem cerca de 159 espécies descritas, com algumas consideradas “selvagens” (Zhou et al., 2012). No Brasil há cerca de sete gêneros e de 50 espécies de brássicas, entre as principais destacam-se: couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), repolho (*B. oleracea* var. *capitata*), brócolis (*B. oleracea* var. *italica*), couve manteiga (*B. oleracea* var. *acephala*), rúcula (*Eureca sativa* Mill), rabanete (*Raphanus sativus* L.), nabo (*Brassica rapa* L. var. *rapa*) e o agrião (*Rorippa nasturtium-aquaticum* L.) (Raza et al., 2020).

Durante o cultivo, diversas pragas podem atacar as plantas da família Brassicaceae (Squires et al., 2009), o que é um dos fatores mais limitantes para o seu cultivo. Dentre estas pragas estão: a traça-das-crucíferas, *P. xylostella*; *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) e *Pieris rapae* (L., 1758) (Lepidoptera: Pieridae); os pulgões *Brevicoryne brassicae* (L., 1758) e *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae); e *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Vasicek et al., 2003; Shelton e Nault, 2004; Ulusoy e Ölmez-Bayham, 2006; Ikeura et al., 2010; Schlick-Souza et al., 2011; Olaniyi et al., 2021).

Os custos para o controle de *P. xylostella* podem atingir bilhões de reais ao ano em todo o mundo (Zaluchi et al., 2012), devido principalmente aos agroquímicos utilizados (Villas Bôas et al., 2004), isso porque o método químico ainda é a primeira estratégia empregada para o controle desta praga. Porém, diversos estudos têm sido conduzidos com o intuito de explorar o potencial de predadores e de parasitoides para seu biocontrole (Ponce et al., 2022; Wang et al., 2023).

2.4. *Plutella xylostella*

A mariposa *P. xylostella* é um inseto especialista de brássicas e ocorre em todas as áreas que se tem plantio dessas culturas (Talekar e Shelton, 1993). Trata-se de um inseto holometábolo, portanto com quatro estágios de desenvolvimento durante seu ciclo de vida, ovo, larva (lagarta) com quatro ínstares, pupa e adulto (Talekar e Shelton, 1993). Estes estágios podem sofrer variações em sua duração, estendido ou atrasado, em função principalmente com a temperatura (Dias et al., 2004; Golizadeh et al., 2007). Essas

mudanças podem ser morfológicas, fisiológicas ou biológicas, como perda de apetite, diminuição de movimento, mudança de coloração e diminuição da sensibilidade, dentre outras (Viana et al., 2009)

Os ovos podem ser colocados individualmente ou agrupados, na maioria das vezes na parte abaxial das folhas, apresentam período de incubação de 2 a 3 dias (Justus e Mitchell, 1996). As lagartas de primeiro ínstar não consomem a parte externa das folhas, ao invés disso, penetram no interior do parênquima foliar onde constroem pequenas galerias de alimentação, até a passagem para o segundo instar, com 2 ou 3 dias após a eclosão (Eigenbrode et al., 1991). Nesta fase, já com uma coloração verde-clara e cabeça parda, abandonam as galerias no mesófilo foliar e passam a se alimentar da epiderme inferior da folha (Talekar e Shelton, 1993). O período larval se completa no 4º ínstar, com as lagartas com aproximadamente de 8 a 10 mm de comprimento, em 9 a 10 dias, quando iniciam a confecção do casulo de seda branca onde passam a pupa (Eigenbrode et al., 1991).

O adulto é um microlepidóptero de 8 a 10 mm de comprimento, com asas de coloração parda e manchas pretas que, quando dobradas em repouso, formam um desenho prismático prateado, fato que faz alusão ao seu nome comum na língua inglesa “diamondback moth”. Macho e fêmea apresentam tamanho semelhante, sendo possível observar o dimorfismo sexual pela parte final e ventral do abdômen, onde o macho apresenta uma espécie de “fenda” e a fêmea duas manchas circulares com coloração escura (Atay et al., 2019).

O acasalamento ocorre com mais frequência na luz crepuscular, já após o primeiro dia de vida adulta, e é após o entardecer e a noite que sua atividade se intensifica, com a oviposição que ocorre algumas horas depois da cópula. Macho e fêmea podem chegar a 12 dias de longevidade, com oviposição até o 10º dia, com capacidade de colocar de 150 a 360 ovos (Abro et al., 1992).

Alguns estudos apontam a Europa, o Mediterrâneo e a China como locais de origem da traça-das-crucíferas, sendo estes considerados como centro de origem também das brássicas. Atualmente a espécie pode ser encontrada em qualquer continente em que haja presença de suas plantas hospedeiras (Talekar e Shelton, 1993; Campos et al., 2006; Juric et al., 2017; Campos e Ortiz, 2020).

Para tentativa de controle de *P. xylostella*, desde o início do século XX, o tratamento químico é considerado o principal método, o que gerou o desenvolvimento de populações resistentes, conseqüentemente com o aumento da frequência de aplicações (Cheng, 1988).

Este aumento do uso de inseticidas, não só contribui com o avanço do problema de resistência, como também para os problemas ambientais e de saúde pública, uma vez que o acúmulo de resíduos no ambiente pode causar quadros toxicológicos e desequilíbrio ecológico, tendo efeito nocivo também para os inimigos naturais (De Bortoli et al., 2013). *Plutella xylostella* foi o primeiro inseto a desenvolver resistência ao DDT, constatado a apenas 3 anos após o início de sua utilização (Ankersmit, 1953). Alguns anos depois o número de registros de resistência desta espécie aumentou para mais de 80 ingredientes ativos em todo o mundo, como abamectina, deltametrina, piretroides, fosforados e produtos mais recentes como as diamidas antranílicas (Castelo Branco e Melo, 2002; Praça et al., 2010; Wang e Wu, 2012).

2.5. Chrysopidae

Chrysopidae é conhecida por possuir representantes predadores e ser de uma das ordens mais antigas (Neuroptera), com registros de fósseis datados entre 300 e 250 milhões de anos (Winterton et al., 2010; Liu et al., 2014a; Badano et al., 2017). Junto dela, as famílias Hemerobiidae, Myrmeleontidae e Mantispidae também são bastante conhecidas, com espécies distribuídas por todo o globo, exceção feita a Antártida, e Chrysopidae e Myrmeleontidae são as famílias mais diversas em número de espécies com cerca de 1.300 e 1.500 espécies descritas respectivamente (Aspök, 2002; Oswaldo e Machado, 2018).

Os crisopídeos são chamados popularmente de “bicho-lixeiro”, nome atribuído ao comportamento que algumas espécies possuem de acumular no dorso os restos de presas e pequenos detritos que encontram por onde caminham, estratégia utilizada como defesa e camuflagem contra possíveis ataques de predadores (Adams e Penny, 1985). O material que compõe o lixo pode ser de várias fontes, particularmente exoesqueletos de suas presas, exúvias de artrópodes, pequenas folhas, pelos de animais, líquens, cascas de árvores, ceras de insetos (Smith, 1926; Canard e Volkovich, 2001) e até pedaços de papel colocados como refúgio em criações de laboratório. Outra função importante do acúmulo desses detritos é auxiliar na confecção da pupa. Este material se mantém preso ao corpo das larvas graças a inúmeras cerdas presentes desde seu dorso até o final do abdômen (Smith, 1926; New, 1969).

Crisopídeos também são conhecidos pela oviposição muito característica, que consiste em ovos presos a um pedicelo que mantém os ovos suspensos, que servem de uma ótima estrutura física e química de proteção, visto que algumas espécies depositam substâncias repelentes nesses pedicelos, o que auxilia na proteção contra predação dos ovos (Duelli e Johnson, 1992; Eisner et al., 1996). Os ovos, na maioria das espécies, possuem coloração esverdeada, com tendência a ficarem acinzentadas à medida que o desenvolvimento embrionário avança e fica mais próximo da eclosão das larvas, com os ovos podendo ser colocados de forma isolada ou em grupo (Gepp, 1984; Freitas, 2002).

Do ponto de vista aplicado ao controle biológico, a larva é a que recebe maior destaque pois é a fase predadora, com algumas raras exceções de espécies onde adultos também podem ser predadores (Principi e Canard, 1984). As larvas são do tipo campodeiforme, e são reconhecidas pelo aparelho bucal bem desenvolvido e assemelhando a uma pinça, com mandíbulas e maxilas justapostas que formam um tubo que funciona como um canudo por onde o conteúdo interno das presas é ingerido (Souza, 1999). As larvas apresentam três instares, que podem ser identificadas por duas características morfológicas: nos gêneros *Ceraeochrysa* Adams, 1982, *Chrysopodes* Navás, 1913 e *Leucochrysa* McLachlan, 1868 as larvas geralmente são mais claras e carregam detritos no dorso, além de apresentarem o corpo mais ovalado e recoberto por cerdas mais longas (Lamunyon e Adams, 1987; Tauber et al., 2014). Por outro lado, espécies do gênero *Chrysoperla* Steinmann, 1964 apresentam o corpo mais alongado, possuindo também cerdas mais curtas (Lamunyon e Adams, 1987; Tauber et al., 2014). Dos gêneros da família Chrysopidae, *Ceraeochrysa* e *Chrysoperla* são os mais estudados e aqueles com maior destaque (Albuquerque et al., 2001). *Ceraeochrysa* recebe grande destaque principalmente tratando-se da região Neotropical, no qual esse gênero é frequentemente observado em vários agroecossistemas (Sosa-Duque e Tauber, 2021).

Os adultos apresentam asas membranosas e hialinas, repletas de longas nervuras (Brooks e Barnard, 1990). Algumas espécies são de coloração castanho-escura, avermelhada e mais raramente amarela (Albuquerque, 2009; Bestete et al., 2019). Na grande maioria das espécies a alimentação é basicamente a base de néctar e pólen, bem como de “honeydew” (Principi e Canard, 1984).

Um dos motivos que tem despertado a atenção sobre crisopídeos é que esse grupo de insetos possui registro nos mais diversos ambientes e com diferentes tipos de vegetação,

desde plantas de porte arbóreo até herbáceas, florestas e agroecossistemas, inclusive monocultivos, como plantios de algodão, milho, cana-de-açúcar, pimenta, pimentão, entre outros (McEwen et al., 2001), o que confere uma grande plasticidade ecológica desses indivíduos (Freitas e Penny, 2001; Gitirana Neto et al., 2001; Freitas, 2002; Souza e Carvalho, 2002; Costa et al., 2010). Apesar da ocorrência em agroecossistemas, a diversidade de espécies é menor quando comparado com ambientes de mata nativa, por exemplo (Resende et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Insetos

2.1.1. *Chrysoperla rufilabris*

A população de *Ch. rufilabris* teve origem em ovos obtidos de uma biofábrica comercial (Beneficial Insectary, 9664 Tanqueray Ct, Redding CA 96003, EUA). A população foi estabelecida seguindo a metodologia adaptada por Freitas (2001) na Universidade do Tennessee. Aproximadamente 20 casais foram mantidos em incubadora (Percival, Perry, IA) em condições controladas ($T = 26 \pm 1$ °C; UR = 75,0%; e fotoperíodo = 12L:12E) acondicionados em gaiolas plásticas cilíndricas (16,0 cm de diâmetro x 20,0 cm de altura) com o interior coberto com papel sulfite para servir de substrato de oviposição. As gaiolas foram cobertas com um tecido tipo “voile” na parte superior, sendo a porção inferior assentada um pote de plástico (17,0 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura). A dieta dos adultos foi uma mistura de mel e levedura de cerveja (1:1), sendo fornecida diariamente sobre um pedaço de algodão umedecido acoplado em um tubo plástico contendo água destilada, colocado no topo da gaiola. Os ovos foram recolhidos de três em três dias utilizando-se uma lâmina de estilete para seccionar os pedicelos e, em seguida, foram acondicionados em copos tipo de café (50,0 ml) com tampa, numa proporção de 3 ovos por copo. Durante toda a fase imatura, o predador foi mantido nos copos e alimentado diariamente *ad libitum* com ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) até a fase pupal.

2.1.2. *Leptinotarsa decemlineata*

A população de *L. decemlineata* foi obtida a partir de adultos, ovos e larvas recolhidos em treze locais de nove estados dos EUA (Maine, Minnesota, Nova Iorque, Carolina do Norte, Oregon, Pensilvânia, Tennessee, Washington e Wisconsin). Os espécimes coletados foram levados à Universidade do Tennessee, onde as populações foram estabelecidas. Durante seis meses, cada população foi criada separadamente, sendo depois agrupada para gerar a população GC (General Colony) utilizada neste estudo.

As populações foram mantidas em gaiolas de alumínio (61,0 cm de largura e altura x 122,0 cm de comprimento) em casa-de-vegetação com condições controladas ($T = 27 \pm 3$ °C; umidade relativa > 70%; e fotoperíodo = 18L:6E), sendo alimentadas *ad libitum* com plantas de batata (*Solanum tuberosum* var. Désirée). As plantas de batata foram cultivadas em vasos de 11,3 litros, sem a utilização de agrotóxicos, no “University of Tennessee AgResearch Plateau and Education Center” (Crossville, TN). Os ovos foram recolhidos de dois em dois dias e transferidos para gaiolas de larvas (o mesmo modelo descrito) e mantidos nas mesmas condições que os adultos.

2.1.3. *Ceraeochrysa cincta*

A criação estoque de *Ce. cincta* foi conduzida de acordo com a metodologia adaptada de Freitas (2001) na Universidade estadual paulista, em condições controladas ($T = 26 \pm 1$ °C; UR = 75,0%; e fotoperíodo = 12L:12E) e foram utilizadas gaiolas cilíndricas (20,0 cm de diâmetro x 20,0 cm de altura) com o interior coberto com papel sulfite para servir de substrato de oviposição. As gaiolas foram cobertas com tecido tipo “voile” na parte superior e assentadas em um pote plástico (17,0 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura). A dieta dos adultos consistiu em uma mistura de mel e levedura de cerveja (1:1), fornecida diariamente em um pedaço de algodão umedecido acoplado em um tubo plástico colocado no topo da gaiola. Os ovos foram recolhidos de três em três dias e utilizou-se uma lâmina de estilete para cortar os pedicelos e, em seguida, acondicionados em tubos de ensaio de fundo chato (8,0 cm x 2,5 cm), numa proporção de 3 ovos por tubo. Durante toda a fase imatura o predador foi mantido nesses tubos e alimentado diariamente *ad libitum* com ovos de *Corcyra cephalonica*.

(Stainton, 1866) (Lepidoptera: Pyralidae) até a fase pupal. Os espécimes de crisopídeos da população foram devidamente confirmados como *C. cincta* pelo taxonomista Dr. Caleb Califre Martins.

2.1.4. *Plutella xylostella*

Os insetos foram obtidos de coletas de campo da região de Jaboticabal e foram criados em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, segundo a metodologia de Barros e Vendramim (1999). O substrato para alimentação e oviposição de *P. xylostella* foi folhas de couve (*B. oleracea* var. *acephala*, cv. Manteiga), cultivada em área experimental da FCAV - Unesp, Campus de Jaboticabal (campo e casa-de-vegetação).

Adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas plásticas circulares transparentes (13,0 cm de diâmetro x 15,0 cm de altura), com uma abertura lateral retangular de 10,0 cm x 5,0 cm, coberta por tecido tipo “voile”, e outra na extremidade oposta de 10,0 cm x 2,0 cm para troca dos discos foliares (substrato para oviposição) e fechada com filme plástico de PVC. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10,0%, embebida em esponja presa na parte superior da gaiola.

No interior das gaiolas foram colocados discos de folha de couve de 8,0 cm de diâmetro (substrato para a oviposição), sobre discos de papel filtro umedecidos de 9,0 cm de diâmetro. Como suporte para os discos foliares foi utilizado um copo plástico transparente descartável de 250,0 mL colocado em posição invertida no interior da gaiola. Esses discos de couve, juntamente com o disco de papel, foram trocados diariamente por três dias consecutivos e acondicionados em placas de Petri descartáveis (9,0 cm de diâmetro) até a eclosão das lagartas. Após a eclosão, os discos com as lagartas foram transferidos para recipientes plásticos (27,0 cm de comprimento x 17,0 cm de largura x 8,0 cm de altura) e folhas de couve foram oferecidas para alimentação. A troca das folhas do recipiente foi feita diariamente até que os insetos atingissem a fase de pupa.

2.2. Proteína Cry3Aa

Uma colônia isolada de *B. thuringiensis* subsp. *morrisoni* biovar *tenebrionis* (“Bacillus Genetic Stock Center”, Columbus, OH) foi utilizada para inocular frascos com 1/3 de meio de cultivo (TSB). As culturas foram incubadas durante 3 dias (28 °C, 160 rpm de agitação) até à esporulação, que foi confirmada por observação microscópica. As culturas foram centrifugadas durante 10 min (10.000 rpm) e os “pellets” foram lavados com NaCl 1 M; 0,1% de Triton X-100, repetindo-se esse processo três vezes e seguido de três lavagens com água destilada. O “pellet” final foi resuspenso com solução solubilizante (50 mM Na₂CO₃, 0,1% β-mercaptoetanol, 0,1 M NaCl) e incubado durante a noite (30 °C, 200 rpm). A solução solubilizada foi centrifugada durante 30 minutos (14.500 rpm) e o sobrenadante foi transferido para uma coluna HiTrap Q HP pré-equilibrada com tampão A (50 mM Na₂CO₃, pH 9) para o processo de purificação por troca aniônica em um sistema AKTA FPLC (GE Healthcare). A diluição foi efetuada com um gradiente linear do tampão B (tampão A com 1 M de NaCl). As frações que continham uma banda com o tamanho esperado da proteína Cry3Aa (~ 73 kDa) foram identificadas por gel SDS-10%PAGE. As frações foram então agrupadas e quantificadas, conforme descrito por Bradford (1976), com BSA como padrão e mantidas a -80 °C até serem utilizadas nos bioensaios.

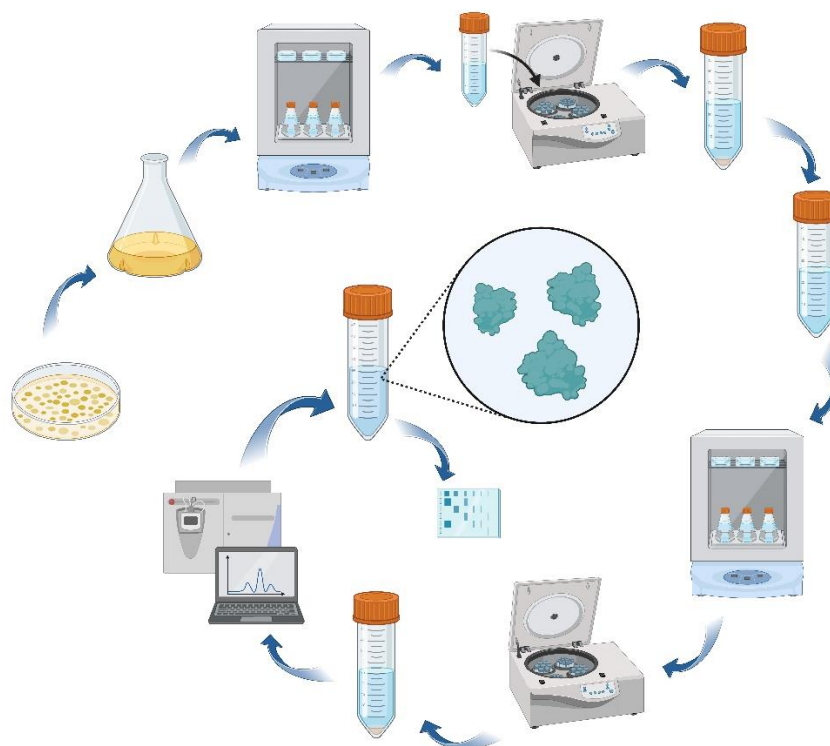


Figura 1. Esquema do processo de produção e purificação da proteína Cry3Aa.

2.3. Bioensaios

2.3.1. Parâmetros biológicos de *Chrysoperla rufilabris* exposta de forma direta e indireta a proteína Cry3Aa

Para avaliar os parâmetros biológicos de *Ch. rufilabris* foram utilizadas larvas de 2º instar. Os bioensaios foram feitos em duas etapas (50 larvas por etapa), que totalizaram 100 larvas para cada tratamento, que foram: ovos de *E. kuehniella* (como controle); ovos de *E. kuehniella* + 2µl da proteína Cry3Aa (ingestão direta para *Ch. rufilabris*); larvas de 2º instar de *L. decemlineata*; larvas de 2º instar de *L. decemlineata* previamente infectada pela proteína Cry3Aa através de folhas de batata tratadas pelo método “leaf dip” de acordo com Liu e Stansly (1995) (ingestão indireta para *Ch. rufilabris*). A concentração da proteína Cry3Aa utilizada foi a CL₅₀ (4,22 µg/ml) previamente estabelecida por Mishra et al. (2021).

Os tratamentos foram oferecidos diariamente para as larvas até atingirem a fase de pupa. Nesse período foram avaliados o tempo de cada instar larval, período pupal e viabilidade da fase imatura. Com a emergência dos adultos foram formados 15 casais que foram alimentados com mistura de mel e levedo de cerveja na proporção de 1:1. Durante fase adulta as avaliações foram realizadas a cada 24 h, determinando-se a longevidade de machos e de fêmeas, período de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, o número de ovos por fêmea, período de incubação e viabilidade dos ovos.

Além dessas análises foram construídas tabelas de vida de fertilidade, de acordo com Birch (1948), Silveira Neto et al. (1976), Southwood (1978) e Maia et al. (2000), com os seguintes parâmetros avaliados: x = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais, idade essa considerada desde a fase de ovo; lx = expectativa de vida até a idade x (fração de uma fêmea); mx = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade x e que originarão fêmeas; $lx \cdot mx$ = número total de fêmeas nascidas na idade x .

Com os parâmetros de crescimento populacional resultantes da tabela de vida, foram calculados os valores de R_0 = taxa líquida, ou seja, a taxa de aumento populacional, considerando fêmeas de uma geração para outra, ou ainda, o número de fêmeas geradas

por fêmea parental por geração; T = tempo médio de geração ou duração média de uma geração; r_m = capacidade inata de aumentar em número ou taxa intrínseca de aumento; λ = razão finita de aumento (número de vezes que a população multiplica em uma unidade de tempo). Determinou-se também TD (tempo necessário para a população duplicar em número), segundo Krebs (1994).

As características biológicas de *Ch. rufilabris* foram analisadas em delineamentos inteiramente casualizados (DIC). Os dados encontrados foram submetidos aos testes de normalidade (teste de Kolmogorov) e de homogeneidade da variância (teste de Bartlett) e, quando necessário, foram transformados para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Quando os dados atenderam aos requisitos foram submetidos à ANOVA e, quando as interações foram significativas, as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não atenderam aos requisitos foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e comparados pelo teste de Wilcoxon a 5%. Todas as análises foram realizadas empregando-se o software SAS (SAS Institute, 2015).

2.3.2. Parâmetros biológicos de *Ceraeochrysa cincta* exposta de forma direta e indireta ao produto Bt Agree®

Para avaliar os parâmetros biológicos de *Ce. cincta* foram utilizadas larvas de 2º ínstar. Os bioensaios foram feitos em duas etapas (utilizando-se 50 larvas por etapa) totalizando 100 larvas para cada tratamento, que foram: ovos de *C. cephalonica* (como controle); ovos de *C. cephalonica* + 2,0 µl do produto Agree® (ingestão direta para *Ce. cincta*); larvas de 2º ínstar de *P. xylostella*; larvas de 2º ínstar de *P. xylostella* previamente infectada pelo produto Agree® através da alimentação de folhas de couve tratadas com o produto pelo método “leaf dip” de acordo com Liu e Stansly (1995) (ingestão indireta para *Ce. cincta*). A concentração do produto Agree® utilizada foi a referente a CL₅₀ da concentração indicada pelo fabricante (150,0 g/L). Os tratamentos foram oferecidos diariamente para as larvas até atingir a fase de pupa. Nesse período foram avaliados o tempo de cada ínstar larval, período pupal e viabilidade da fase imatura. Com a emergência dos adultos foram formados 15 casais que receberam como alimento uma mistura de mel e levedo de cerveja na proporção de 1:1. Durante fase adulta as avaliações foram realizadas a cada 24 h, onde foram determinada a

longevidade de machos e de fêmeas, período de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, o número de ovos por fêmea, período de incubação e viabilidade dos ovos.

Além dessas análises, também foram construídas tabelas de vida de fertilidade como descrito no item 2.2.2.

As características biológicas de *Ce. cincta* foram analisadas em delineamentos inteiramente casualizados (DIC). Os dados encontrados foram submetidos aos testes de normalidade (teste de Kolmogorov) e de homogeneidade da variância (teste de Bartlett) e, quando necessário, foram transformados para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Quando os dados atenderam aos requisitos foram submetidos à ANOVA e, quando as interações foram significativas, as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não atenderam aos requisitos foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e comparados pelo teste de Wilcoxon a 5%. Todas as análises foram realizadas empregando-se o software SAS (SAS Institute, 2015).

2.3.3. Resposta funcional de *Chrysoperla rufilabris* associada ou não a proteína Cry3Aa predando *Leptinotarsa decemlineata*

Para avaliar a resposta funcional de *Ch. rufilabris* em condições de laboratório foram utilizadas larvas de 2º instar de *L. decemlineata* como presas. Para todos os instares larvais do predador, as densidades de presas foram definidas após testes preliminares para identificar o número mínimo e máximo de larvas consumidas pelo predador em 24h. As densidades foram (2, 4 e 8), (2, 4, 8 e 16) e (2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128) para o primeiro, segundo e terceiro instares do predador, respectivamente. Foram realizadas 15 repetições (uma larva do predador por repetição) para todas as densidades. A arena foi consistida por um ramo de batata tratado e não tratado com a proteína Cry3Aa pelo método “leaf dip” (aproximadamente 15,0 cm de comprimento) contendo 5 folhas. Os ramos foram tratados por imersão durante 10 segundos nas soluções e, depois de tratadas, foram mantidas em uma câmara de fluxo para secagem. As larvas de *L. decemlineata* foram liberadas nos ramos com o auxílio de um pincel, seguidas pelas larvas do predador. Durante todo o período do bioensaio (24h) os ramos foram mantidos com o pedicelo em copo plástico (180,0 ml) com água destilada para manter seu vigor. Em seguida, as arenas foram colocadas dentro de recipientes plásticos (2,0 L). Todas as larvas de *Ch. rufilabris* utilizadas foram submetidas a

um período de jejum de 12 horas antes da instalação dos bioensaios. O consumo de presas foi registrado após 24 h, pela contagem do número de larvas consumidas.

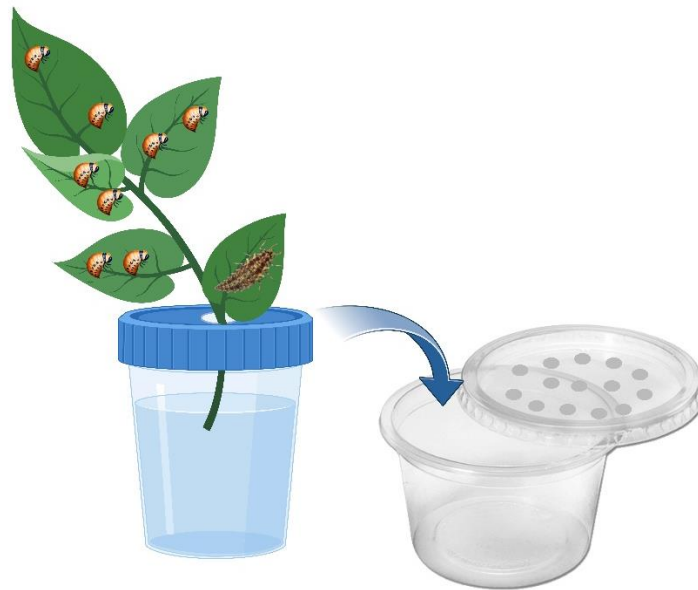


Figura 2. Ilustração da arena utilizada para os testes de reposta funcional.

A resposta funcional exibida por *Ch. rufilabris* foi estimada pela determinação da curva de resposta funcional através de análise de regressão logística polinomial usando o “Proc CATMOD” no SAS (SAS Institute, 2015). A relação entre o número de presas em função das densidades e do número de presas consumidas foram determinados pela seguinte função polinomial:

$$\frac{N_a}{N_0} = \frac{\exp (P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)}{1 + (P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)},$$

onde: (N_a) representa o número de presas consumidas; (N_0) representa o número de presas oferecidas; (P_0 , P_1 , P_2 e P_3) representam a constante linear, quadrática e cúbica respectivamente. O sinal do coeficiente linear foi usado para determinar a forma da curva da resposta funcional. Coeficiente linear negativo ($P_1 < 0$) e coeficiente linear positivo ($P_1 > 0$) indicam os tipos de resposta funcional II e III, respectivamente (Juliano, 2020).

A taxa de ataque (a' , tempo necessário para matar a presa) e o tempo de manipulação (T_h , tempo necessário para manipular a presa) também foram determinados pela resposta funcional. Para isso, foi realizado análise de regressão não linear, usando o “Proc NLIN” no

SAS, e os parâmetros foram comparados baseados nos intervalos de confiança (95%) obtidos, como a seguir:

$$N_a = N_0 \{1 - \exp[a' (T_h N_0 - T)]\},$$

onde: (N_a) representa o número de ovos consumidos; (N_0) representa o número de ovos ofertados; (a') taxa de ataque; (T_h) tempo de manipulação; (T) tempo que o predador teve acesso a presa (24h). A diferença das médias foi considerada estatisticamente significativa ($\alpha = 0,05$) se não houvesse sobreposição dos intervalos de confiança entre as médias dos tratamentos.

2.3.4. Consumo médio de *Ceraeochrysa cincta* associado ou não ao produto Bt Agree® predando *Plutella xylostella*

O consumo médio de larvas de *P. xylostella* por *Ce. cincta* foi analisado em delineamentos inteiramente casualizados (DIC). As arenas continham discos foliares de couve tratados e não tratados com o produto Agree® pelo método “leaf dip”, foram oferecidas 30 e 40 larvas de *P. xylostella* (de segundo ínstar) para o segundo e terceiro ínstaes do predador e após 24 horas foram contabilizados os indivíduos predados. Foram realizadas 15 repetições (uma larva do predador por repetição) para todas as densidades. Os dados encontrados foram submetidos aos testes de normalidade (teste de Kolmogorov) e de homogeneidade da variância (teste de Bartlett) e, quando necessário, transformados para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Quando os dados atenderam aos requisitos foram submetidos à ANOVA e, quando as interações foram significativas, as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando não atenderam aos requisitos foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e comparados pelo teste de Wilcoxon a 5%. Todas as análises foram realizadas empregando-se o software SAS (SAS Institute, 2015).

2.3.5. Sobrevivência de *Leptinotarsa decemlineata* expostas a proteína Cry3Aa associada a *Chrysoperla rufilabris*

A sobrevivência das larvas de *L. decemlineata* nas folhas com os respectivos tratamentos foi observada durante 7 dias. Os tratamentos foram: T1 - Água + Tween 0,1%; T2 - LC₅₀ Cry3Aa + Tween 0,1%; T3 - Água + larva de terceiro ínstar de *Ch. rufilabris*; T4 - LC₅₀ Cry3Aa + larva de terceiro ínstar de *Ch. rufilabris*. Os ramos foram tratados por imersão durante 10 segundos nas soluções, e em seguida colocados em câmara de fluxo laminar para secagem. Após a secagem, foram libertadas 15 larvas de segundo ínstar de *L. decemlineata* e 1 larva de terceiro ínstar de *Ch. rufilabris* para cada repetição (10 repetições). O terceiro ínstar do predador foi selecionado com base nos melhores resultados de predação obtidos nos testes de resposta funcional.

2.3.6. Influência da associação de *Chrysoperla rufilabris* e da proteína Cry3Aa nos danos causados em folhas de batata por *Leptinotarsa decemlineata*

A partir dos testes de sobrevivência de *L. decemlineata* aos tratamentos acima citados, os ramos de batata utilizados passaram por uma avaliação de danos. Os níveis de danos nas folhas de batata foram determinados por um sistema de classificação visual com uma escala de 0 a 5, segundo Ferro et al. (1983), em que: 0 = sem danos visíveis, 1 = menos de 10%, 2 = 10-25%, 3 = 26-50%, 4 = 51-75% e 5 = 76-100% de danos.

3. RESULTADOS

3.1. Parâmetros biológicos de *Chrysoperla rufilabris* exposta de forma direta e indireta a proteína Cry3Aa

Em relação aos períodos médios dos estágios de imaturos de *Ch. rufilabris* alimentandos com presas associadas ou não com a proteína Cry3Aa não foram obtidas diferenças significativas nos períodos larvais, quando comparadas entre as mesmas espécies de presas com ou sem associação de Cry3Aa (Tabela 1). Houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparadas entre as duas espécies de presas, onde foi observado um atraso de cerca de 2 dias para o 1º ($\chi^2 = 44,82$; df = 3; $P < 0,001$) e 2º ($\chi^2 = 81,45$; df = 3; $P < 0,001$) ínstaes, de 5 dias para o 3º ($\chi^2 = 83,63$; df = 3; $P < 0,001$)

instar e de 7 dias para o período pupal ($\chi^2 = 53,15$; $df = 3$; $P < 0,001$) de *Ch. rufilabris* quando alimentado com larvas de *L. decemlineata* nas duas condições, com ou sem associação de Cry3Aa (Tabela 1). Além disso, a alimentação exclusiva de larvas de *L. decemlineata* nas duas condições causou uma baixa viabilidade dos estágios imaturos de *Ch. rufilabris* quando comparados as alimentações a base de ovos de *E. khueniella* ($F = 44,62$; $df = 3$; $P < 0,001$) (Tabela 1).

Tabela 1. Períodos dos estágios imaturos de *Chrysoperla rufilabris* alimentados com ovos de *Ephestia khueniella* e larvas de *Leptinotarsa decemlineata*, associados ou não a proteína Cry3Aa.

Estágios	<i>E. kuehniella</i>	<i>E. kuehniella</i> + Cry3Aa	<i>L. decemlineata</i>	<i>L. decemlineata</i> + Cry3Aa
1º instar	2,76 ± 0,76 a	2,93 ± 0,25 a	4,10 ± 0,88 b	3,93 ± 0,88 b
2º instar	3,34 ± 0,48 a	3,36 ± 0,48 a	5,50 ± 0,77 b	5,30 ± 0,54 b
3º instar	3,03 ± 0,19 a	3,26 ± 0,45 a	8,13 ± 0,68 b	8,20 ± 0,72 b
Pupa	8,80 ± 0,49 a	8,64 ± 0,74 a	15,78 ± 0,89 b	16,20 ± 0,94 b
Viabilidade	98,60 ± 0,88 a	96,00 ± 3,05 a	43,30 ± 8,81 b	36,60 ± 3,33 b

¹Médias (± EP) na mesma linha seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes (Teste de Kruskal-Wallis, $P < 0,05$).

Não foram constatadas diferenças significativas ao analisar os dados de fecundidade e fertilidade de *Ch. rufilabris*, alimentanda com presas associadas ou não com a proteína Cry3Aa (Tabela 2). Os períodos de pré-oviposição ($F = 1,92$; $df = 1$; $P = 0,1772$) observados ficaram em torno de 4 dias, os de oviposição ($F = 0,02$; $df = 1$; $P = 0,8856$) em 41 dias e os de pós-oviposição ($\chi^2 = 0,0029$; $df = 1$; $P = 0,9574$) em 1 dia. O número de ovos por fêmea ($F = 2,57$; $df = 1$; $P = 0,1288$) teve variação de 475 a 592 entre os tratamentos. O período de incubação ($\chi^2 = 3,01$; $df = 1$; $P = 0,0825$) foi de cerca de 4 dias e com taxa de eclosão ($\chi^2 = 0,71$; $df = 1$; $P = 0,3974$) acima de 90,0%. Não foi possível analisar este parâmetro devido à baixa viabilidade que impediu formar casais suficientes para os bioensaios com adultos quando *Ch. rufilabris* foi alimentada com larvas de *L. decemlineata* (Tabela 2).

Tabela 2. Fecundidade e fertilidade de *Chrysoperla rufilabris* alimentados com ovos de *Ephestia khueniella* e larvas de *Leptinotarsa decemlineata*, associados ou não a proteína Cry3Aa.

Parâmetros	<i>E. kuehniella</i>	<i>E. kuehniella</i> + Cry3Aa	<i>L. decemlineata</i>	<i>L. decemlineata</i> + Cry3Aa
Pré-oviposição	4,26 ± 0,26 a	4,73 ± 0,20 a	-	-

Oviposição	41,93 ± 3,49 a	41,33 ± 2,20 a	-	-
¹ Pós-oviposição	0,46 ± 0,91 a	0,40 ± 0,73 a	-	-
Ovos por fêmea	475,66 ± 57,9 a	592,88 ± 44,74 a	-	-
¹ Incubação	4,16 ± 0,36 a	4,08 ± 0,27 a	-	-
¹ Taxa de eclosão	93,00 ± 8,23 a	90,00 ± 8,16 a	-	-

Médias (± EP) seguidas de mesmas letras na linha não apresentam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Student-Newman-Keus e pelo teste não paramétrico de ¹Kruskal-Wallis.

A partir dos dados dos parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Ch. rufilabris*, alimentada com presas associadas ou não com a proteína Cry3Aa, não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros avaliados (Tabela 3). A taxa líquida de reprodução (R_0) variou entre 217 e 257. O tempo médio de cada geração (T) foi entre 33 e 34 dias, com uma variação de aproximadamente 4 dias para as populações dobrarem em número (D_t). As taxas finitas de aumento (λ) se mantiveram em torno de 1, enquanto as taxas intrínsecas de aumento (r_m) variaram de 0,15 e 0,16 (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Chrysoperla rufilabris* alimentada com ovos de *Ephestia kuehniella* e larvas de *Leptinotarsa decemlineata*, associados ou não a proteína Cry3Aa.

Parâmetros	<i>E. kuehniella</i>	<i>E. kuehniella</i> + Cry3Aa	<i>L. decemlineata</i>	<i>L. decemlineata</i> + Cry3Aa
R_0	217,366 a (148,741-285,990)	257,484 a (202,069-312,898)	-	-
T	34,3230 a (31,1021-37,5439)	33,9423 a (31,1877-36,6969)	-	-
D_t	4,41343 a (4,14924-4,67761)	4,23600 a (4,02945-4,44255)	-	-
λ	1,16992 a (1,15878-1,18105)	1,17768 a (1,16817-1,18719)	-	-
r_m	0,15694 a (0,14743-0,16645)	0,16355 a (0,15549-0,17162)	-	-

Médias (± intervalo de confiança 95%) seguidas de mesmas letras na linha não apresentam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Student-Newman-Keus. R_0 = taxa líquida de reprodução; T = tempo médio de cada geração; D_t = tempo necessário para a população dobrar em número; λ = taxa finita de aumento; r_m = taxa intrínseca de aumento.

A curva de sobrevivência (l_x) demonstrou que a população de *Ch. rufilabris* quando alimentada com ovos de *E. kuehniella*, começa a decair por volta 40 a 50 dias, independente de estar ou não associada com a proteína Cry3Aa (Figura 3). Esse decréscimo populacional

também é acompanhado pela diminuição da fecundidade (m_x), que tem um pico de aproximadamente 100 ovos diários entre 20 e 30 dias, com redução após esse período. Independente da presença ou não da proteína Cry3Aa junto a dieta, a população de *Ch. rufilabris* chega a zero por volta dos 80 dias, assim como a fecundidade (Figura 3).

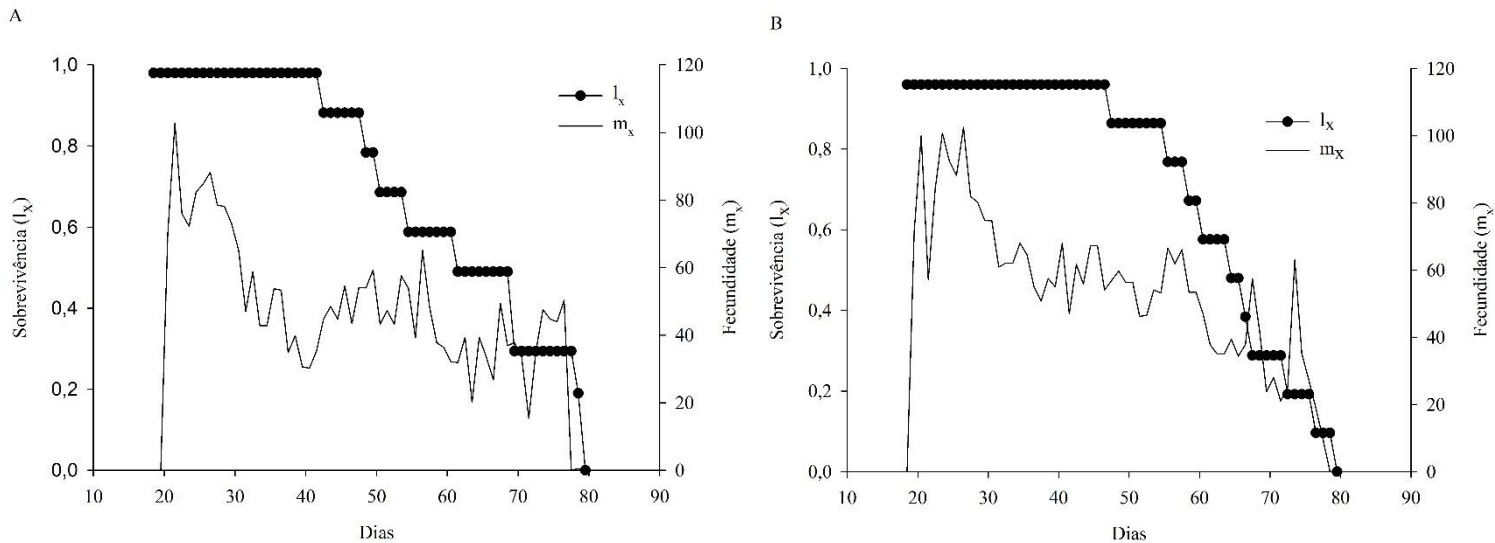


Figura 3. Taxas de sobrevivência específica (l_x) e fecundidade por idade (m_x) estimadas para fêmeas de *Chrysoperla rufilabris* alimentadas com ovos de *Ephestia kuehniella* não associado (A) e associado (B) com a proteína Cry3Aa.

3.2. Parâmetros biológicos de *Ceraeochrysa cincta* exposta de forma direta e indireta ao produto Bt Agree®

Os períodos médios dos estágios de imaturos de *Ce. cincta* alimentados com larvas de *P. xylostella*, associadas ou não com o produto Agree®, não evidenciaram diferenças significativas nos períodos larvais quando comparadas entre as mesmas espécies de presas, com ou sem associação do produto Agree® (Tabela 4). Entretanto houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparadas entre *P. xylostella* e ovos de *C. cephalonica*. Ocorreu atraso de cerca de 1 dia para o 2º ínstar ($\chi^2 = 248,34$; $df = 3$; $P < 0,0001$) e de 2 dias para o 3º ínstar ($\chi^2 = 319,19$; $df = 3$; $P < 0,0001$) de *Ce. cincta* quando alimentada com larvas de *P. xylostella* nas duas condições oferecidas (com ou sem

associação de Agree®). O período pupal ($\chi^2 = 36,2$; $df = 3$; $P < 0,0001$) variou entre 12 e 13 dias em todas as condições de alimentação (Tabela 4), onde quando alimento foi exclusivamente com larvas de *P. xylostella*, nas duas condições, houve diminuição de cerca de 20,0% nas viabilidades de *Ce. cincta*, se comparada com a alimentação a base de ovos de *C. cephalonica*, com ou sem associação com Agree® (Tabela 4).

Tabela 4. Períodos dos estágios imaturos de *Ceraeochrysa cincta* alimentada com ovos de *Corcyra cephalonica* e larvas de *Plutella xylostella*, associados ou não ao produto Bt Agree®.

Estágios	<i>C. cephalonica</i>	<i>C. cephalonica</i> + Agree®	<i>P. xylostella</i>	<i>P. xylostella</i> + Agree®
1º ínstar	3,54 ± 0,50 a	3,53 ± 0,50 a	-	-
2º ínstar	4,02 ± 0,28 b	4,10 ± 0,46 ab	5,30 ± 0,89 a	5,70 ± 0,40 a
3º ínstar	4,15 ± 0,36 b	4,13 ± 0,34 b	6,15 ± 0,60 a	6,23 ± 0,42 a
Pupa	12,92 ± 0,70 b	13,33 ± 0,92 ab	13,50 ± 0,67 a	14,40 ± 1,28 a
Viabilidade	97,50 ± 1,08 a	96,20 ± 1,54 a	76,40 ± 2,01 b	75,30 ± 2,45 b

¹Médias (±EP) seguidas de letras diferentes nas colunas são significativamente diferentes (Teste de Kruskal-Wallis, $P < 0,005$).

Os resultados de fecundidade e fertilidade de *Ce. cincta* alimentada com presas associadas ou não com o produto Agree® ocasionaram um aumento no período de pré-oviposição ($F = 83,31$; $df = 3$; $P = < 0,0001$) de 5 dias e uma drástica diminuição de 31 dias, no período de oviposição ($F = 47,13$; $df = 3$; $P = < 0,0001$) quando o predador alimentou-se de larvas de *P. xylostella*, com e sem a associação de Agree®. Para o período de pós-oviposição ($\chi^2 = 15,26$; $df = 3$; $P = 0,0016$) ocorreu um aumento de cerca de 1 dia. O número de ovos por fêmea variou entre 470 e 592, com o período de incubação ficando em torno de 4 dias e a taxa de eclosão ($\chi^2 = 0,4872$; $df = 3$; $P = 0,9217$) acima de 90,0% para todos os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Fecundidade e fertilidade de *Ceraeochrysa cincta* alimentada com ovos de *Corcyra cephalonica* e larvas de *Plutella xylostella*, associados ou não ao produto Bt Agree®.

Parâmetros	<i>C. cephalonica</i>	<i>C. cephalonica</i> + Agree®	<i>P. xylostella</i>	<i>P. xylostella</i> + Agree®
Pre-oviposição	6,58 ± 0,22 a	6,45 ± 0,20 a	11,20 ± 0,24 b	11,30 ± 0,47 b
Oviposição	43,58 ± 2,04 a	45,54 ± 3,73 a	14,40 ± 1,85 b	14,50 ± 1,75 b
¹ Pós-oviposição	4,91 ± 2,99 a	5,18 ± 1,99 a	2,60 ± 1,83 b	2,40 ± 1,42 b
Ovos por fêmea	872,33 ± 39,65 a	903,00 ± 59,51 a	137,44 ± 16,54 b	125,50 ± 19,52 b

¹ Incubação	5,20 ± 0,42 a	5,40 ± 0,51 a	5,10 ± 0,56 a	5,50 ± 0,52 a
¹ Taxa de eclosão	98,75 ± 1,31 a	98,71 ± 1,70 a	98,17 ± 2,03 a	98,60 ± 1,55 a

Médias (EP) seguidas de mesmas letras na linha não apresentam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Student-Newman-Keus e pelo teste não paramétrico de ¹Kruskal-Wallis.

Para os parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Ce. cincta* alimentanda com presas, associadas ou não com o produto Bt Agree®, não foram observadas diferenças significativas quando comparado entre as mesmas espécies de presas associadas ou não ao produto em relação à taxa líquida de aumento (R_0) (Tabela 6). Para os demais parâmetros houve diferença significativa quando o produto Agree® foi associado aos ovos de *C. cephalonica*. A taxa líquida de reprodução variou entre 460 e 478 com ovos de *C. cephalonica* sem e com o produto Agree®.

Para os demais parâmetros houve diferença significativa quando *Ce. cincta* foi alimentada com ovos de *C. cephalonica*. O tempo médio de cada geração (T) foi entre 41 dias, com a dieta sem Agree®, e 48 dias, com Agree®, com variação de 4 e 5 dias para as populações dobrarem em número (D_t), sem e com a presença de Agree®, respectivamente.

As taxas finitas de aumento (λ) se mantiveram cerca de 1 e as taxas intrínsecas de aumento (r_m) variaram de 0,12 e 0,14. Para as condições de alimentação a base de larvas de *P. xylostella*, com e sem a associação do Agree®, não houve diferença significativa para nenhum dos parâmetros analisados. A taxa líquida de aumento ficou ao redor de 45; o tempo médio de cada geração em torno de 42 dias; o tempo necessário para a população dobrar em número foi de 7 dias; a taxa finita de aumento em torno de 1; e a taxa intrínseca de aumento foi de 0,08 (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Ceraeochrysa cincta* alimentada com ovos de *Corcyra cephalonica* e larvas de *Plutella xylostella*, associados ou não ao produto Bt Agree®.

Parâmetros	<i>C. cephalonica</i>	<i>C. cephalonica</i> + Agree®	<i>P. xylostella</i>	<i>P. xylostella</i> + Agree®
R_0	460,418 a (414,353-506,482)	478,773 a (384,949-572,596)	45,057 b (28,960-61,153)	45,444 b (29,451-61,436)
T	41,9563 b (39,9565-43,6591)	48,4526 a (45,5984-51,3068)	42,9351 b (40,5938-45,2764)	42,6969 b (40,5328-44,8611)
D_t	4,74199 c (4,55654-4,92743)	5,43930 b (5,22591-5,65269)	7,78149 a (7,1920-8,37097)	7,72068 a (7,15995-8,28142)
λ	1,15734 a (1,15072-1,16396)	1,13586 b (1,13016-1,14156)	1,09305 c (1,08564-1,10046)	1,09383 c (1,08681-1,10084)
r_m	0,14613 a (0,14041-0,15185)	0,12739 b (0,12238-0,13241)	0,08898 c (0,08220-0,09576)	0,08969 c (0,08327-0,09611)

Médias $\pm$ (intervalo de confiança 95%) seguidas de mesmas letras na linha não apresentam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Student-Newman-Keus. R_0 = taxa líquida de reprodução; T = tempo médio de cada geração; D_t = tempo necessário para a população dobrar em número; λ = taxa finita de aumento; r_m = taxa intrínseca de aumento.

A curva de sobrevivência (l_x) de *Ce. cincta* alimentada com ovos de *C. cephalonica* se manteve alta entre 60 a 70 dias, período a partir do qual decai de forma acelerada, independente da associação com o produto Agree® (Figura 4A). Esse decréscimo populacional também é acompanhado pela diminuição da fecundidade (m_x), que demonstra picos de aproximadamente 150 ovos diários entre 20 e 60 dias, também com tendência de diminuição após esse período. Independente da presença do Agree® na dieta, a população de *Ce. cincta* zera a cerca de 80 a 100 dias, assim como a fecundidade (Figura 4 A, B). Quando *Ce. cincta* foi alimentada com larvas de *P. xylostella* associadas ou não ao Agree®, a curva de sobrevivência indicou que a população começa a decrescer cerca de 10 dias a menos que em comparação com as outras condições de alimentação (ovos de *E. kuehniella*; ovos de *E. kuehniella* + Agree®). As fecundidades nessas condições também foram inferiores, com picos de oviposição abaixo de 80 ovos. Nessas condições de alimentação, a população zera dos 70 dias, de 20 a 30 dias antes do que comparado com a outra situação (Figura 4C, D).

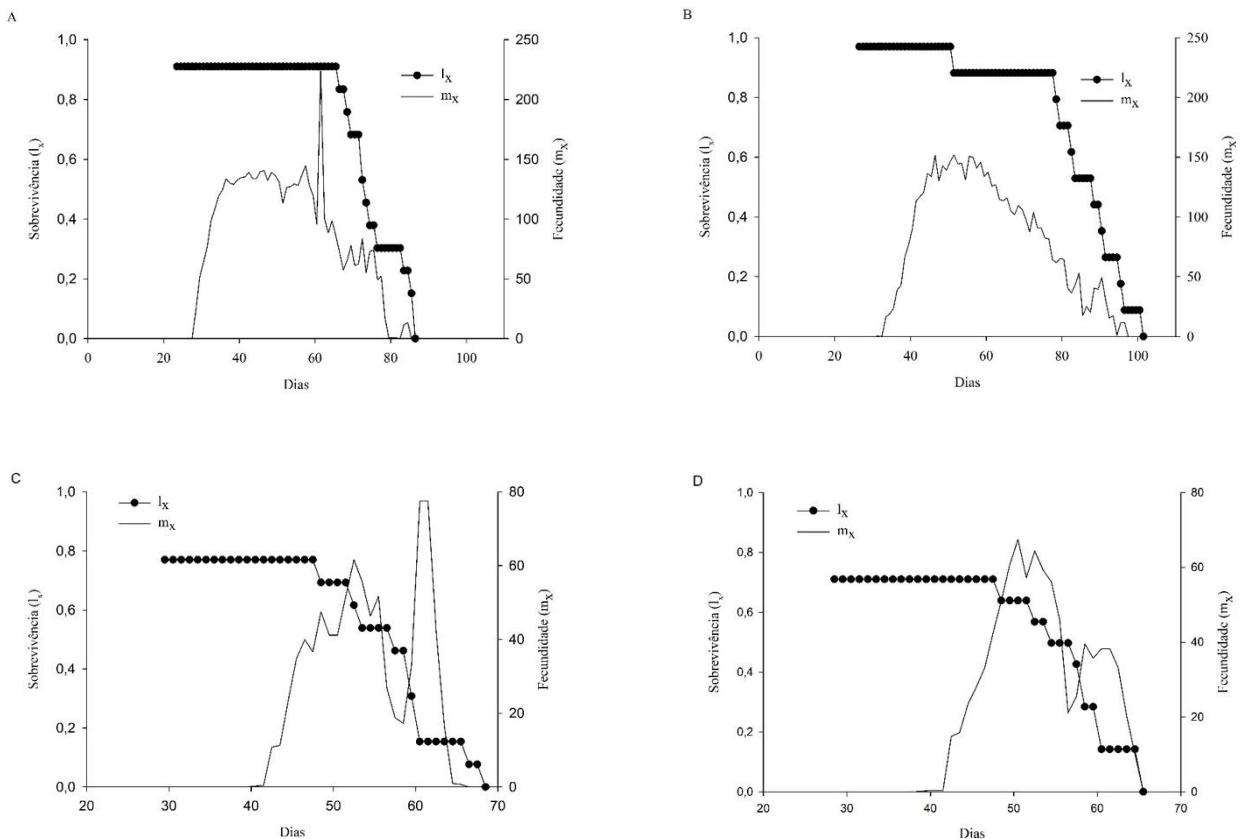


Figura 4. Taxas de sobrevivência específica (lx) e fecundidade por idade (mx) estimadas para fêmeas de *Ceraeochrysa cincta* alimentadas com ovos de *Corcyra cephalonica* não associada (A) e associada (B) com o produto Agree® e lagartas de *Plutella xylostella* não tratadas (C) e tratadas (D) com o produto Agree®.

3.3. Resposta funcional de *Chysoperla rufilabris* associado ou não a proteína Cry3Aa predando *Leptinotarsa decemlineata*

Não houve diferença nas respostas funcionais de *Ch. rufilabris* com larvas de *L. decemlineata* associadas ou não a proteína Cry3Aa. Os três ínstares larvais do predador apresentando resposta funcional do tipo II (Tabela 7). Também não foram observadas diferenças nas taxas de ataque para os três ínstares larvais do predador (Tabela 8). Entretanto, houve diferença significativa nos tempos de manipulação (Th) e no número estimado de presas atacadas (T/Th) para o primeiro e segundo ínstares larvais do predador (Tabela 8). Houve redução do tempo de manipulação e aumento de cerca de 2 vezes no número estimado de presas atacadas, quando larvas de primeiro e segundo ínstar foram combinadas com a proteína Cry3Aa em larvas de *L. decemlineata* (Tabela 8).

Tabela 7. Parâmetros estimados resultantes da análise de regressão logística polinomial da proporção de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* em folhas de batata, tratadas e não tratadas com Cry3Aa, predadas por *Chrysoperla rufilabris* durante 24 horas.

Ínstar	Tratamentos	Parâmetros	Valores	GL	χ^2	P	Tipo de resposta
1ª	Controle	Intercepto	2,5721	1	8,13	0,0044	II
		Linear	-0,8041	1	9,74	0,0018	
		Quadrático	-	-	-	-	
	Cry3Aa	Intercepto	2,9125	1	28,04	<0,0001	II
		Linear	-0,4485	1	30,09	<0,0001	
		Quadrático	-	-	-	-	
2ª	Controle	Intercepto	2,9551	1	28,4	<0,0001	II
		Linear	-0,4552	1	30,59	<0,0001	
		Quadrático	-	-	-	-	
	Cry3Aa	Intercepto	2,2780	1	49,98	<0,0001	II
		Linear	-0,205	1	63,91	<0,0001	
		Quadrático	-	-	-	-	
3ª	Controle	Intercepto	4,5516	1	161,28	<0,0001	II
		Linear	-0,0882	1	87,0	<0,0001	
		Quadrático	0,00036	1	43,29	<0,0001	
	Cry3Aa	Intercepto	5,4203	1	145,25	<0,0001	II
		Linear	-0,1032	1	80,48	<0,0001	
		Quadrático	0,000422	1	42,35	<0,0001	

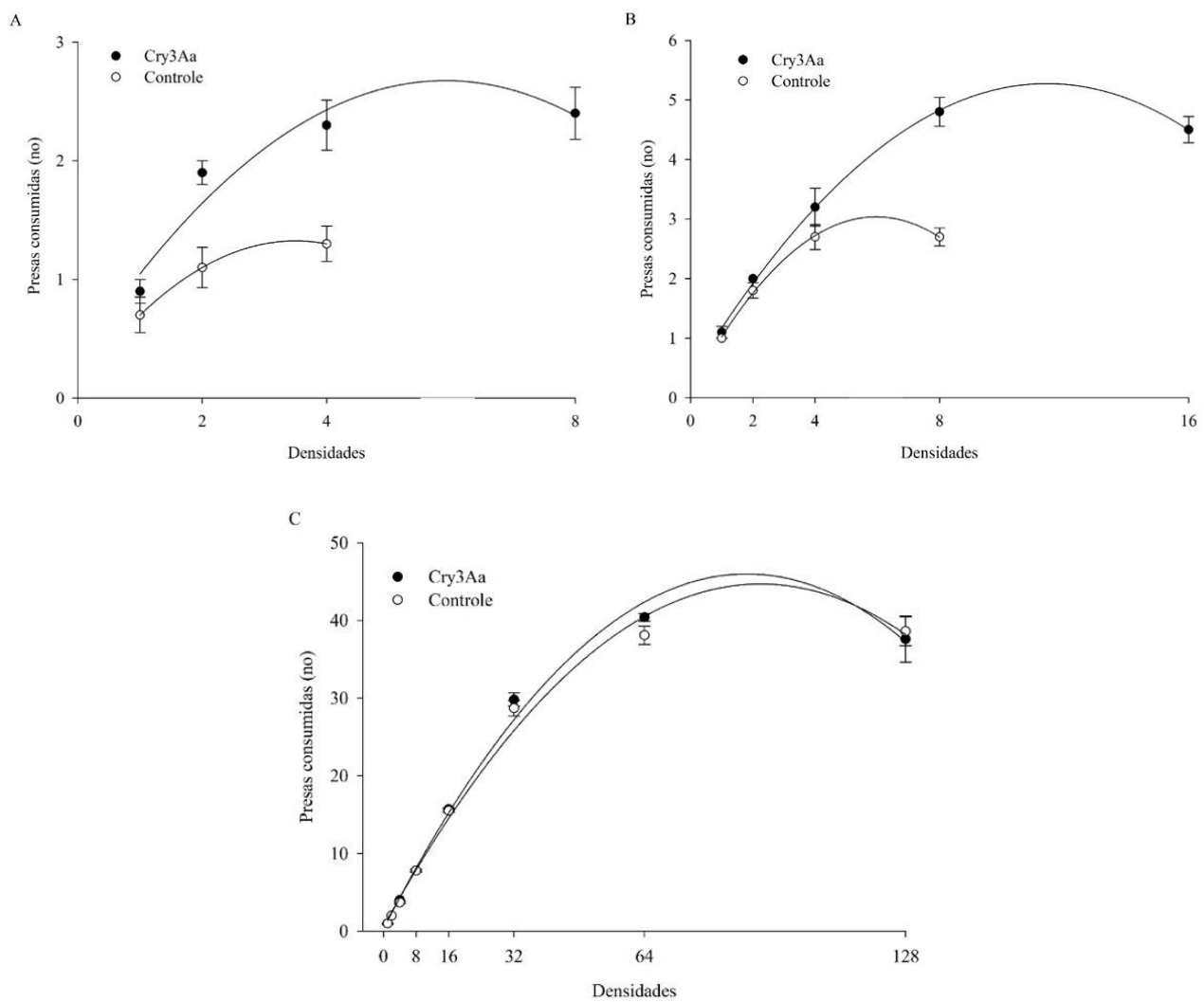


Figura 5. Resposta funcional de larvas de 1º ínstar (A), 2º ínstar (B) e 3º ínstar (C) de *Chrysoperla rufilabris* alimentada com larvas de *Leptinotarsa decemlineata* tratadas ou não com a proteína Cry3Aa.

Tabela 8. Taxa de ataque (a') (limites de confiança de 95%), tempo de manuseio (T_h) (limites de confiança de 95%) e número estimado de presas atacadas (limites de confiança de 95%) durante o período de observação ($T = 24 \text{ h}/T_h$) de *Chrysoperla rufilabris* predando larvas de *Leptinotarsa decemlineata* em folhas de batata, tratadas e não tratadas com Cry3Aa.

Ínstares	Tratamentos	Taxa de ataque - a'	Tempo de manipulação - T_h	T/T_h
1º	Controle	0,10 a (0,03-0,23)	17,84 a (13,02-22,65)	1,34 a (1,05 – 1,84)
	Cry3Aa	0,14 a (0,03-0,25)	8,23 b (7,48-8,99)	2,91 b (2,66 – 3,20)
2º	Controle	0,14 a (0,03-0,24)	8,26 a (7,51-9,07)	2,90 a (2,64 – 3,19)
	Cry3Aa	0,07 a (0,03-0,12)	5,05 b (4,66-5,44)	4,75 b (4,41 – 5,15)
3º	Controle	0,01 a (0,005-0,01)	0,60 a (0,56-0,64)	40,00 a (37,50 – 42,80)
	Cry3Aa	0,0087 a (0,007-0,01)	0,57 a (0,54-0,59)	42,10 a (40,60 – 44,40)

* As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre os tratamentos a intervalos de confiança de 95%.

3.4. Consumo médio de *Ceraeochrysa cincta* associado ou não ao produto bt Agree® predando *Plutella xylostella*

A predação de *Ce. cincta* por larvas de *P. xylostella* foi influenciada de forma positiva pela associação com o produto Agree®. Quando foram ofertadas larvas sem Agree® observou-se um consumo médio de cerca de 21 para 28 larvas de *P. xylostella*, com a associação com o produto ($F = 78,19$; $df = 1$; $P < 0,0001$) (Tabela 9). Para o terceiro ínstar, as médias de predação se mantiveram em torno de 38 a 39 larvas de *P. xylostella*, sem haver diferença significativa ($F = 1,03$; $df = 1$; $P = 0,3192$) entre as condições de presas oferecidas.

Tabela 9. Predação média de *Ceraeochrysa cincta* em larvas de *Plutella xylostella* associadas ou não com produto Bt Agree®.

Estágios	Controle	Agree®
1º ínstar	-	-
2º ínstar	21,80 ± 0,58 b	28,13 ± 0,40 a
3º ínstar	38,73 ± 0,31 a	39,13 ± 0,23 a

¹Médias (±EP) nas linhas seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes (Teste de Kruskal-Wallis, $P < 0,005$).

3.5. Sobrevivência de *Leptinotarsa decemlineata* exposta a proteína Cry3Aa associada a *Chrysoperla rufilabris*

Alta sobrevivência foi observada quando nenhum tipo de controle foi adotado, individualmente ou combinado (Figura 6A). A utilização de forma individual da proteína Cry3Aa (CL₅₀) promoveu redução no número de larvas de *L. decemlineata* a partir de 2 dias havendo decréscimo do número de *L. decemlineata* (Figura 6B). E em todos os casos em que larvas de 3º ínstar de *Ch. rufilabris* foram utilizadas de forma isolada ou combinada com a proteína Cry3Aa (Figura 6C e D) também foi observado uma rápida redução no número de larvas da praga.

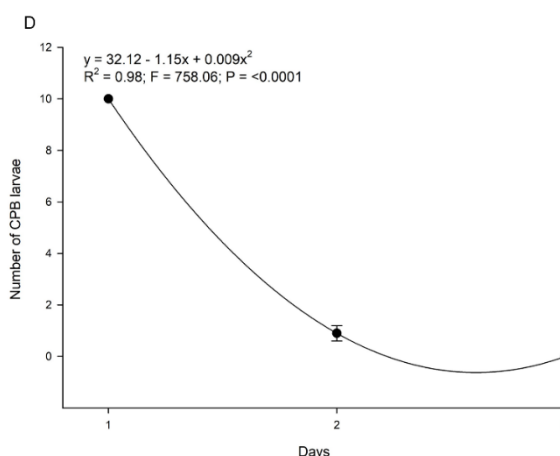
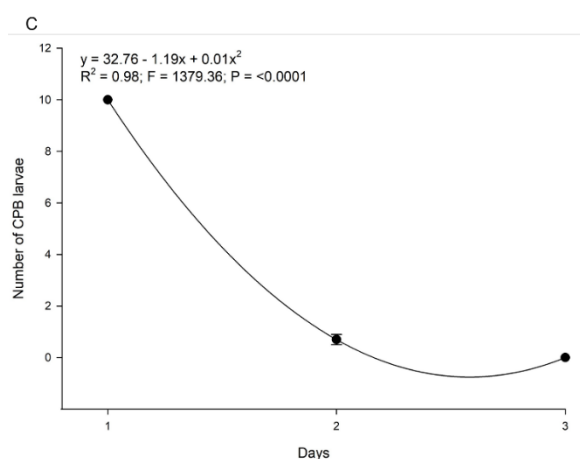
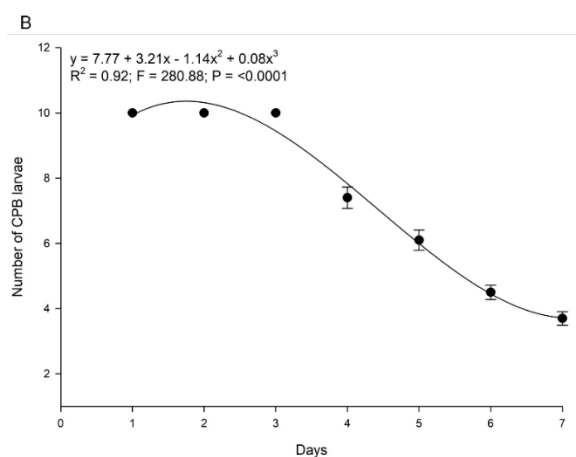
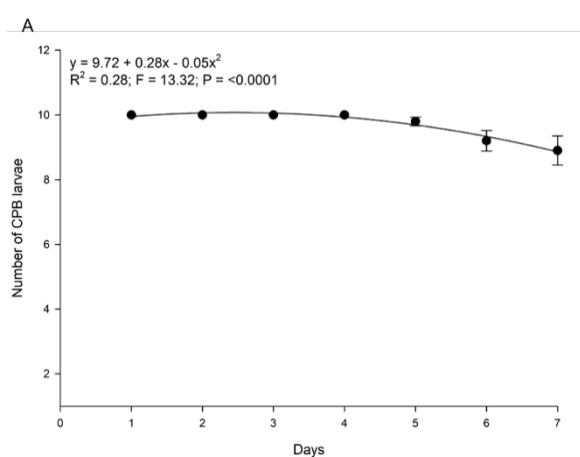


Figura 6. Sobrevivência de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* sem nenhum tipo de controle empregado (A), apenas com Cry3Aa (B), com larva de 3º instar de *Chrysoperla rufilabris* (C) e com Cry3Aa + larva de 3º instar de *Ch. rufilabris* (D).

3.6. Influência da associação de *Chrysoperla rufilabris* e da proteína Cry3Aa nos danos causados em folhas de batata por *Leptinotarsa decemlineata*

Na testemunha, altos níveis de danos foram observados (Figura 7A). Quando a proteína Cry3Aa foi usada de forma isolada, se registraram danos abaixo de 25% (Figura 7B). O uso de larvas de 3º instar de *Ch. rufilabris*, de forma isolada ou combinada com a proteína Cry3Aa, poucos danos foram constatados (Figura 6C e D).

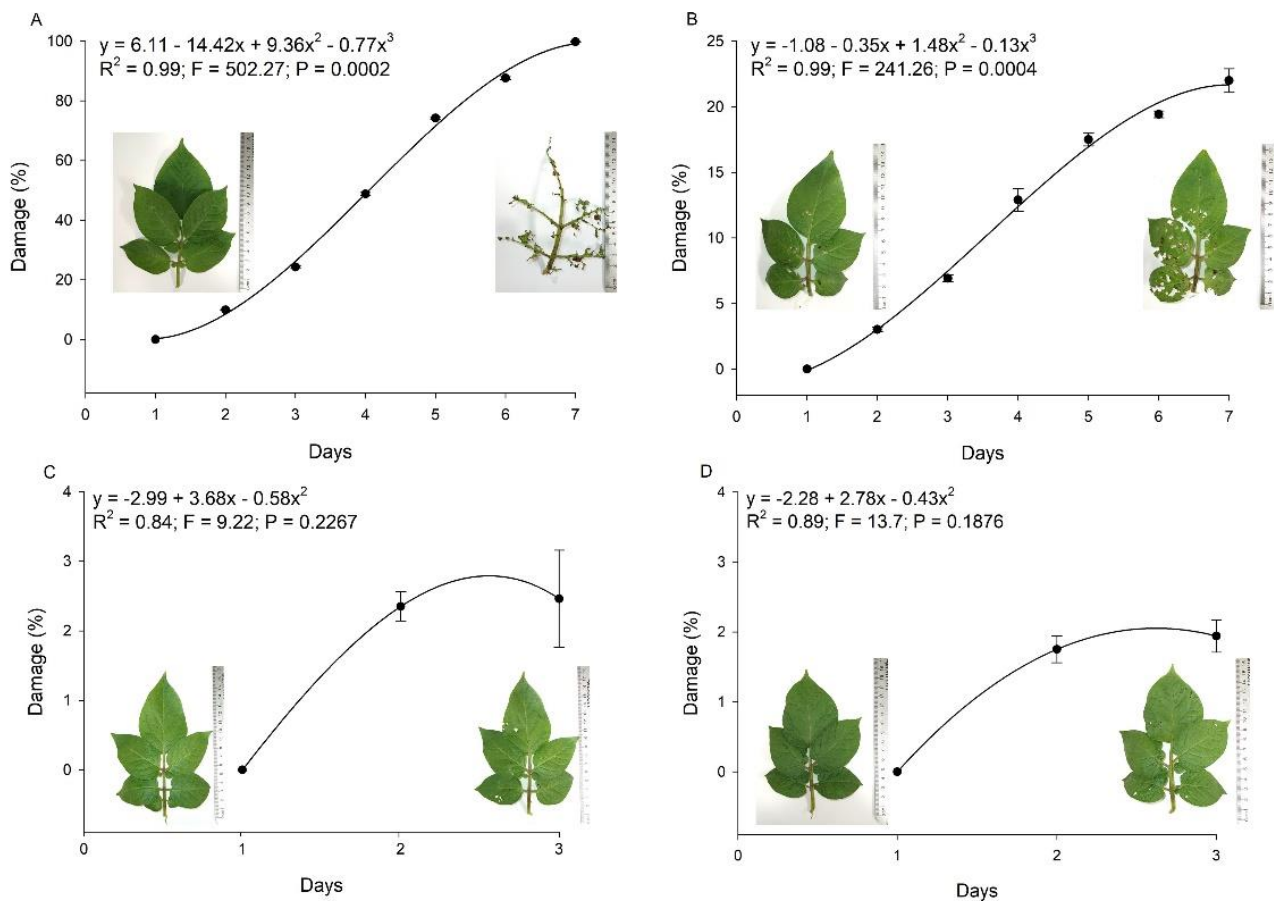


Figura 7. Danos causados por larvas de *Leptinotarsa decemlineata* sem nenhum tipo de controle empregado (A), apenas com Cry3Aa (B), com larva de 3º instar de *Chrysoperla rufilabris* (C) e com Cry3Aa + larva de 3º instar de *Chrysoperla rufilabris* (D).

4. DISCUSSÃO

4.1. Efeitos nos parâmetros biológicos dos crisopídeos

A qualidade da dieta é um dos fatores mais importantes para o estabelecimento e de extrema relevância para o controle de qualidade de uma população de insetos (House, 1977; Leppla, 2023). Dessa forma foi possível observar que o tipo de alimento oferecido foi o principal causador das diferenças encontradas nos parâmetros biológicos e tabela de vida de fertilidade, e não propriamente os tratamentos Bt testados.

Para o caso *Ch. rufilabris* x *L. decemlineata*, a viabilidade da fase imatura foi o parâmetro que melhor demonstrou o quanto que a dieta baseada apenas em larvas de *L. decemlineata* foi prejudicial para a população de *Ch. rufilabris*, quando essa população teve uma mortalidade em mais de 55,0% da população amostral, seguida de atraso no desenvolvimento de todas as fases imaturas, fatores que também servem como indicador de qualidade da dieta (Scriber e Slansky Jr., 1981).

Contudo, para o caso *Ce. cincta* e Agree®, o produto alterou de forma leve, porém significativa, alguns dos parâmetros de tabela de vida. Essas alterações não necessariamente são prejudiciais ao ciclo de vida de *C. cincta* e podem estar atribuídas aos demais componentes como estabilizantes e dispersantes presentes no produto formulado, que não foram testados de forma isolada nesse estudo.

Uma hipótese que pode justificar esses resultados é o possível acúmulo de metabólitos secundários (glicoalcaloides e sesquiterpenos) na batata que são considerados tóxicos para as larvas de *L. decemlineata*, que por sua vez desenvolveram mecanismos de desintoxicação para esses metabólitos para poder continuar com seu ciclo de vida normal consumindo as folhas, ramos e tubérculos da batata (Matthews et al., 2005; Lawrence et al., 2008). Estes metabólitos secundários são originados a partir do sistema de defesa da planta frente ao ataque da praga, que pode afetar de forma indireta o predador no nível trófico acima (Bruce, 2014), porém esses fatores não foram avaliados no presente estudo.

As espécies de brássicas também produzem metabólitos secundários, com destaque para glucosinolatos, como mecanismos de defesa a ataques de insetos-praga (Bruce, 2014).

Diferente do caso mencionado acima, a viabilidade da fase imatura também sofreu redução, porém em uma escala menor, de pouco mais de 20,0%, e com atraso no desenvolvimento das fases imaturas. As diferenças não foram tão expressivas na viabilidade dos imaturos de *Ce. cincta*, porém as fêmeas tiveram sua fertilidade extremamente prejudicada quando comparada ao controle, o que denota que apenas larvas de *P. xylostella* não seja uma dieta de boa qualidade, principalmente para o desenvolvimento do sistema reprodutivo das fêmeas. Almeida et al., (2009) ao avaliar a viabilidade de *Ce. claveli* alimentada com larvas de *P. xylostella*, também observaram efeitos negativos com redução de 90 para 45% de viabilidade do ciclo ovo-adulto do presador.

Isto foi refletido principalmente no número de ovos por fêmea que foi de cerca de 6 vezes menor, e nas taxas líquida de aumento (R_0) de cerca 10 vezes menor quando comparadas com as populações alimentadas com ovos de *C. cephalonica*, em ambas as condições. Tais parâmetros relacionados a reprodução mais desfavoráveis culminaram em um aumento de cerca de 2 dias para a população alimentada com larvas de *P. xylostella* em ambas as condições. Outros estudos demonstraram efeitos nos parâmetros biológicos de espécies de crisopídeos quando foram alimentados com presas de outras espécies (Cuello et al., 2019; Awadalla et al., 2023; Cruces et al., 2023). Para uma melhor compreensão desses efeitos se faz necessário estudos de tabela de vida de fertilidade ao longo de gerações (Pinto et al., 2022).

Para ambas as espécies de inimigos naturais, as dietas a base de ovos de lepidópteros foram as que ofereceram melhores condições de “fitness”, o que corrobora com vários outros estudos que apontam ovos desse grupo como melhores opções para criação de inimigos naturais com destaque para ovos de *E. kuehniella*, *C. cephalonica* e *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1879) (Gelechiidae) (Díaz et al., 2020; Brito et al., 2021; De Clercq et al., 2023). Entretanto, ovos dessas espécies não são considerados dieta natural desses organismos, por serem espécies que atacam grãos armazenados e nesse caso não estão normalmente presentes nos locais de ocorrência de inimigos naturais (De Clercq et al., 2023). Por serem fontes de alimento ricas em vitaminas (Klowden, 2013), ovos são capazes de suprir as necessidades básicas desses inimigos naturais em criações massais, mesmo sendo predadores generalistas.

Os resultados obtidos no presente estudo apontam que tanto a proteína Cry3Aa quanto o produto Agree® apresentam compatibilidade entre *Ch. rufilabris* e *Ce. cincta*,

respectivamente, o que permite que essas ferramentas sejam utilizadas de forma conjunta. Vários estudos que buscaram avaliar os parâmetros biológicos de crisopídeos expostos a diferentes ferramentas de controle de pragas, relatam a incompatibilidade de compostos utilizados no MIP e estes predadores. Por exemplo, Cordeiro et al. (2010) encontraram alto impacto letal do organofosforado malathion e do piretroide permetrina para *Ch. externa* e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861), com Amarasekare e Shearer (2013) relatando a toxicidade de novaluron e de lambda-cialotrina para imaturos e adultos de *Ch. carnea* e *Ch. johnsoni* Henry, Wells e Pupedis, 1993.

Ainda nesse sentido, Farias et al. (2023) relataram que a metaflumizona deve ser aplicada em períodos de baixa ocorrência de *Ch. externa*; Rugno et al. (2019) observaram alta mortalidade em *Ce. cubana* exposta a clorpirifós e malation; Shan et al. (2020) constataram que, mesmo em baixas concentrações, indoxacarbe, benzoato de emamectina, imidaclopride e lambda-cialotrina são tóxicos para *Chrysoperla sinica* (Tjeder, 1936).

Além disso, estudos apontam que bioinseticidas também podem ser prejudiciais para inimigos naturais, a exemplo de relatos de toxicidade do inseticida botânico derivado do óleo de nim (*Azadirachta indica* Juss) para *Ch. externa*, *Ce. cubana* e *Ce. claveri* (Navás, 1911) (Cordeiro et al., 2010; Scudeler et al., 2016). Em resumo, estudos que exploraram essas associações são muito importantes para auxiliar na seleção de compostos compatíveis com crisopídeos a serem utilizados em estratégias de manejo de pragas.

Embora há relatos na literatura de danos nas células do intestino médio e no desempenho de predação do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) (da Cunha et al., 2012), devido ao nível de especificidade do Bt e às características fisiológicas de crisopídeos, tais como ausência dos receptores de ligação e pH do intestino médio, eles não têm as condições ideais para as proteínas Bt serem efetivas, o que tornam as tecnologias Bt seguras aos crisopídeos, o que permite que sejam usadas em conjunto nos programas de controle biológico sem efeitos negativos um sobre o outro (Ali et al., 2018; Daquila et al., 2023).

Diversos estudos atestaram a segurança de tecnologias Bt através da exposição a derivados de Bt de forma direta ou indireta, por exemplo, Romeis et al. (2004) observaram que a toxina Cry1Ab foi inofensiva para *Ch. carnea*; Wang et al. (2012) não relatou efeitos adversos em *Ch. sinica* quando alimentou de pólen de arroz Bt que expressava Cry2Aa. Também, Ali et al. (2017) não encontraram prejuízos da proteína Cry1Fa e Vip3Aa

tripsinizados para *Ch. pallens* (Rambur, 1838). As proteínas Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ah, Cry1Aa, Cry1F, Cry2Aa, Cry2Ab e Vip3Aa também foram inofensivas para *Ch. pallens* segundo Ali et al. (2018).

De Oliveira Pimenta et al. (2020) relataram resultados satisfatórios quando *Ce. cincta* foi usada combinada com produtos à base de Bt para controlar *P. xylostella*, com Bahar et al. (2012) encontrando os melhores resultados para controle de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1805) quando *Mallada signatus* Schneider, 1851 (Neuroptera: Chrysopidae) foi usado associado ao algodão Bt.

4.2. Efeitos de Bt nos parâmetros predatórios dos crisopídeos

Estudos anteriores mostraram o potencial de predação dos crisopídeos com *L. decemlineata* (Shuvakhina, 1975 e 1985; Nordlund et al., 1991; Hough-Goldstein et al., 1993; Sablon et al., 2013). No presente estudo foi explorado pela primeira vez este potencial associado a uma toxina Bt, com os resultados demonstrando que a associação com a proteína Cry3Aa não influencia a preferência de predação de *Ch. rufilabris* por larvas de *L. decemlineata*. Um dos principais fatores que pode ter influenciado essa falta de seletividade observada em *Ch. rufilabris* deve-se, provavelmente, ao fato das larvas de crisopídeos não utilizarem a visão como principal ferramenta de caça, tendo os órgãos visuais a função principal de percepção de luz, com a localização de presas ocorrendo ao acaso por meio de intensa movimentação (Canard, 2010). De forma contrária, predadores que utilizam a visão como ferramenta de localização necessitam de serem estimulados pela movimentação para atacar a presa, que, por sua vez, ficam mais lentas (até imóveis) quando estão com alguma infecção, o que pode alterar a preferência alimentar por larvas infectadas (Grupta et al., 2013; Nunes et al., 2018).

Além disso, o uso de Cry3Aa não influencia o tipo de resposta funcional, com os três instares larvais de *Ch. rufilabris* apresentando resposta funcional do tipo II, com densidades crescentes de larvas de 2º instar de *L. decemlineata*, denotando o comportamento característico de predadores que apresenta a resposta funcional do tipo II, ou seja, ocorre um aumento do consumo de presas à medida que a densidade das mesmas aumenta até atingir um platô que indica a satisfação alimentar (Holling, 1959 e 1961). A resposta funcional do tipo II é a resposta funcional mais comum e foi relatada por vários autores estudando

diferentes espécies de crisopídeos predando diversas pragas, com Hassanpour et al. (2011) encontrando esse tipo de resposta funcional em *Ch. externa* (Hagen, 1861) predando *H. armigera*, sendo o mesmo tipo citado por Memon et al. (2015) com *Ch. nipponensis* (Okamoto, 1914) predando *B. tabaci*.

De Oliveira Pimenta et al. (2020) também encontraram resposta funcional do tipo II em *Ce. cincta* predando ovos e larvas de *P. xylostella*, o mesmo ocorreu com Dami et al. (2023) onde estudaram *Ch. externa*, *Ce. cornuta* (Navás, 1925) e *Ce. cincta* predando o bicho-mineiro-do-café, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae).

A associação com a proteína Cry3Aa causou influência positiva na capacidade de predação das larvas de *Ch. rufilabris*, em especial para aquelas de primeiro e segundo ínstar, causando um efeito sinérgico de duas formas. Primeiro, pela redução do tempo de manipulação, ou seja, redução do tempo necessário para o predador se alimentar da presa, o que influencia diretamente a segunda forma, com o aumento do número estimado de presas atacadas, que neste caso foi o dobro em comparação com a ausência de Cry3Aa. O mesmo padrão foi observado para *Ce. cincta* predando larvas de *P. xylostella* associadas ao Agree®, com aumento nas médias de predação do segundo ínstar larval do predador. Os resultados encontrados no presente estudo corroboram com aqueles encontrados por De Oliveira Pimenta et al. (2020) que observaram diminuição no tempo de manuseio e aumento no consumo de *Ce. cincta* pedando ovos e larvas de *P. xylostella* expostos ao Xentari®, um bioinseticida à base de Bt.

Para compreender melhor os resultados deste trabalho, é importante o entendimento do modo de ação de toxinas Bt. Para ser eficaz, as toxinas precisam ser ingeridas e, depois se ligar a receptores específicos na membrana do epitélio do intestino médio, após isso formam-se os poros que causam a morte das células e, consequentemente, a ruptura da parede intestinal, o que leva o inseto à morte por inanição e/ou septicemia (Bravo et al., 1992; Fabrick et al., 2009). Durante o período entre a ingestão da toxina e a morte, o inseto demonstra sinais da infecção, ou seja, menor movimentação e reação aos ataques, o que o torna mais vulnerável aos predadores (Genovart et al., 2010; Georgievska et al., 2010). E uma presa debilitada pode ser significativa para o desempenho de um predador, principalmente se a presa for maior que o predador, o que pode explicar o aumento no número estimado de presas atacadas para o primeiro e segundo ínstar de *Ch. rufilabris*,

já que a larva de segundo ínstar de *L. decemlineata* é maior que as larvas de primeiro e segundo ínstaes de *Ch. rufilabris*. Outra hipótese que pode ajudar a explicar os resultados é o fato de uma presa doente ser química e nutricionalmente diferente de uma saudável, com o predador podendo precisar de mais presas doentes para sua satisfação nutricional (Salama et al., 1999; Lawo et al., 2010; Svobodová et al., 2017; Guan et al., 2022).

No caso de espécies-praga com histórico tão elevado de resistência a inseticidas, como *L. decemlineata* e *P. xylostella* (Mota-Sanches e Wise, 2023), a busca por estratégias com diferentes modos de ação é imprescindível, e o uso de predadores deve ser mais explorada. No contexto do manejo da resistência, a rotação dos modos de ação (MoA) é fundamental para atrasar o seu desenvolvimento (Nauen et al., 2019), com dois ou mais agentes de controle biológico, incluindo predadores, podem desempenhar esta função de forma satisfatória e evolutivamente lógica nas estratégias de manejo de resistência, uma vez que as tecnologias têm cada vez menor tempo de eficácia em campo (Furlong e Zalucki, 2010; Bahar et al., 2012; Nauen et al., 2019).

Para crisopídeos quatro fatores influenciam a eficiência em programas de controle biológico: densidade do predador e da presa, distribuição da presa na área, preferência por alguma presa e ainda a presença de presas alternativas disponíveis (New, 1984), sendo nesta pesquisa demonstrado que associação a um bioinseticida compatível também pode ser determinante para o sucesso na utilização de crisopídeos no controle biológico aplicado.

5. CONCLUSÕES

- O presente estudo apresenta mais evidências da compatibilidade de dois bioagentes para melhorar o controle de *L. decemlineata* e *P. xylostella*.
- Isoladamente, tanto os bioinsumos a base de Bt, quanto as espécies de crisopídeos, podem apresentar resultados positivos contra *L. decemlineata* e *P. xylostella*.
- Sinergicamente, através de diferentes modos de ação, Cry3Aa diminui o tempo de manuseio e aumenta o número estimado de presas atacadas por *Ch. rufilabris*.
- O produto Agree® também auxiliou no aumento do consumo médio de larvas do predador *Ce. cincta* a de larvas de *P. xylostella*.

- As espécies de crisopídeos aqui estudadas, podem funcionar como uma segunda linha de defesa contra os sobreviventes aos derivados de Bt, o que contribui com a mitigação ou remoção de possíveis genótipos resistentes a proteínas Bt naquelas populações.
- É importante ressaltar que os experimentos aqui apresentados não consideram alguns fatores que podem influenciar o desempenho do predador no campo, como preferência por outras pragas, presença de outros inimigos naturais, diferentes estágios da praga e variações nos parâmetros abióticos.
- É de grande importância a realização de testes em condições de campo e/ou semi-campo para melhor compreender a ação conjunta de todos estes fatores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abro GH, Soomro RA, Syed TS (1992) Biology and behaviour of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). **Pakistan Journal of Zoology** 24:7-10.

Adams PA, Penny ND (1985) Neuroptera of the Amazon basin. Part 11a. Introduction and chrysopint. **Acta Amazonica** 15:413-480.

Agboyi LK, Ketoh GK, Martin T, Glitho, IA, Tamò M (2016) Pesticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations from Togo and Benin. **International Journal of Tropical Insect Science** 36:204–210.

Albuquerque GS (2009) Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) In: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.). **A bioecologia e a nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, p. 969-1022.

Ali I, Zhang S, Iqbal M, Ejaz S, Cui J-J (2017) Trypsinized Cry1Fa and Vip3Aa have no detrimental effects on the adult green lacewing *Chrysopa pallens* (Neuroptera: Chrysopidae). **Applied Entomology and Zoology** 52:321–327.

Ali I, Zhang S, Muhammad MS, Iqbal M, Cui J-J (2018) Bt proteins have no detrimental effects on larvae of the green lacewing, *Chrysopa pallens* (Rambur) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology** 47:336–343

- Almeida MF, Barros R, Gondim Júnior MGC, Freitas S, Bezerra AL (2009) Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural** 39:313-318.
- Alvarez JM, Srinivasan R, Cervantes FA (2013) Occurrence of the carabid beetle, *Pterostichus melanarius* (Illiger), in potato ecosystems of Idaho and its predatory potential on the Colorado potato beetle and aphids. **American Journal of Potato Research** 90:83-92.
- Alyokhin A (2007) Colorado potato beetle management on potatoes: current challenges and future prospects. **Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology** 3:10-19.
- Alyokhin A, Baker M, Mota-Sanchez D, Grafius E (2008) Colorado Potato Beetle resistance to insecticides. **American Journal of Potato Research** 85:395–413
- Alyokhin A, Mota-Sanchez D, Baker M, Snyder WE, Menasha S, Whalon M, Dively G, Moarsi WF (2015) The Red Queen in a potato field: integrated pest management versus chemical dependency in Colorado potato beetle control. **Pest Management Science** 71:343-356.
- Amarasekare KG, Shearer PW (2013) Comparing effects of insecticides on two green lacewings species, *Chrysoperla johnsoni* and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Economic Entomology** 106:1126–1133.
- Andrivo D (2017) Potato facing global challenges: how, how much, how well? **Potato Research** 60:389–400.
- Ankersmit GW (1953) DDT-resistance in *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lep.) in Java. **Bulletin of Entomological Research** 44:421–425.
- Aspöck U (2002) Phylogeny of the Neuropterida (Insecta: Holometabola). **Zoologica Scripta** 31:51–55.
- Atay E, Efil L, Tatli M, Alaca B (2019) The first record for *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) in Çanakkale province of Turkey and external and genital morphology of the species. **Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences** 2:7–10.
- Awadalla SS, Bayoumy MH, El-Basuony AM (2023) Effect of single and mixed-resource diets of mealybug stages on developmental and reproductive performances of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. **Journal of Plant Protection and Pathology** 14:297–302.

Badano D, Aspöck U, Aspöck H, Cerretti (2017) Phylogeny of Myrmeleontiformia based on larval morphology (Neuropterida: Neuroptera). **Systematic Entomology** 42:94-117.

Bahar MH, Stanley JN, Gregg PC, Del Socorro AP (2012) Comparing the predatory performance of green lacewing on cotton bollworm on conventional and *Bt* cotton. **Journal of Applied Entomology** 136:263–270.

Banazeer A, Afzal MBS, Hassan S, Ijaz M, Shad SA, Serrão JE (2022) Status of insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) from 1997 to 2019: cross-resistance, genetics, biological costs, underlying mechanisms, and implications for management. **Phytoparasitica** 50:465–485.

Barros R, Vendramim JD (1999) Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 28:469–476.

Bestete LR, Torres JB, Henry CS (2019) Yellow mutant of the Neotropical green lacewing *Chrysoperla externa*: trait inheritance and predator performance. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 167:646–654.

Birch L (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. **The Journal of Animal Ecology** 17:15-26.

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72:248–254.

Bravo A, Hendrickx K, Jansens S, Peforoen M (1992) Immunocytochemical analysis of specific binding of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins to lepidopteran and coleopteran midgut membranes. **Journal of Invertebrate Pathology** 60:247–253.

Brito JP, Vacari AM, Thuler RT, De Bortoli SA (2021) Aspectos biológicos de *Orius insidiosus* (Say, 1832) predando ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). **Arquivos do Instituto Biológico** 76:627–633.

Brooks SJ, Barnard PC (1990) The green lacewings of the world: a generic review (Neuroptera: Chrysopidae). **Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology Series** 59:117-286.

Bruce TJA (2014) Glucosinolates in oilseed rape: secondary metabolites that influence interactions with herbivores and their natural enemies. **Annals of Applied Biology** 164: 348–353.

Campos H, Ortiz O (2020) **The potato crop**: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind. Cham: Springer International Publishing. 524p.

Campos WG, Schoereder JH, De Souza, OF (2006) Seasonality in neotropical populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera): resource availability and migration. **Population Ecology** 48:151–158.

Canard M (2010) Natural food and feeding habits of lacewings. In: McEwen PK, New TR, Whittington AE (Eds.) **Lacewings in the crop environment**. Cambridge: University Press. p. 116-129.

Canard M, Volkovich TA (2001) Outlines of lacewing development. In: McEwen P, New TR, Whittington AE (Eds.). **Lacewings in the crop environment**. Cambridge: University Press. p. 130-153.

Casagrande RA (1987) The Colorado Potato Beetle: 125 years of mismanagement. **Bulletin of the Entomological Society of America** 33:142–150.

Castelo Branco M, Melo CA (2002) Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira** 20:541–543.

Cheng EY (1988) Problems of control of insecticide-resistant *Plutella xylostella*. **Pesticide Science** 23:177–188.

Cock MJW, van Lenteren JC, Brodeur J, Barratt BIP, Bigler F, Bolckmans K, Côté FL, Mason PG, Parra JRP (2010) Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? **BioControl** 55: 199–218.

Cordeiro EMG, Corrêa AS, Venzon M, Guedes RNC (2010) Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. **Chemosphere** 81:1352–1357.

- Costa RIF, Souza B, Freitas S (2010) Dinâmica espaço-temporal de taxocenoses de crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) em ecossistemas naturais. **Neotropical Entomology** 39:470- 475.
- Cruces L, de La Peña E, Livia C, De Clerk P (2023) Development, predation, and prey preference of *Chrysoperla externa* on *Liorhyssus hyalinus* and *Nysius simulans*, two emerging pests of Quinoa. **Neotropical Entomology** 52:273–282.
- Cuello EM, Andorno AV, Hernández CM, López SN (2019) Prey consumption and development of the indigenous lacewing *Chrysoperla externa* feeding on two exotic *Eucalyptus* pests. **Biocontrol Science and Technology** 29:1159–1171.
- da Cunha FM, Caetano FH, Wanderley-Teixeira V, Torres JB, Teixeira ÁA, Alves LC (2012) Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on bt-cotton. **Micron** 43:245-250.
- Dami BG, Dos Santos JA, Barbosa EP, Rodriguez-Saona C, Vacari AM (2023) Functional response of 3 green lacewing species (Neuroptera: Chrysopidae) to *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Insect Science** 23:15.
- Daquila BV; Moi DA, Scudeler EL, Oliveira JAS, Polanczyk RA, Conte H (2023) Selectivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) to the polyphagous predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Applied Entomology** 147: 499–510.
- De Bortoli SA, Polanczyk RA, Vacari AM, De Bortoli CP, Duarte RT (2013) *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): Tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: Solonesky S (Ed.). **Weed and pest control-conventional and new challenges**. Rijeka: IntechOpen, p. 31-51.
- De CLercq P, Coudron, TA, Riddick EW (2023) Production of heteropteran predators. In: Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI (Orgs.). **Mass production of beneficial organisms**. New York: Academic Press, p. 37–69.
- De Oliveira Pimenta ICO, Nunes GS, Magalhães GO, Santos NA, Pinto MMD, De Bortoli SA (2020) Effects of a Bt-based insecticide on the functional response of *Ceraeochrysa cincta* preying on *Plutella xylostella*. **Ecotoxicology** 29:856-865.

Devaux A, Goffart JP, Kromann P, Andrade-Piedra J, Polar V, Hareau G (2021) The potato of the future: opportunities and challenges in sustainable agri-food systems. **Potato Research** 64:681-720.

Devaux A, Goffart JP, Petsakos A, Kromann P, Gatto M, Okello J, Suarez V, Hareau, G. (2020) Global food security, contributions from sustainable potato agri-food systems. In: Campos H, Ortiz O (Eds.). In: Campos H, Ortiz O (Eds.). **The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind**. Cham: Springer. p. 3-35.

Dias DGS, Soares CMS, Monnerat RG (2004) Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira** 22:553–556.

Díaz MA, Avellaneda J, Rodríguez D (2020) Effect of diet, maintenance frequency, and environmental conditions on the rearing of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) in Neotropical highlands. **International Journal of Tropical Insect Science** 40:503–512.

Duelli P, Johnson JB (1992) Adaptive significance of the egg pedicel in green lacewings (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae). In: Canard M, Aspöck H, Mansell MW (Eds.). **Current research in neuropterology: proceedings of the fourth international symposium on neuropterology**. Madison: Canard, p. 125-134.

Eigenbrode SD, Espelie KE, Shelton AM (1991) Behavior of neonate diamondback moth larvae [*Plutella xylostella* (L.)] on leaves and on extracted leaf waxes of resistant and susceptible cabbages. **Journal of Chemical Ecology** 17:1691–1704.

Eisner T, Attygalle AB, Conner WE, Eisner M, Macleod E, Meinwald J (1996) Chemical egg defense in a green lacewing (*Ceraeochrysa smithi*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 93:3280-3283.

Ertürk Ö, Yaman M, Aslan I (2008) Effects of four *Bacillus* spp. of soil origin on the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say). **Entomological Research** 38:135-138.

Fabrick J, Oppert C, Lorenzen MD, Morris K, Oppert B, Jurat-Fuentes JL (2009) A novel *Tenebrio molitor* cadherin is a functional receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa toxin. **Journal of Biological Chemistry** 284:18401-18410.

Farias ES, Fernandes AF, Andrade ED, Picanço MC, Carvalho GA (2023) Comparative toxicity of coffee insecticides to the green lacewing *Chrysoperla externa* in laboratory and persistence trials. **Crop Protection** 172:106-336.

Ferro DN (1994) Biological control of the Colorado potato beetle. In: Powelson ML, Zehnder GW, Janson RK (Eds.). **Advances in potato pest biology and management**. St. Paul: APS Press. p. 357-375.

Ferro DN, Logan JA, Voss RH, Elkinton JS (1985) Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feeding rates. **Environmental Entomology** 14:343–348.

Ferro DN, Morzuch BJ, Margolies D (1983) Crop loss assessment of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on potatoes in western Massachusetts. **Journal of Economic Entomology** 76:349-356.

Freitas S (2001) **O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas**. Jaboticabal: Funep. 66p.

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

Freitas S, Penny ND (2001) The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. **Proceedings of the California Academy of Sciences** 52:245-395.

Furlong MJ, Zalucki MP (2010) Exploiting predators for pest management: the need for sound ecological assessment. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 135:225–236.

Genovart M, Negre N, Tavecchia G, Bistuer A, Parpal L, Oro D (2010) The young, the weak and the sick: evidence of natural selection by predation. **PLoS One** 5:e9774.

Georgievska L, Joosten N, Hoover K, Cory JS, Vlak JM, van der Werf W (2010) Effects of single and mixed infections with wild type and genetically modified *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus on movement behaviour of cotton bollworm larvae. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 135:56–67.

Gepp J (1984) Morphology and anatomy of the preimaginal stages of Chrysopidae: a short survey. In: Canard M, Séméria Y, New TR (Eds.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk, p. 9-19.

Giles KL, Madden RD, Payton ME, Dillwith JW (2000) Survival and development of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) supplied with pea aphids (Homoptera: Aphididae) reared on alfalfa and faba bean. **Environmental Entomology** 29:304–311.

Gitirana Neto J, Carvalho CF, Souza B, Santa-Cecília LVC (2001) Flutuação populacional de espécies de *Ceraeochrysa* Adams, 1982 (Neuroptera: Chrysopidae) em citros, na região de Lavras-MG. **Ciência e Agrotecnologia** 25:550-559.

Golizadeh A, Kamali K, Fathipour Y, Abbasipour H (2007) Temperature-dependent development of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on two brassicaceous host plants. **Insect Science** 14:309–316.

Guan ZJ, Zhou QJ, Shi H, Tang ZX, Liu B, Wei W (2022) Effect of transgenic cotton expressing Bt Cry1Ac or Cry1Ab/Ac toxins on lacewing larvae mediated by herbivorous insect pests. **Plants** 11:2755.

Gupta RK, Gani M, Arora RK (2013) Prey infected with nucleopolyhedrovirus is preferred by the predatory stink bug *Eocanthecona furcellata* without altering its field fitness. **Biocontrol Science and Technology** 23:1442–1457.

Hare JD (1990) Ecology and management of the Colorado potato beetle. **Annual Review of Entomology** 35:81-100.

Hassanpour M, Ganbalani GN, Mohaghegh J (2009) Functional response of different larval instars of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), to the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Journal of Food, Agriculture & Environment** 7:424-428.

Hassanpour M, Mohaghegh J, Iranipour S, Nouri-Ganbalani G, Enkegaard A (2011) Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): effect of prey and predator stages. **Insect Science** 18:217-224.

Hernández-Juárez A, Aguirre-Uribe LA, González-Ruíz A, Chacón-Hernández JC, Landero-Flores J, Cerna-Chaves E, Flores-Dávila M, Harris MK (2016) Impact of endosulfan on the predatory efficiency of larval *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on the eggs of *Heliothis virescens* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Canadian Entomologist** 148:112–117.

Holling CS (1961) Principles of insect predation. **Annual Review of Entomology** 6:163-182.

Holling CS (1959) Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **The Canadian Entomologist** 91:385–398.

Horton DR, Chauvin RL, Hinojosa T, Larson D, Murphy C, Biever D (1997) Mechanisms of resistance to Colorado potato beetle in several potato lines and correlation with defoliation. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 82:239–246.

Hough-Goldstein JA, Heimpel GE, Bechmann HE, Mason CE (1993) Arthropod natural enemies of the Colorado potato beetle. **Crop Protection** 12:324–334.

House HL (1977) Nutrition of natural enemies. In: Ridgway RL, Vinson SB (Eds.). **Biological control by augmentation of natural enemies: insect and mite control with parasites and predators**. Boston: Springer, p. 151–182.

Ikeura H, Kobayashi F, Hayata Y (2010) How do *Pieris rapae* search for Brassicaceae host plants? **Biochemical Systematics and Ecology** 38:1199-1203.

IRAC - Comitê de Ação de Resistência a Inseticidas (2019) (ou 2018 como no texto?) **Manejo da resistência a inseticidas e a plantas Bt**. Disponível em: <https://www.irac-br.org/_files/ugd/6c1e70_d509bf58d94048358f3a3e6cb448f761.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2024.

Juliano SA (2020) Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: Scheiner SM, Gurevitch J (Eds.). **Design and analysis of ecological experiments**. Oxford: Academic Press. p. 159-182.

Juric I, Salzburger W, Balmer O (2017) Spread and global population structure of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and its larval parasitoids *Diadegma semiclausum* and *Diadegma fenestrale* (Hymenoptera: Ichneumonidae) based on mtDNA. **Bulletin of Entomological Research** 107:155–164.

- Justus KA, Mitchell BK (1966) Oviposition site selection by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Insect Behavior** 9:887-898.
- Kadoić Balaško M, Mikac KM, Bažok R, Lemic D (2020) Modern techniques in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) control and resistance management: history review and future perspectives. **Insects** 11:581.
- Kaleem Ullah RM, Gökçe A, Bakhsh A, Wu H, Naqqsh NM (2022) Insights into the use of eco-friendly synergists in resistance management of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Insects** 13:846.
- Klowden MJ (2013) **Physiological systems in insects**. New York: Academic Press. 682p.
- Koch M, Naumann M, Pawelzik E, Gransee A (2019) The importance of nutrient management for potato production. Part I: plant nutrition and yield. **Potato Research** 63:97–119.
- Krebs CJ (1994) **Ecology**: the experimental analysis of distribution and abundance. Essex: Pearson Education. 646p.
- Lamunyon CW, Adams PA (1987) Use and effect of an anal defensive secretion in larval Chrysopidae (Neuroptera). **Annals of the Entomological Society of America** 80:804-808.
- Lawo NC, Wäckers FL, Romeis J (2010) Characterizing indirect prey-quality mediated effects of a Bt crop on predatory larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. **Journal of Insect Physiology** 56:1702–1710.
- Lawrence SD, Novak NG, JU CJT, Cooke JEK (2008) Potato, *Solanum tuberosum*, defense against Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say): microarray gene expression profiling of potato by Colorado potato beetle regurgitant treatment of wounded leaves. **Journal of Chemical Ecology** 34:1013–1025.
- Lee MR (2006) The Solanaceae: foods and poisons. **Journal of Royal College of Physicians of Edinburgh** 36:162-169.
- Legaspi JC, Carruthers RI, Nordlund DA (1994) Life-history of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) provided sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) and other food. **Biological Control** 4:178–184.

Leppla NC (2023) Concepts and methods of quality assurance for mass-reared parasitoids and predators. In: Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shapiro-Ilan DI (Orgs.). **Mass production of beneficial organisms**. New York: Academic Press, p. 261–290.

Liu D, De Schutter K, Far J, Staes A, Dewettinck K, Quinton L, Gevaert K, Smagghe G (2022) RNAi of Mannosidase-Ia in the Colorado potato beetle and changes in the midgut and peritrophic membrane. **Pest Management Science** 78:5071–5079.

Liu TX, Stansly PA (1995) Deposition and bioassay of insecticides applied by leaf dip and spray tower against *Bemisia argentifolii* nymphs (Homoptera: Aleyrodidae). **Pesticide Science** 44:317-322.

Liu X, Ren D, Yang D (2014a) New transitional fossil snakeflies from China illuminate the early evolution of Raphidioptera. **BMC Evolutionary Biology** 14:1-15.

Liu X, Chen M, Collins HL, Onstad DW, Roush RT, Zhang Q, Earle ED, Shelton AM (2014b) Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **PLOS ONE** 9:e90366.

Logan PA, Casagrande RA, Faubert HH, Drummond F (1985) Temperature-dependent development and feeding of immature Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology** 14:275–283.

Maharajaya A, Vosman B (2015) Managing the Colorado potato beetle; the need for resistance breeding. **Euphytica** 204:487–501.

Maia ADH, Luiz AJ, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology** 93:511-518.

Matthews D, Jones H, Gans P, Coates S, Smith LMJ (2005) Toxic secondary metabolite production in genetically modified potatoes in response to stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53:7766–7776.

McEwen P, New TR, Whittington AE (2001). **Lacewings in the crop environment**. Cambridge: Cambridge University Press. 546p.

Memon AS, Omar D, Muhamad R, Sajap AS, Asib N, Gilal AA (2015) Functional responses of green lacewing *Chrysoperla nipponensis* (Neuroptera: Chrysopidae) reared on natural and herb based artificial diet. **Journal of Entomology and Zoology Studies** 3:80-83.

Mi X, Ji X, Yang J, Liang L, Si H, Wu J, Wang D (2015) Transgenic potato plants expressing cry3A gene confer resistance to Colorado potato beetle. **Comptes Rendus. Biologies** 338:443-450.

Mishra S, Dee J, Moar W, Dufner-Beattle J, Baum JA, Dias N, Alyokhin A, Buzzza A, Rondon SI, Clough M, Menasha S, Groves RL, Clements J, Ostile K, Felton G, Waters T, Snyder WE, Jurat-Fuentes JL (2021) Selection for high levels of resistance to double-stranded RNA (dsRNA) in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) using non-transgenic foliar delivery. **Scientific Reports** 11:6523.

Mishra S, Moar W, Jurat-Fuentes JL (2023) Larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistant to double-stranded RNA (dsRNA) remain susceptible to small-molecule pesticides. **Pest Management Science**. Doi: 10.1002/ps.7825

Mota-Sanchez D, Wise JC (2023) The arthropod pesticide resistance database. Disponível em: <<https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=141>>. Acesso em: 20 dez. 2023.

Muthoni J, Mbiyu MW, Nyamongo DO (2010) A review of potato seed systems and germplasm conservation in Kenya. **Journal of Agricultural & Food Information** 11:157–167.

Nauen R, Slater R, Sparks TC, Elbert A, Mccaffery A (2019) IRAC: insecticide resistance and mode-of-action classification of insecticides. In: Jeschke P, Witschel M, Krämer W, Schirmer U (Eds.). **Modern crop protection compounds**. Hoboken: John Wiley & Sons, p. 995–1012.

New TR (1969) Notes on the debris-carrying habit in larvae of British Chrysopidae (Neuroptera). **Entomologist's Gazette** 20:119-124.

New TR (1984) The need for taxonomic revision in Chrysopidae. In: Canard M, Séméria Y, New TR (Eds.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk Publishers. p. 37–41.

Nordlund DA, Vacek DC, Ferro DN (1991) Predation of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs and larvae by *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) larvae in the laboratory and field cages. **Journal of Entomological Science** 26:443-449.

- Nunes GS, Dantas TAV, Figueiredo WRS, Souza MS (2018) Predation of diamondback moth larvae and pupae by *Euborellia annulipes*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 13:1–8.
- Olaniyi OG, Andreason SA, Strickland TC, Simmons AM (2021) *Brassica carinata*: new reproductive host plant of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Entomological News** 129:500–511.
- Oswald JD, Machado, RJP (2018) Biodiversity of the Neuropterida (Insecta: Neuroptera: Megaloptera, and Raphidioptera). In: Footitt RG, Adler PH (Eds.). **Insect biodiversity: science and society**. New York: John Wiley & Sons, p. 627-671.
- Park Y, Abdullah MAF, Taylor MD, Rahman K, Adang MJ (2009) Enhancement of *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa and Cry3Bb toxicities to coleopteran larvae by a toxin-binding fragment of an insect cadherin. **Applied and Environmental Microbiology** 75:3086–3092.
- Peferoen M, Huybrechts R, De Loof A (1981) Longevity and fecundity in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 29:321–329.
- Perlak FJ, Stone TB, Muskopf Y, Petersen LJ, Parker GB, McPherson SA, Wyman J, Love S, Reed G, Biever D (1993) Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles. **Plant Molecular Biology** 22:313–321.
- Pinto MMD, De Bortoli SA, Ramalho DG, Magalhães GO, Santos LC, Nunes GS (2022) Oviposition behavior and biological aspects of *Ceraeochrysa cincta* (Schneider, 1851) (Neuroptera: Chrysopidae) over successive generations. **International Journal of Tropical Insect Science** 42:3441–3446.
- Ponce FS, Toledo CAL, De Oliveira MD, Seabra S Oliveira RC (2022) Cost and profitability of biological control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) using *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in kale and cabbage growth. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4157421>>. Acesso em: 03 jan. 24.
- Praça LB, Ramos FR, Oliveira FW, Soares CM (2010) Suscetibilidade da traça-das-crucíferas a *Bacillus thuringiensis* em repolho no Distrito Federal. **Universitas Ciências da Saúde** 8:17–31.

Principi MM, Canard M (1984) Feeding habits. In: Canard M, Séméria Y, New TR (Eds.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: W. Junk Publishers. p. 76-92.

Radcliffe EB, Lagnaoui A (2007) Insect pests in potato: insects. In: Vreughenhil D, Bradshaw J, Gebhardt C, Govers F, Taylor MA, MacKerron DKL, Ross HA (Eds.). **Potato biology and biotechnology**: advances and perspectives. Amsterdam: Elsevier, p. 543–567.

Rakow G (2004) Species origin and economic importance of *Brassica*. In: Pua E-C, Douglas CJ (Orgs.). **Brassica**. Berlin: Springer, p. 3–11.

Raymond B, Federici BA (2017) In defense of *Bacillus thuringiensis*, the safest and most successful microbial insecticide available to humanity - a response to EFSA. **FEMS Microbiology Ecology** 93(7):fix084.

Raza A, Hafeez MB, Zahra N, Shaukat K, Umbreen S, Tabassum J, Charagh S, Khan RSA, Hasanuzzaman M (2020) The plant family Brassicaceae: introduction, biology, and importance. In: Hasanuzzaman M (Org.). **The plant family Brassicaceae**: biology and physiological responses to environmental stresses. Singapore: Springer, p. 1–43.

Reddy BJ, Mandal R, Chakroborty M, Hijam L, Dutta P (2018) A review on potato (*Solanum tuberosum* L.) and its genetic diversity. **International Journal of Genetics** 10:360-364.

Resende ALS, Souza B, Menezes ELA, Oliveira RJ, Campos MES (2014) Influência de diferentes cultivos e fatores climáticos na ocorrência de crisopídeos em sistemas agroecológicos. **Arquivos do Instituto Biológico** 81:257-263.

Romeis J, Dutton A, Bigler F (2004) *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Insect Physiology** 50:175–183.

Rugno GR, Zanardi OZ, Parra JRP, Yamamoto P (2019) Lethal and sublethal toxicity of insecticides to the lacewing *Ceraeochrysa Cubana*. **Neotropical Entomology** 48:162–170.

Sablon L, Haubruge E, Verheggen FJ (2013) Consumption of immature stages of Colorado potato beetle by *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) larvae in the laboratory. **American Journal of Potato Research** 90:51–57.

Salama HS, El-Moursy A, Abdel-Rahman A (1999) Changes in the chemistry of the haemolymph of the corn borers *Chilo agamemnon* (Crambidae) and *Ostrinia nubilalis*

(Pyraustidae) after treatment with *Bacillus thuringiensis*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 32:249–256.

Sarfraz M, Dosdall LM, Keddle BA (2006) Diamondback moth–host plant interactions: implications for pest management. **Crop Protection** 25:625–639.

Sarfraz RM, Dosdall LM, Keddle AB, Myers JH (2011) Larval survival, host plant preferences and developmental responses of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on wild brassicaceous species. **Entomological Science** 14:20–30.

SAS Institute (2015) SAS/IML® User's Guide. SAS Institute, Cary, NC, USA

Sosa-Duque FJ, Tauber CA (2021) The neotropical green lacewing genus *Ceraeochrysa* Adams (Neuroptera: Chrysopidae)—New synonymies and combinations, a new species, and an updated key to species. **Zootaxa** 4970:1–52.

Schlick-Souza EC, Baldin ELL, Lourenção AL (2011) Variation in the host preferences and responses of *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) to cultivars of collard greens *Brassica oleracea* (L.) var. *acephala*. **Journal of Pest Science** 84:429–436.

Scriber JM, Slansky Jr. F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183–211.

Scudeler EL, Garcia ASG, Padovani CR, Pinheiro PFF, Santos DC (2016) Are the biopesticide neem oil and the predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) compatible. **Journal of Entomology and Zoology Studies** 4:340–346.

Sexson DL, Wyman JA (2005) Effect of crop rotation distance on populations of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): development of areawide Colorado potato beetle pest management strategies. **Journal of Economic Entomology** 98:716–724.

Shan Y-X, Zhu Y, Li J-J, Wang N-M, Yu Q-T, Xue C-B (2020) Acute lethal and sublethal effects of four insecticides on the lacewing (*Chrysoperla sinica* Tjeder). **Chemosphere** 250:126321.

Shelton AM, Nault BA (2004) Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection** 23:497–503.

Shuvakhina EY (1985) The lacewing against the Colorado beetle. **Zashchita Rastenii** 7:40.

Shuvakhina EY (1975) The common chrysopid as a predator of the Colorado beetle and possibilities for its use on potato. **Zashchity Rastenii** 44:154-161.

Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova NA (1976) **Manual de ecologia dos insetos** São Paulo: Ceres. 419p.

Smith A, Snapp S, Chikowo R, Thorne P, Bekunda M, Glover JD (2017) Measuring sustainable intensification in smallholder agroecosystems: a review. **Global Food Security** 12:127–138.

Smith RC (1926) The trash-carrying habit of certain lacewing larvae. **The Scientific Monthly** 23:265-267.

Southwood TRE (1978) The construction, description and analysis of age-specific life-tables. In: Southwood TRE (Ed.). *Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations*. Dordrecht: Springer. p. 356-387.

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

Souza B, Carvalho CF (2002) Population dynamics and seasonal occurrence of adults of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) in a citrus orchard in southern Brazil. **Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae** 48:301-310.

Squires SE, Hermanutz L, Dixon PL (2009) Agricultural insect pest compromises survival of two endemic *Braya* (Brassicaceae). **Biological Conservation** 142:203–211.

Stankovic S, Kostic MB, Sivicev I, Jankovic S (2012) Resistance of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to neonicotinoids, pyrethroids and nereistoxins in Serbia. **Romanian Biotechnological Letters** 17:7599-7609.

Stankovic S, Zabel A, Kostic MB, Manojlovic B, Rajkovic S (2004) Colorado potato beetle [*Leptinotarsa decemlineata* (Say)] resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. **Journal of Pest Science** 77:11–15.

Stenberg JA (2017) A conceptual framework for integrated pest management. **Trends in Plant Science** 22:759-769.

- Svobodová Z, Burkness EC, Habušťová OS, Hutchison W (2017) Predator preference for Bt-Fed *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) prey: implications for insect resistance management in Bt maize seed blends. **Journal of Economic Entomology** 110:1317–1325.
- Szendrei Z, Grafius E, Byrne A, Ziegler A (2012) Resistance to neonicotinoid insecticides in field populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Pest Management Science** 68:941–946.
- Talekar NS, Shelton AM (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275–301.
- Tauber CA, Tauber MJ, Albuquerque GS (2014) Debris-carrying in larval Chrysopidae: unraveling its evolutionary history. **Annals of the Entomological Society of America** 107:295-314.
- Tauber CA, De León T (2001) Systematics of green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae): larvae of *Ceraeochrysa* from Mexico. **Annals of the Entomological Society of America** 94:197–209.
- Ullah KRM, Gökçe A, Bakhsh A, Salim M, Wu HY, Naqqash MN (2022) Insights into the use of eco-friendly synergists in resistance management of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Insects** 13:846.
- Ulusoy MR, Ölmez-Bayhan S (2006) Effect of certain *Brassica* plants on biology of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* under laboratory conditions. **Phytoparasitica** 34:133–138.
- van Lenteren JC, Bolckmans K, Köhl J, Ravensberg W (2017) Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl** 63:39–59.
- Vasicek A, LaRossa F, Paglioni A, Fostel L (2003) Incremento poblacional de *Myzus persicae* (Sulzer) sobre tres crucíferas hortícolas en laboratorio. **Agricultura Técnica** 63:10-14.
- Viana CLTP, De Bortoli SA, Thuler RT, Goulart RM, Thuler AMG, Lemos MVF, Ferraudo AS (2009) Efeito de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Científica** 37:22–31.

- Villas Bôas GL, Castelo Branco M, Medeiros, MAD, Monnerat RG, França FH (2004). Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitóides. **Horticultura Brasileira** 22:696-699.
- Walker KR, Mendelsohn M, Matten SR, Alphin M (2003) The role of microbial Bt products in U.S. crop protection. **Journal of New Seeds** 5:31–52.
- Wang L, Zhao Z, Walter GH, Furlong MJ (2023) Predicting the impacts of climate change on the biological control of *Plutella xylostella* by *Diadegma semiclausum*. **Agricultural and Forest Entomology** 25:251–260.
- Wang X, Wu Y (2012) High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. **Journal of Economic Entomology** 105:1019–1023.
- Wang Y, Li Y, Romeis J, Chen X, Zhang J, Chen H, Peng Y (2012) Consumption of Bt rice pollen expressing Cry2Aa does not cause adverse effects on adult *Chrysoperla sinica* Tjeder (Neuroptera: Chrysopidae). **Biological Control** 61:246–251.
- Weber D (2003) Colorado beetle: pest on the move. **Pesticide Outlook** 14:256-259.
- Winterton SL, Hardy NB, Wiegmann BM (2010) On wings of lace: phylogeny and Bayesian divergence time estimates of Neuropterida (Insecta) based on morphological and molecular data. **Systematic Entomology** 35:349-378.
- Wustman R, Carnegie SF (2000) Assessment of new potato cultivars in Europe: a survey. **Potato Research** 43:97-106.
- Zalucki MP, Shabbir A, Silva R, Adamson DC, Liu S-S, Furlong MJ (2012) Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology** 105:1115–1129.
- Zhang H, Xu F, Wu Y, Hu H-H, Dai X-F (2017) Progress of potato staple food research and industry development in China. **Journal of Integrative Agriculture** 16:2924–2932.
- Zhou ZS, Song JB, Yang, ZM (2012) Genome-wide identification of *Brassica napus* microRNAs and their targets in response to cadmium. **Journal of Experimental Botany** 63:4597–4613.