

**Desenvolvimento de Dieta
Artificial para *Cycloneda
sanguinea* (Coleoptera:
Coccinellidae)**

Foto: Paula Ramos Sicsú



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa 294 e Desenvolvimento

Desenvolvimento de Dieta Artificial para *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae)

Lucas Machado de Souza
André Ricardo Bellinati
Marcelo Broilo Paganella
Débora Pires Paula
Carmen Silvia Soares Pires
Edison Ryoiti Sujii

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica - PqEB – Av. W5 Norte (final)

Caixa Postal: 02372 - Brasília, DF - Brasil – CEP: 70770-917

Fone: (61) 3448-4700

Fax: (61) 3340-3624

Home Page: <http://www.cenargen.embrapa.br>

E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *João Batista Teixeira*

Secretário-Executivo: *Thales Lima Rocha*

Membros: *Jonny Everson Scherwinski Pereira*

Lucília Helena Marcelino

Lígia Sardinha Fortes

Márcio Martinelli Sanches

Samuel Rezende Paiva

Vânia Cristina Rennó Azevedo

Suplentes: *João Batista Tavares da Silva*

Daniela Aguiar de Souza Kols

Supervisor editorial: Lígia Sardinha Fortes

Revisor de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica: Ana Flávia do Nascimento Dias

Editoração eletrônica: José Cesamildo Cruz Magalhães

Foto da capa: Paula Ramos Sicsú

1ª edição (*online*)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Desenvolvimento de dieta artificial para *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae). / Lucas Machado de Souza [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia, 2013.

18 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 294).

1. Controle biológico. 2. *Cycloneda sanguinea*. 3. *Aphis gossypii*. I. Souza, Lucas Machado de. II. Bellinati, André Ricardo. III. Paganella, Marcelo Broilo. IV. Paula, Débora Pires. V. Pires, Carmen Sílvia Soares. VI. Sujii, Edison Ryoiti. VII. Série.

632.7 – CDD 21

© Embrapa 2013

Sumário

Resumo	05
Abstract	06
Introdução	07
Material e métodos	08
Resultados e discussão	11
Conclusões	14
Referências	15

Desenvolvimento de Dieta Artificial para *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae)

Lucas Machado de Souza

André Ricardo Bellinati

Marcelo Broilo Paganella

Débora Pires Paula

Carmen Silvia Soares Pires

Edison Ryoiti Sujii

Resumo

Os conhecimentos a respeito de bioecologia, nutrição de insetos e técnicas de criação podem potencializar a manutenção de predadores em dietas artificiais. Essas dietas são importantes em avaliações de risco de plantas geneticamente modificadas que poderiam afetar insetos não alvo da biotecnologia, como também em criação massal para programas de controle biológico. Entretanto, a obtenção de dietas artificiais adequadas é um limitante na criação de insetos afidófagos da família Coccinellidae, e até o momento os estudos não foram satisfatórios para a criação da joaninha *Cycloneda sanguinea*, um importante agente de controle biológico natural nos agroecossistemas brasileiros. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma dieta artificial à base do pulgão *Aphis gossypii* para a joaninha *C. sanguinea*. A primeira etapa do estudo consistiu no teste de cinco dietas artificiais no desenvolvimento de larvas da joaninha. Na segunda etapa, quatro dietas à base de levedo de cerveja, gérmen de trigo e mel acrescidas de pulgão *A. gossypii* macerado e congelado em diferentes proporções (0; 1,4; 2,8 e 10,2% m/m) mais o controle (pulgão fresco), foram testadas durante todo o ciclo de vida. Cada tratamento consistiu de 40 larvas de primeiro instar utilizadas um dia após a eclosão e mantidas individualmente em recipientes plásticos (50 mL) com dieta *ad libitum*. Todas as dietas artificiais utilizadas na segunda etapa permitiram o desenvolvimento das larvas até o estágio adulto. Houve diferença entre os tratamentos no tempo de desenvolvimento larval (RV = 322,15; $p < 0,05$) e duração do estágio de pupa (RV = 20,155; $p < 0,05$). Houve redução no tempo de desenvolvimento de larva ao adulto nas dietas com proporção intermediária de pulgão ($20,00 \pm 1,66$ dias, RV = 221,51; $p < 0,05$). Entretanto, as dietas com as maiores proporções de pulgão apresentaram maior longevidade dos adultos ($121,69 \pm 6,62$ dias; RV = 161,12; $p < 0,05$), semelhante ao tratamento controle. As dietas artificiais à base do pulgão *A. gossypii* reduzem o tempo de desenvolvimento de larva a adulto com uma longevidade satisfatória, porém sem registro de ovos férteis nas dietas testadas. Isso mostra que estudos sobre as necessidades nutricionais específicas para a reprodução das joaninhas precisam ser aprofundados.

Palavras-chave: *Aphis gossypii*, nutrição de insetos, *Cycloneda sanguinea*.

Development of an Artificial Diet for *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae)

Abstract

The knowledge concerning the bioecology, insect nutrition and techniques for rearing can enhance the maintenance of predators on artificial diets. These diets are important in risk assessment of genetically modified plants that could affect biotechnology non target insects, as well as in mass rearing for biological control programs. However, the availability of adequate artificial diets is a limiting factor in insect rearing aphidophagous of the Coccinellidae family and the studies have not been satisfactory for the rearing of the ladybug *Cycloneda sanguinea*, an important agent of natural biological control in Brazilian agroecosystems. The aim of this study was to develop an artificial diet based on *Aphis gossypii* aphid to *C. sanguinea*. The first stage of the study consisted of testing five artificial diets in developing ladybugs larvae. In the second stage, four diets based on beer yeast, wheat germ and honey plus aphid *A. Gossypii* macerated and frozen at different concentrations (0, 1.4, 2.8 and 10.2 % m/m) over the control (fresh aphids) were tested throughout the life cycle. Each treatment consisted of 40 first instar larvae used one day after hatching and maintained individually in plastic containers (50 mL) with *ad libitum* diet. All artificial diets used in the second stage allowed the development of the larvae to the adult stage. There was difference between treatments in larval developmental time (RV = 322.15, $p < 0.05$) and duration of the pupal stage (RV = 20.155, $p < 0.05$). There was a reduction in development time from larvae to adult on diets containing intermediate proportion of aphid (20.00 ± 1.66 days, RV = 221.51, $p < 0.05$). However, diets with higher proportions of aphid had greater adults longevity (121.69 ± 6.62 days; RV = 161.12, $p < 0.05$), similar to control. It is possible that the aphid macerated served as nutritional complement or phago stimulant. The artificial diets based on aphid *A. gossypii* reduce the development time of larvae to the adult with a satisfactory longevity, but there was no record of fertile eggs in the diets tested. This indicates that studies about specific nutritional requirements for ladybugs reproduction still need to be developed.

Key words: *Aphis gossypii*, insect nutrition, *Cycloneda sanguinea*.

Introdução

O conhecimento dos ingredientes de uma dieta artificial adequada tanto para a fase larval quanto para a fase adulta de um inseto é fundamental para a manutenção do nível populacional constante de espécies de interesse em laboratório (PARRA, 1998). Muitos estudos têm sido realizados no estabelecimento dos padrões ecológicos e das necessidades nutricionais para aumentar a eficiência de insetos entomófagos (MOHAGHEGH; AMIR-MAAFI, 2007), visando desde a criação em pequena escala para pesquisas básicas até a criação massal para fins comerciais (PARRA, 2009).

Além da utilização em programas de controle biológico, dietas artificiais para inimigos naturais podem ser utilizadas em bioensaios para análise de risco ambiental em situações em que inexistente a planta geneticamente modificada (GM), mas a entomotoxina a ser expressa na planta GM já está disponível para testes de biossegurança. Nessas situações, existe a necessidade da criação de insetos predadores em dietas artificiais em quantidade e qualidade suficiente para a realização de bioensaios onde seja possível simular as rotas de exposição dos insetos a entomotoxinas através da alimentação. Dessa forma, tais entomotoxinas podem ser testadas adicionando-se na dieta doses conhecidas tornando os bioensaios confiáveis à avaliação dos possíveis efeitos letais e subletais sobre os insetos não alvo da transgenia (FARIA et al., 2006).

A joaninha predadora *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae) é uma espécie afidófaga abundante entre os coccinélideos nos agroecossistemas brasileiros. É considerada também um importante agente de controle biológico natural do pulgão *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae), um fitófago-praga do algodoeiro (SILVA-SANTOS et al., 2006). Apesar dos conhecimentos biológicos e das técnicas de criação poderem melhorar a qualidade dos insetos predadores, a disponibilidade de dietas artificiais adequadas representa um limitante na criação de insetos afidófagos da família Coccinellidae (SOARES et al., 2004; DE CLERCQ et al., 2005).

A espécie *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae) foi o primeiro predador criado *in vitro* com dietas à base de fígado de porco gerando descendência fértil (ATTALLAH; NEWSON, 1966). Recentemente, Da silva et al. (2010) mostraram que uma dieta à base de mel, levedo de cerveja, ácido ascórbico, ácido propiônico, ácido sórdico, nipagim e adicionada de água com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) como presa alternativa para criação da joaninha *C. maculata* em laboratório foi suficiente para alcançar o estágio adulto, porém a longevidade e reprodução dos adultos não foram avaliadas.

Smirnoff (1958) publicou resultados satisfatórios na criação de larvas e adultos de joaninhas afidófagas, coccidófagas, acarófagas e micófagas quando alimentadas com uma dieta à base de geleia real, ágar, cana de açúcar, mel, trigo e água com adição de uma pequena quantidade de suas presas naturais. Resultados semelhantes foram encontrados por Chumakova (1962) na criação de *Cryptolaemus montrouzieri* na mistura de presas naturais com uma variedade de substâncias.

Grenier et al. (1994) relataram quatro espécies de joaninhacriadas em dieta artificial favorecendo sua disponibilidade comercial como agentes de controle biológico: *C. montrouzieri*, *Harmonia axyridis*, *Hippodamia convergens* e *C. maculata*. Até o momento, o maior sucesso de dieta artificial foi desenvolvido por Hodek et al. (1978) para a espécie polífaga *C. maculata*, porém a mesma dieta não foi adequada quando testada para *C. sanguinea* (SZUMKOWSKI, 1961), possivelmente devido à carência de conhecimento

sobre elaboração de uma dieta artificial para essa espécie e também devido a baixa plasticidade nutricional a diferentes fontes alimentares.

Para a criação desse predador em laboratório, é imprescindível o desenvolvimento em dietas artificiais, pois estas possibilitam a manutenção contínua de populações do inseto durante todo o ano. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma dieta artificial para a joaninha *C. sanguinea* à base do pulgão *A. gossypii*, a fim de utilizar a dieta como via de exposição em bioensaios de toxicidade e potenciais impactos de entomotoxinas sobre esse predador, bem como na criação massal para programas de controle biológico.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos em uma sala climatizada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ UR e 12h de fotofase no Laboratório de Ecologia e Biossegurança da Empresa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal. As dietas avaliadas neste trabalho foram modificações feitas a partir das dietas artificiais desenvolvidas por Bernardes et al. (2008) e Da Silva et al. (2010) com as joaninhas predadoras *C. sanguinea* e *C. maculata*, respectivamente.

As dietas foram avaliadas em duas etapas. Primeiramente, cinco dietas de consistência pastosa foram testadas com alterações qualitativas e quantitativas dos ingredientes (Tabela 1). A dieta 1, composta de mel, ágar, metilparabeno (Nipagin®), ácido sórbico e água, serviu como ponto de partida e foi modificada sequencialmente para a composição das demais dietas.

A dieta 2 foi produzida pela adição de ovo desidratado e frutose com redução na quantidade de mel. A dieta 3 sofreu redução na quantidade de ovo desidratado, remoção da frutose e adição de ácido ascórbico. Para a composição da dieta 4, levedo de cerveja, gérmen de trigo, leite condensado e frutose foram incorporados; ácido ascórbico, ácido sórbico e metilparabeno foram retirados; as proporções de ovo desidratado, mel e água foram reduzidas. A dieta 5 sofreu adição de pulgões macerados da espécie *A. gossypii* criados em folhas de algodoeiro, *Gossypium hirsutum latifolium*, variedade BRS Aroeira, mantidos congelados. Essas alterações foram realizadas a fim de diversificar os componentes e variar as concentrações de carboidratos, aminoácidos, vitaminas e anticontaminantes para aperfeiçoar a dieta.

Tabela 1. Composição das dietas artificiais testadas preliminarmente para a criação de larvas e adultos de *C. sanguinea*, modificadas a partir de BERNARDES *et al.* (2008) e DA SILVA *et al.* (2010).

Componentes (massa / %)	Dietas artificiais									
	Dieta 1		Dieta 2		Dieta 3		Dieta 4		Dieta 5	
	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Levedo de cerveja	-	-	-	-	-	-	3,8	11,9	3,8	11,5
Gérmen de trigo	-	-	-	-	-	-	6,3	19,8	6,3	19,2
Ovo desidratado	-	-	50,0	27,3	20,0	15,6	3,1	9,9	3,1	9,6
Mel	50,0	37,5	25,0	13,6	25,0	19,5	3,8	11,9	3,8	11,5
Leite condensado	-	-	-	-	-	-	1,9	5,9	1,9	5,7
Frutose	-	-	25,0	13,6	-	-	2,5	7,9	2,5	7,7
Ágar	3,0	2,3	3,0	1,6	3,0	2,3	1,0	3,2	1,0	3,1
<i>A. gossypii</i> ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	3,1
Ácido ascórbico	-	-	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-
Ácido sórbico	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	-	-	-	-
Nipagin®	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	-	-	-	-
Água	80,0	60,0	80,0	43,6	80,0	62,3	9,4	29,6	9,4	28,7
Total	133,3	100,0	183,3	100,0	128,5	100,0	31,6	100,0	32,6	100,0

¹ Proporção de pulgão *A. gossypii* na dieta artificial.

A dieta de consistência pastosa (Figura 1a) foi oferecida aos adultos e larvas *ad libitum*, juntamente com um chumaço de algodão umedecido com água mineral colocado no fundo do recipiente. As larvas e adultos foram mantidos individualmente em recipientes plásticos (copinhos de café de 50 mL) com tampa acrílica transparente (Figura 1b). Tanto a dieta quanto o algodão com água foram trocados diariamente (Figura 1c).

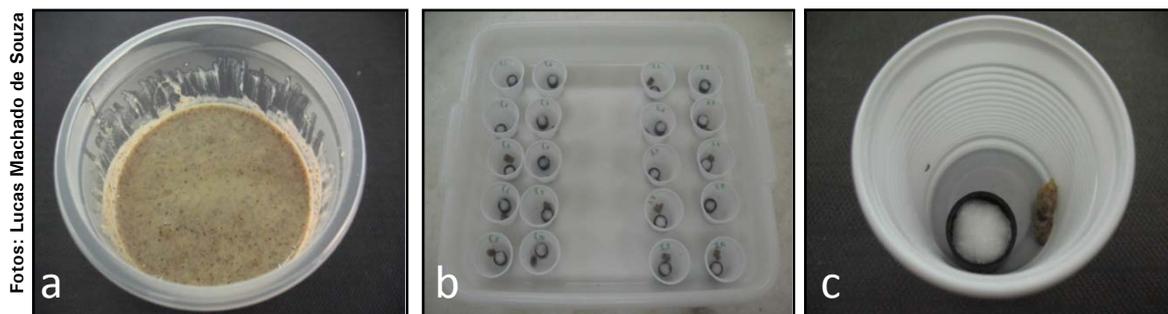


Figura 1. Recipientes com a dieta artificial: a) recipiente contendo a dieta artificial recém-preparada; b) visão geral dos potes de criação (copinhos plásticos para café de 50 mL) contendo as larvas (um indivíduo por recipiente), a dieta artificial e o algodão umedecido com água; c) larva de primeiro instar (em destaque) em potes de criação contendo dieta artificial e algodão umedecido.

A segunda etapa de testes foi realizada com a preparação de mais quatro dietas artificiais, que diferiram em relação à primeira etapa na redução da proporção de leite condensado, gérmen de trigo e levedo de cerveja a fim de alterar a consistência da dieta e reduzir os níveis de carboidratos oferecidos. Além disso, houve adição do pulgão *A. gossypii* em diferentes proporções (0, 1,4, 2,8 e 10,2% de pulgão congelado) nas dietas testadas e no controle utilizado (pulgões frescos *ad libitum* mantidos em folha de algodão) (Tabela 2). Os pulgões congelados utilizados em todos os tratamentos foram conservados sob temperatura de 20°C negativos por um período de no máximo trinta dias. O pulgão *A. gossypii* foi o escolhido por ser considerado um alimento essencial ao desenvolvimento da joaninha *C. sanguinea* (HODEK; EVANS, 2012).

Tabela 2. Composição de diferentes dietas artificiais, medidas em gramas, para a criação de larvas e adultos de *C. sanguinea*.

Componentes (massa / %)	Controle	Dietas artificiais							
		Dieta 6		Dieta 7		Dieta 8		Dieta 9	
		g	%	g	%	g	%	g	%
Levedo de cerveja	-	3,8	5,3	3,8	5,3	3,8	5,2	3,8	4,8
Gérmen de trigo	-	6,3	8,9	6,3	8,8	6,3	8,6	6,3	8,0
Ovo desidratado	-	3,1	4,4	3,1	4,4	3,1	4,3	3,1	4,0
Mel	-	3,8	5,3	3,8	5,3	3,8	5,2	3,8	4,8
Leite condensado	-	1,9	2,7	1,9	2,6	1,9	2,6	1,9	2,4
Ágar	-	1,5	2,1	1,5	2,1	1,5	2,1	1,5	1,9
<i>A. gossypii</i> ¹	<i>Ad libitum</i> ²	0,0	0,0	1,0	1,4	2,0	2,8	8,0	10,2
Nipagin®	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Água	-	50,0	71,0	50,0	70,0	50,0	69,1	50,0	63,8
Total	-	70,4	100,0	71,4	100,0	72,4	100,0	78,4	100,0

¹Pulgão fresco.

²Proporção de pulgão *A. gossypii* na dieta artificial.

O delineamento experimental consistiu de 10 tratamentos e 40 repetições/tratamento com larvas de primeiro instar utilizadas 12 horas após eclosão. Os indivíduos foram designados a cada dieta de forma aleatória.

As larvas de *C. sanguinea* foram provenientes de uma população mantida em laboratório, oriundas de diferentes casais alimentados com pulgão da espécie *A. gossypii*. Os pulgões foram obtidos de criações em laboratório mantidos em folhas frescas do algodoeiro *Gossypium hirsutum*.

Após a emergência, os adultos foram sexados, casais foram formados e alimentados de acordo com o tratamento e mantidos no mesmo tipo de recipientes usados na fase larval. Foram mensuradas as seguintes variáveis: tempo de desenvolvimento larval (dias), duração da fase de pupa (dias), taxa de emergência, longevidade (dias), fecundidade dos adultos e viabilidade dos ovos.

A comparação entre os tratamentos foi feita por análise de deviance (ANODEV) através dos modelos lineares generalizados atribuindo distribuição de Poisson. Devido à alta variabilidade presente nos dados foi necessária uma correção no modelo Poisson através do método de Quasi-verossimilhança, o que leva a denominação modelo quasipoisson (CRAWLEY, 2007). As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

Resultados e discussão

As larvas de *C. sanguinea* alimentadas com as dietas artificiais 1, 2, 3, 4 e 5 não conseguiram atingir o segundo instar, o que pode estar associado à falta de algum nutriente ou a uma inadequação nutricional dos compostos usados nas dietas testadas. Os resultados estão de acordo com o proposto por Michaud (2005), quando um alimento é inadequado para o desenvolvimento larval de joaninhas, o primeiro instar larval raramente é completado.

No entanto, todas as dietas artificiais utilizadas na segunda etapa, bem como o tratamento controle, permitiram o desenvolvimento das larvas até o estágio adulto. O tempo de desenvolvimento larval, pupal e total (ovo a adulto), a proporção de indivíduos que chegaram ao estágio de pupa e de adulto e a longevidade dos adultos da segunda etapa estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3. Tempo de desenvolvimento larval, pupal e total (ovo a adulto), proporção de indivíduos que chegaram ao estágio de pupa e adulto e longevidade dos adultos. Médias seguidas por letras diferentes em cada coluna diferem significativamente pela análise de deviência do modelo linear generalizado a 5% de significância.

Tratamentos	Tempos de desenvolvimento (dias) (M ± DP)			Viabilidade (%)	Longevidade (dias)	
	Larval	Pupal	Total	(n° indivíduos)	Pupa-adulto	Adulto
Dieta 6	21,48 ± 3,83 a	5,50 ± 0,58 a	24,50 ± 4,51a	67,5 (27)	14,8 (4)	78,25 ± 7,68 c
Dieta 7	18,82 ± 4,59 b	4,31 ± 0,48 b	22,19 ± 3,78b	55,0 (22)	72,7 (16)	110,56 ± 7,11 b
Dieta 8	16,09 ± 2,07 c	4,56 ± 0,53 b	20,00 ± 1,66b	55,0 (22)	81,8 (18)	119,38 ± 7,00 a
Dieta 9	19,00 ± 4,60 b	5,06 ± 1,29 a	24,06 ± 4,60a	53,1 (21)	100,0 (21)	121,69 ± 6,62 a
Controle	10,58 ± 1,99 d	4,12 ± 0,93 b	14,70 ± 2,15c	100,0 (40)	78,9 (32)	123,65 ± 8,55 a

O maior tempo de desenvolvimento larval foi observado nos indivíduos alimentados com a dieta 6, seguido pelos indivíduos alimentados com as dietas 7 e 9 e depois pelos indivíduos alimentados com a dieta 8. Os indivíduos do grupo controle apresentaram o menor tempo de desenvolvimento larval (10,58 ± 1,99 dias) (RV = 322,15; GL = 4; p < 0,05), resultado semelhante aos 8,2 ± 0,10 dias (n = 14) encontrados por Işikber; Copland (2002), quando alimentadas com ninfas de *A. gossypii* sob temperatura de 22,5 ± 1 °C e 60 ± 5%UR. Isso mostra que o tratamento controle foi realizado com qualidade, servindo de parâmetro para comparação com os tratamentos testes.

O tempo de duração do estágio de pupa dos indivíduos das Dietas 6 e 9 (5,50 ± 0,58 e 5,06 ± 1,29 dias, respectivamente) foi maior que nos indivíduos das Dietas 7 e 8 e do grupo controle (4,31 ± 0,48; 4,56 ± 0,53 e 4,12 ± 0,93 dias, respectivamente) (RV =

20,155; GL = 4; $p < 0,05$).

O estágio de desenvolvimento de larva a adulto para os indivíduos das Dietas 6 e 9 durou $24,50 \pm 4,51$ e $24,06 \pm 4,06$ dias, respectivamente, tendo sido mais longo do que aquele observado nos indivíduos das dietas 7 e 8, com $22,19 \pm 3,78$ e $20,00 \pm 1,66$ dias de duração, respectivamente, ficando o grupo controle com o menor tempo total de desenvolvimento, com $14,70 \pm 2,15$ dias (RV = 221,51; GL = 4; $p < 0,05$). A redução no tempo da fase larval e pupal é importante em programas de controle biológico pela rápida obtenção de adultos, elevando a população do inimigo natural em laboratório (AUAD, 2003).

Os indivíduos do grupo controle e das Dietas 8 e 9, que atingiram a fase adulta, apresentaram a maior longevidade média, com $123,65 \pm 8,55$, $121,69 \pm 6,62$ e $119 \pm 7,01$ dias, respectivamente, que aqueles da Dieta 7 ($110,56 \pm 7,11$ dias), sendo a menor longevidade observada nos adultos da Dieta 6 ($78,25 \pm 7,68$ dias) (RV = 161,12; GL = 4; $p < 0,05$). Em nenhum tratamento houve registro de ovos férteis a partir dos casais formados, impossibilitando a avaliação do ciclo reprodutivo.

O desenvolvimento até o estágio adulto das larvas alimentadas com a dieta 6 comparado com as dietas 1 a 5, foi possivelmente devido à maior proporção de água, alterando a textura e o acesso à dieta pelas larvas. Além disso, supõe-se que a suspensão da adição de frutose na dieta; a redução de anticontaminantes com a retirada do ácido sórbico e a redução na proporção de levedo de cerveja e gérmen de trigo foram medidas importantes para os indivíduos chegarem à fase adulta. Devido ao resultado positivo, essas alterações foram mantidas nas dietas 7, 8 e 9, alterando-se apenas a adição do pulgão congelado e macerado.

A redução no tempo de desenvolvimento das larvas nas dietas 7, 8 e 9, bem como taxas de emergência das pupas superiores às taxas encontradas na dieta 6, sugerem que o pulgão atuou como complemento alimentar, contendo composto(s) ou um balanço nutricional que favorece o desenvolvimento das joaninhas. Estes resultados coincidem com o trabalho de Işikber; Copland (2002), em que o pulgão *A. gossypii* é considerado um alimento satisfatório ao desenvolvimento de *C. sanguinea*. Por outro lado, partes dos insetos-presa na composição das dietas artificiais foram importantes para estimular a alimentação e fornecer fatores de crescimento (DE CLERCQ, 2008).

Oliveira et al. (2004) mostraram que adultos de *C. sanguinea* criados no pulgão *Cinara atlantica* (Hemiptera: Aphididae) sob temperatura de $23 \pm 1^\circ \text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ alcançaram longevidade média de $125,70 \pm 3,12$, semelhante ao encontrado nos adultos das dietas 8 e 9. Esses dados sugerem que essas dietas sustentam os indivíduos pela disponibilidade de uma fonte alimentar adequada à manutenção dos adultos, porém sem favorecer a reprodução.

A capacidade reprodutiva do inseto é determinada pela qualidade nutricional do alimento, e qualquer fator que afeta a incorporação de nutrientes pode afetar a fertilidade das fêmeas (WHEELER, 1996). Para a maioria dos coccinélídeos, é necessário que nutrientes essenciais estejam disponíveis para o completo desenvolvimento e garantia de uma progênie viável (HODEK, 1973). Por exemplo, a vitamina E (α -tocoferol) e o colesterol presentes no mel e no ovo desidratado, respectivamente, são nutrientes essenciais na regulação da fertilidade nos insetos adultos (GREGORY, 1996), no estímulo à cópula (HODEK; EVANS, 2012), no crescimento larval e na esclerotização da cutícula, além de serem precursores de hormônios esteroides (PARRA, 2009). Entretanto, neste experimento

não foram suficientes para viabilizar a reprodução dos adultos.

Embora as dietas artificiais utilizadas neste experimento contivessem os principais nutrientes para o crescimento do inseto, a possível carência em fago estimulantes físicos e químicos, um desbalanço nutricional ou mesmo a falta de características físicas ou biológicas necessárias ao desenvolvimento do aparato reprodutivo dos machos e das fêmeas poderiam ter comprometido a fertilidade (PARRA, 1998).

A adição dos pulgões macerados nas dietas pode ter funcionado como um fago estimulante ou complemento nutricional para adequar a dieta sólida a um melhor desenvolvimento do predador em laboratório. Segundo Parra (2009), para alcançar uma dieta artificial adequada, é necessário garantir alta viabilidade larval, produção de insetos com duração da fase larval igual à da natureza, adultos com alta capacidade reprodutiva dentre outras características.

No caso da dieta 9, a maior proporção de pulgão macerado levou a um maior tempo de desenvolvimento larval comparado com as dietas 7 e 8. Isso pode ser explicado pela assimilação precária de nutrientes causado pelo excesso do mesmo, sugerindo que concentrações extremas de pulgões, sejam para mais ou para menos, associados com os outros nutrientes já presentes nas dietas desfavoreçam o desenvolvimento larval dos indivíduos. Por outro lado, as dietas com as maiores concentrações de pulgão (dietas 8 e 9) proporcionaram uma longevidade dos adultos semelhante ao tratamento controle, mostrando que o pulgão atuou como fonte energética necessária na manutenção dos adultos vivos mesmo sem haver reprodução.

O mel foi utilizado na dieta devido à presença de uma mistura complexa de açúcares (principalmente glicose e frutose), bem como pequenas quantidades de outros constituintes como: minerais, proteínas, vitaminas, ácidos orgânicos, flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas e outras substâncias biologicamente ativas (HOOPER, 1981; WELKE et al., 2008). As principais vitaminas encontradas no mel são do complexo B, C e D, essenciais ao desenvolvimento e à manutenção dos insetos adultos (CRANE, 1985). Além disso, o mel pode ter funcionado como um fago estimulante, principalmente devido à rica presença de açúcares.

O levedo de cerveja funcionou como fonte de carboidratos, proteínas (nitrogênio), cálcio e ferro, sendo este último essencial para produção do hormônio da ecdise e da formação da cutícula. O gérmen de trigo forneceu, além de carboidratos e proteínas, lipídeos que atuam como fonte de energia, constituintes das membranas celulares e formação de hormônios juvenis e da muda. O ovo desidratado foi utilizado pela riqueza em proteínas e colesterol (PARRA, 2009).

A baixa taxa de indivíduos que alcançaram o estágio adulto pode ser devido ao comprometimento da vitamina C nas dietas, dentre outros fatores. Apesar da vitamina C estar presente no mel, ela é muito suscetível à degradação, especialmente quando presente em solução exposta a calor, luz, oxigênio e radicais livres (COHEN, 2004). No preparo das dietas, o ágar foi aquecido em água a temperaturas elevadas para ocorrer a solidificação. Após isso, foi adicionado o mel com a água a 60°C, e esse processo pode ter degradado as moléculas de vitamina C. Além disso, segundo Ave (1995), a vitamina C é essencial também como fago estimulante, antioxidante, para a esclerotização da cutícula e possivelmente em reações de defesa.

Em estudos de ecologia nutricional, as dietas testadas na segunda parte do experimento foram classificadas como “marginal”, segundo as categorias descritas por MICHAUD (2005), por sustentar o desenvolvimento das larvas e prolongar a longevidade dos adultos, mas sem favorecer a reprodução das fêmeas. Resultados semelhantes foram encontrados em Michaud (2000), em que larvas de uma população de *Harmonia axyridis* da Flórida se desenvolveram com sucesso em dieta à base de *Aphis spiraecola*, com tempo de desenvolvimento larval extenso e peso reduzido dos adultos, mas com postura de ovos inviáveis.

A fim de aprimorar e aperfeiçoar a elaboração de uma dieta artificial para *C. sanguinea*, a realização de uma análise bromatológica do pulgão *A. gossypii* pode ser uma alternativa para se conhecer os compostos químicos em suas proporções adequadas. A partir disso, uma dieta merídica, cujos componentes são quimicamente definidos (PARRA, 2009), pode ser elaborada com um balanço nutricional próximo às necessidades desse predador estudado.

Além disso, novos testes com diferentes combinações de componentes da dieta devem ser conduzidos, levando-se em consideração propriedades físicas, tais como resistência, textura, homogeneidade e teor de água, a fim de melhorar os resultados das variáveis avaliadas, aproximando-as da dieta controle e do melhor custo-benefício.

Conclusões

As dietas artificiais à base do pulgão *A. gossypii* forçadas à joaninha *C. sanguinea* como única fonte de alimento permitem o desenvolvimento das larvas até o estágio adulto com uma longevidade satisfatória, porém sem haver reprodução dos indivíduos. O pulgão macerado atua como complemento alimentar e/ou fago estimulante. É necessário aperfeiçoar a técnica de criação em dieta artificial a fim de se obter o melhor desenvolvimento larval (menor tempo e maior sobrevivência) e a maturação reprodutiva dos adultos ao longo das gerações para que, assim, possa ser utilizada na criação do predador em laboratório e no uso em bioensaios de avaliação de risco ambiental de toxinas.

Referências

- ANDOW, D. A.; BARROSO, P. A. V.; FONTES, E. M. G.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; HILBECK, A.; FITT, G. P. **Improving the scientific basis for environmental risk assessment through the case study of Bt cotton in Brazil.** In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G.; KAPUSCINSKI, A. R.; SCHEI, P. J. (Ed.). Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. v. 2. p.1-20. (Environmental risk assessment of genetically modified organisms series, v. 2).
- ATTALLAH, Y. H.; NEWSON, L. D. Ecological and nutritional studies on *Coleomegilla maculate* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae). I. The development of an artificial diet and laboratory rearing technique. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, p. 1173-1179, 1966.
- AUAD, A. M. Aspectos biológicos dos estágios imaturos de *Pseudodorus clavatus* (Fabricius) (Diptera: Syrphidae) alimentados com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) em diferentes temperaturas. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 475-480, 2003.
- AVÉ, D. A. **Stimulation of feeding:** insect control agents. In: Regulatory Mechanisms in Insect Feeding, Chapman, R. F.; De Boer, G. (eds), Chapman & Hall, New York, 1995.
- BERNARDES, T. DE A.; TEIXEIRA, M. M.; RIBEIRO, P. A.; SOUZA, E. S. H.; PIRES, C. S. S.; FONTES, E. M. G.; SUJII, E. R. Uso de dieta artificial na criação da joaninha, *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, 22, Uberlândia. Ciência, Tecnologia e Inovação: Anais. Viçosa, MG: UFV, 2008.
- CHUMAKOVA, B. M. Experiments in rearing of predatory beetle *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. on an artificial diets. **Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych**, v. 35, p. 195-200, 1962.
- COHEN, A. C. **Insect diets:** science and technology. CRC Press LCC, Boca Raton, FL. 2004, 312 p.
- CRANE, E. **O livro do mel.** 2. ed. São Paulo: Nobel, 1985. 226 p.
- CRAWLEY, M. J. C. **The R book.** San Francisco: Wiley, 2007.
- DA SILVA, R. B.; CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; TAVARES, W. S. Development of *Coleomegilla maculata* de Geer (Coleoptera: Coccinellidae) with prey and artificial diet. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, n. 1, p. 13-26, 2010.
- DALE, P. J.; CLARKE, B.; FONTES, E. M. G. Potential for the environmental impact of transgenic crops. **Nature Biotechnology**, v. 20, p. 567-574, 2002.
- DE CLERCQ, P.; BONTE, M.; VAN SPEYBROECK, K.; BOLCKMANS, K.; DEFORCE, K.

Development and reproduction of *Adaliabi punctata* (Coleoptera: Coccinellidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Phycitidae) and pollen. **Pest Management Science**, v. 61, p. 1129-1139, 2005.

FARIA, M. R.; LUNDGREN, J. G.; FONTES, E.M.G.; FERNANDES, O. A.; SCHMIDT, F.; TUAT, N. V.; ANDOW, D. A. Assessing the effects of Bt cotton on generalist arthropod predators. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. **Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 2: methodologies for assessing Bt Cotton in Brazil**. Wallingford, UK: CABI Publishing, p. 175-199, 2006.

DE CLERCQ, P. Culture of natural enemies on factitious foods and artificial diets. In: CAPINERA, J. L. (ed). **Encyclopedia of entomology**, v. 2. Springer Science: Business Media B. V., p. 1133-1136, 2008.

GREGORY, J. F. Vitamins. In: Fennema, O. R. **Food Chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996.

GRENIER, S.; GREANY, P. D.; COHEN, A. S. Potential for mass release of insect parasitoids and predators through development of artificial culture techniques. p. 181-205. In: ROSEN, D.; BENNETT, F. D.; CAPINERA, J. L. **Pest management in the subtropics**. Biological control - A Florida Perspective. Andover, UK: Intercept Press, 1994.

HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; ARPAIA, S.; BIRCH, A. N. E.; FONTES, E. M. G.; LÖVEI, G. L.; SUJII, E. R.; WHEATLEY, R. E.; UNDERWOOD, E. Methodology to support non-target and biodiversity risk assessment. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G.; KAPUSCINSKI, A. R.; SCHEI, P. J. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. v. 2. p. 108-132. (Environmental risk assessment of genetically modified organisms series, v. 2).

HODEK, I. **Biology of Coccinellidae**. The Hague: W. Junk N. V., 1973. 260 p. (Czechoslovak Academy of Sciences).

HODEK, I.; EVANS, E. W. Food relationships. In: HODEK, I.; VAN EMDEN, H. F.; HONĚK, A. (eds). **Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012.

HODEK, I.; RUZICKA, Z.; HODKOVÁ, M. Pollinivorie et aphidophagie chez *Coleomegilla maculata*. **Annales de Zoologie Ecologie Animale**, v. 10, p. 453-459, 1978.

HOOPER, T. Guia do apicultor. 3. ed. Sintra: Europa America, 1981, 269 p.

IŞIKBER, A. A.; COPLAND, M. J. W. Effects of various aphid foods on *Cycloneda sanguinea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 102, p. 93-97, 2002.

MICHAUD, J. P. Development and reproduction of ladybeetles (Coleoptera: Coccinellidae) on the citrus aphids *Aphis spiraecola* Patch and *Toxoptera citricida*, (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). **Biological Control**, v. 18, p. 287-297, 2000.

MICHAUD, J. P. On assessment of prey suitability in aphidophagous Coccinellidae. **European Journal of Entomology**, v. 102, n. 3, p. 385-390, 2005.

MOHAGHEGH, J.; AMIR-MAAFI, M. Reproduction of the predatory stinkbug *Andrallus spinidens* F. (Heteroptera: Pentatomidae) on live and frozen prey. **Applied Entomology and Zoology**, v. 42, p. 15-20, 2007.

OLIVEIRA, N. C.; WILCKEN, C. F.; MATOS, C. A. O. Ciclo biológico e predação de três espécies de coccinelídeos (Coleoptera, Coccinellidae) sobre o pulgão-gigante-do-pinus *Cinara atlantica* (Wilson) (Homoptera, Aphididae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, n. 4, p. 529-533, 2004.

- PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES S. B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1163p., 1998.
- PARRA, J. R. P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009.
- R: a language and environment for statistical computing. Disponível em: < <http://www.r-project.org/conferences.html> >. Acesso em: 2012.
- ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M. P.; GIELKENS, M. M. C.; HARTLEY, S. E.; HELLMICH, R. L.; HUESING, J. E.; JEPSON, P. C.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R. I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M. K.; SHELTON, A. M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J. D. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to non target arthropods. **Nature Biotechnology**, v. 26, p. 203-208, 2008.
- ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2006.
- SANTOS, W. J. **Manejo integrado de pragas para o algodoeiro do Cerrado**. Rondonópolis: Fundação, 2001. p. 97-100. (Boletim de Pesquisa de Algodão, n. 4).
- SILVA-SANTOS, P. V.; SANTOS, P. H. R.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; LAUMANN, R. A.; SILVA, K. F. A. S.; FONTES, E. M. G. Relações tróficas da cultura do algodão que influenciam a dinâmica de herbívoros-praga. In: **Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 10, 2005, Brasília, DF. Anais: resumos dos trabalhos. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 139.
- SMIRNOFF, W. A. An artificial diet for rearing coccinellid Beetles. **The Canadian Entomologist**, v. 90, p. 563-565, 1958.
- SOARES, A. O.; CODERRE, D.; SCHANDERL, H. Dietary self-selection behavior by the adults of the aphidophagous ladybeetle *Harmonia axiridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Animal Ecology**, v. 73, p. 478-486, 2004.
- SZUMKOWSKI, W. Aparicion de un coccinélido predato nuevo para Venezuela. **Agronomia Tropical**, v. 11, p. 33-37, 1961.
- WELKE, J. E.; REGINATTO, S.; FERREIRA, D.; VICENZI, R.; SOARES, J. M. Caracterização físico-química de méis de *Apis mellifera* L. da região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1737-1741, 2008.
- WHEELER, D. E. The role of nourishment in oogenesis. **Annual Review of Entomology**, v. 41, p. 345-369, 1996.



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***