

1
2
3 EFEITO DA ACLIMATAÇÃO TÉRMICA NA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE

4 *Tenuisvalvae notata* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

5 por

6 MICHELE SILVA COSTA

7 (Sob Orientação do Professora Christian Sherley Araújo da Silva Torres – UFRPE)

8 RESUMO

9 A joaninha *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) é um inseto que ocorre na América do Sul com
10 amplitude térmica de tolerancia temperatura variando de 20-28°C, com efeitos sobre sua
11 reprodução fora dessa faixa ideal. Estudos anteriores mostraram que podem ser aclimatadas a
12 temperaturas fora de sua faixa ideal, tanto baixas quanto altas, o que permite a sobrevivência. Este
13 estudo investigou como a temperatura pode afetar a reprodução, bem como a nutrição e
14 morfologia das gônadas desses insetos submetidos a diferentes temperaturas. Fêmeas criadas em
15 laboratório na temperatura controle (28°C) tiveram maior fecundidade em condições de semi-
16 campo, seguidas daquelas criadas a 32°C e 18°C; isso pode estar relacionado a gônadas
17 masculinas imaturas. As análises bioquímicas mostraram diferenças nos teores de lipídios tanto
18 em insetos machos como fêmeas, com redução em relação ao controle (28°C), não mostrando
19 diferença para o Glicogênio. Os machos criados a 32 °C e 18 °C apresentaram mais cistos e
20 espaços vazios sem espermatozóides em comparação com o controle. Houve redução na
21 quantidade de carboidratos apenas no tratamento de 18 °C. A quantidade de proteínas totais não
22 diferiu entre os tratamentos para os machos. Os resultados mostraram que os machos da joaninha
23 foram afetados pela redução da temperatura, com atraso na maturação sexual, sendo melhor a
24 temperatura 28 °C, seguida por 32°C.

- 25
- 26 PALAVRAS-CHAVE: Coccinellidae, controle biológico, aclimação, reprodução, histoquímica.
- 27

EFFECT OF THERMAL ACCLIMATION ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF
TENUISVALVAE NOTATA (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

MICHELE SILVA COSTA

(Sob Orientação do Professora Christian Sherley Araújo da Silva Torres – UFRPE)

ABSTRACT

The lady beetle *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) is an insect that occurs in South America with an optimal temperature range varying from 20-28 °C, with effects on its reproduction outside this optimal range. Previous studies have shown that *T. notata* can be acclimated to temperatures outside its optimal range, both low and high up to a limit, which allows insect survival. However, they do not reproduce satisfactorily or totally. Thus, this study investigated how temperature may affect predator insects reproduction, as well as the nutrition and morphology of the gametes of insects subjected to different temperatures. Results showed that lady beetle males were affected by the reduction in temperature, with a delay in sex maturation. Females reared in the laboratory at the control temperature (28 °C) had higher fecundity in semi-field conditions, followed by those reared at 32 °C and 18 °C; this could be related to immature male gametes. Biochemical analyses showed differences in lipids and total sugar contents in male and females gonads, with a reduction in comparison to the control (28 °C). Similar results were found for males, in which testicles of males reared at 32 °C e 18 °C had more cists and empty spaces with no spermatozoa in comparison to the control. There was a reduction in the amount of carbohydrates only in ovarioles of females reared at 18 °C. The amount of total proteins did not differ among treatments. Further

51 studies may focus on aspects of nutrient absorption through the midgut and how this may be
52 related to the trade-off between survival and reproduction in *T. notata*.

53

54 KEY WORDS: Coccinellidae, biological control, acclimatization, reproduction, histochemistry.

55

56
57
58 EFEITO DA ACLIMATAÇÃO TÉRMICA NA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE
59 *Tenuisvalvae notata* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)
60 COCCINELLIDAE)

61
62 por

63
64 MICHELE SILVA COSTA
65
66
67
68
69

70 Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
71 Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
72 Mestre em Entomologia Agrícola.
73
74
75
76
77

78 RECIFE - PE

79 Julho – 2023

80

81

82 EFEITO DA ACLIMATAÇÃO TÉRMICA NA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE

83 *Tenuisvalvae notata* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

84 COCCINELLIDAE)

85

86 por

87

88 MICHELE SILVA COSTA

89

90

91

92

93

94 **Comitê de Orientação:**

95 Christian Sherley Araújo da Silva Torres – UFRPE

96 Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

97

98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121

EFEITO DA ACLIMATAÇÃO TÉRMICA NA FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE
Tenuisvalvae notata (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)
COCCINELLIDAE)

por

MICHELE SILVA COSTA

Banca Examinadora:

Christian Sherley Araújo da Silva – UFRPE
Glaucilane dos Santos Cruz - UFRPE
Cristiane Thalita dos Santos Silva - UFPE

Michele Silva Costa
Mestre em Entomologia

Prof^a. Christian Sherley Araújo da Silva
Torres – UFRPE
Orientador

122

123

124

DEDICATÓRIA

125 Dedico aos meus pais.

126

127

128

129

130

AGRADECIMENTOS

131 Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco e a Coordenação de
132 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa.

133 Agradeço aos professores do programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos
134 ensinamentos, em especial, as Professoras Christian Torres e Valeria Teixeira pela minha
135 orientação; ao Prof Jorge Torres.

136 À Glaucilane Cruz, a Carolina Guedes e a Clara Ferreira pela ajuda nos experimentos de
137 fisiologia e Sofia Guerra, por me ajudar a molhar as plantas de algodão.

138 Aos meus colegas de laboratório Jeniffer Oberger pelos primeiros ensinamentos sobre a
139 criação, ao Rian Moraes pelas conversas, e a Nataly De La Pava por dar manutenção na criação
140 estoque do laboratório, ao Deividy Nascimento, por instalar o SAS no meu computador e à
141 Karolayne Campos pelas aulas de SAS.

142 Aos colegas da minha turma pela parceria durante as disciplinas.

143 Aos amigos e mentores Simone e Antônio pelo apoio e companheirismo durante todo o
144 curso.

145 A Natália Sousa por dar nome as coisas e me fazer refletir muito sobre minha jornada.

146 E finalmente aos meus pais Silvia e Jorge, por estarem sempre comigo me ajudando e
147 amparando, sem eles não seria possível.

148

149

150		
151		
152	SUMÁRIO	
153	AGRADECIMENTOS	9
154	CAPÍTULO 1.....	11
155	Introdução	11
156	Literatura Citada	17
157	CAPÍTULO 2	21
158	RESUMO.....	22
159	ABSTRACT.....	23
160	Introdução	24
161	Temperatura e insetos predadores.....	25
162	A influência da temperatura nas principais famílias de insetos predadores	26
163	Família Anthocoridae	26
164	Família Coccinellidae	27
165	Família Pentatomidae	29
166	Literatura Citada	30
167	CAPÍTULO 3.....	35
168	RESUMO.....	36
169	ABSTRACT.....	37
170	Introdução	39
171	Material e Métodos	40
172	Resultados parciais	46
173	Literatura Citada	51

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O efeito da temperatura nos insetos é geralmente determinado em função da sua sobrevivência, fecundidade, parâmetros demográficos e taxa de crescimento e desenvolvimento, os quais são usados para prever as interações dos agentes de controle biológico e as pragas alvo. Estudos mostram que o aumento na temperatura ambiental usualmente leva a um aumento na taxa metabólica do inseto, e como resultado, as taxas de predação e desenvolvimento tendem a crescer de forma exponencial (Khan *et al.* 2016).

Fatores abióticos, tais como precipitação, luminosidade, umidade relativa e temperatura são capazes de afetar o estabelecimento e crescimento populacional dos insetos (Ferreira *et al.* 2020). Dentre esses, o fator abiótico mais importante que afeta diretamente os insetos herbívoros é a temperatura, podendo prejudicar o seu desenvolvimento, sobrevivência, abundância, voltinismo, exploração da planta hospedeira e distribuição geográfica (Campbell *et al.* 1974, Bale *et al.* 2002). Além disso, os insetos requerem uma certa quantidade de unidades de calor (graus-dia) para passar de uma fase para outra (Gordan 1999). Consequentemente, a temperatura pode influenciar a dinâmica populacional dos insetos praga e seus inimigos naturais no ambiente (Huffaker *et al.* 1999). Com o aumento desta, pode ocasionar o aumento do número de gerações/ano (Bale *et al.* 2002).

O desenvolvimento dos insetos de forma geral, em ambientes com temperaturas mais amenas como na primavera, é mais lento, contrário a isso, tem o desenvolvimento mais rápido no verão quando esta mais elevada. A temperatura também pode ser um fator de pressão de seleção, exercendo efeitos que são causados nos insetos como: as taxas de crescimento, taxa de

desenvolvimento e a variabilidade genética que aumentam em temperaturas elevadas (Gilbert & Raworth, 2012).

A capacidade de aclimação térmica é, em geral, mais limitada em organismos de ambientes termicamente estáveis, locais que não apresentam grande diferença de temperatura ao longo do dia (Pallarés *et al.* 2019). Nos agroecossistemas de maneira geral, encontra-se grande diversidade de insetos, tanto espécies pragas como benéficas. Dentre essas pragas, têm-se as cochonilhas de importância agrícola, as quais fazem herbivoria em espécies ornamentais, daninhas e várias culturas de importância econômica, como as anonáceas, videira, mamão, café, algodão, citros, entre outras (Pacheco da Silva *et al.* 2019).

Cada espécie de inseto percebe de maneira diferente o aumento da temperatura e em qual estação do ano está, assim predadores e parasitoides ficam mais eficientes em suas funções em temperaturas mais quentes (Gilbert & Raworth, 2012).

Os insetos são organismos poiquilotérmicos, ou seja, a temperatura corporal varia em função do clima (Angilletta 2009). Dessa forma, estudos mostram que o aumento térmico ambiental usualmente leva a um aumento na taxa metabólica do inseto, e como resultado, as taxas de predação e desenvolvimento tendem a crescer de forma exponencial (Khan *et al.* 2016). Portanto, o efeito da temperatura nos insetos é geralmente determinado em função da sua sobrevivência, fecundidade, parâmetros demográficos e taxa de crescimento e desenvolvimento, os quais são usados para prever as interações dos agentes de controle biológico e as pragas alvo.

A aclimação é um processo reversível na fisiologia e bioquímica em resposta a temperatura fora da faixa ideal. O estresse modifica sua sobrevivência e permanência no ambiente que este está inserido (Leroi *et al.* 1994, Weldon *et al.* 2011, Allen *et al.* 2012, Li *et al.* 2018). A capacidade de aclimação térmica é, em geral, mais limitada em organismos de ambientes termicamente estáveis em comparação com aqueles que vivem sob condições mais variáveis

(Tomanek 2010, Pallarés *et al.* 2019). Em geral, as populações de ambientes tropicais são mais tolerantes ao calor e se recuperam mais rapidamente comparado as populações de regiões temperadas (David *et al.* 2005). Além disso, espécies com grande distribuição geográfica tem menor risco de serem afetadas (Bale *et al.* 2002), pois mudanças de temperatura podem fazer o inseto migrar para áreas mais favoráveis (Chapman, 1998).

As cochonilhas constituem um importante grupo de pragas estritamente fitófagas, e de grande importância econômica dada à natureza da injúria provocada (ex. sucção seiva e transmissão de patógenos), que conseqüentemente causa perdas significativas de produção acarretando aumento nos custos de produção para sua prevenção ou controle (Culik & Gullan 2005). Dentre as cochonilhas de importância agrícola, temos as cochonilhas-farinhas (Hemiptera: Pseudococcidae), as quais são pragas em plantas ornamentais, daninhas e várias culturas de importância econômica, como as anonáceas, videira, mamão, café, algodão, citros, entre outras (Pacheco da Silva *et al.* 2019). O controle das cochonilhas é feito predominantemente com uso de inseticidas de amplo espectro (Nagrare *et al.* 2011). Contudo, a eficiência deste método é reduzida devido ao fato destas viverem preferencialmente em locais protegidos na planta e a presença de cera pelo corpo, reduzindo assim a sua exposição ao produto (Pacheco da Silva *et al.* 2016). Assim, o controle biológico com insetos predadores surge como uma alternativa de manejo dessas pragas.

Estudos mostram que em Coccinellidae o aquecimento pode afetar o tempo e desenvolvimento e a dinâmica desses insetos com as respectivas presas, ou ainda as mesmas podem ter o comportamento de migrar para um ambiente mais adequado, essa mudança de temperatura pode afetar tanto positivamente quanto negativamente dependendo da espécie estudada (Honek *et al.* 2017).

O controle biológico é a ação de inimigos naturais como parasitoides, predadores e entomopatógenos na manutenção da densidade de outro organismo a um nível mais baixo do que aquele que normalmente ocorreria na ausência desses (De Bach 1968). Uma das alternativas para controle biológico de cochonilhas é a utilização de joaninhas predadoras (Coleoptera: Coccinellidae), as quais têm sido utilizadas por muitos anos (Obrycki & Kring, 1998, Ferreira *et al.* 2023), devido ao fato de que tanto as larvas como os adultos de joaninhas possuem grande voracidade na busca por comida (Hodek 1973, Barbosa *et al.* 2014, Begha *et al.* 2019, Carmo 2021).

Os coccinelídeos são importantes predadores de pulgões, moscas-brancas, psílídeos, tripses, ácaros, cochonilhas, ovos de outros insetos, pequenas larvas e outras espécies de coccinelídeos (Ferreira *et al.* 2023, Gordon 1985, Majerus & Kearns 1989, Hodek & Honek 2009, Obrycki *et al.* 2009) a depender do hábito alimentar e da cultura. A joaninha *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) é nativa da América do Sul (Dreyer *et al.* 1997) e tem ocorrência natural no Brasil, Bolívia, Colômbia e Paraguai. Sua ocorrência no Brasil foi citada nos estados do Amapá, Bahia, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Rondônia, São Paulo e Pernambuco (Dreyer *et al.* 1997, Peronti *et al.* 2016). Adultos de *T. notata* foram coletados na região Semiárida de Pernambuco associados às cochonilhas *Phenacoccus solenopsis* Tinsley e *Ferrisia dasyrillii* em plantas de algodão, e a falsa cochonilha-do-carmim *Dactylopius opuntiae* Cockerell em plantas de palma forrageira (Barbosa *et al.* 2014, Giorgi *et al.* 2018, Torres & Giorgi 2018).

A joaninha *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) com o aumento da temperatura diminui o tempo de pupação, Esta espécie criada em laboratório com amplitude de 20 e 32 °C teve o desenvolvimento do ovo à emergência do adulto, respectivamente entre $69,2 \pm 0,58$ a $28,0 \pm 0,40$ dias (Ferreira *et al.* 2020).

Adultos da espécie *T. notata* criados a ≥ 32 °C não ovipositaram, a interação entre temperatura e presa afetou a taxa de oviposição (Ferreira *et al.* 2020). Quando criados em temperaturas de 20, 22, 25, 28 ou 32°C evoluíram até a maturação e reprodução (Ferreira *et al.* 2020). A fertilidade de *T. notata* foi reduzida nos dois extremos de temperatura, já a fecundidade foi diminuída somente em baixas temperaturas. Esses efeitos de temperaturas extremas podem comprometer o desempenho reprodutivo e crescimento populacional da espécie (Carmo 2021).

Adultos de *T. notata* apresentam um período de pré-cópula de 5 a 10 dias após emergir (Dreyer *et al.* 1997a, Santos *et al.* 2017) e são capazes de ovipositar por 60 dias. A maior fecundidade é observada nos primeiros 10 dias após o coito e a maior fertilidade dos ovos nos primeiros 20 dias, que decrescem com o passar do tempo (Túler *et al.* 2018). No período de 60 dias, Ferreira *et al.* (2020), contabilizaram fecundidade média de 8 ovos a 20 °C e de 442 ovos à 28 °C.

Os aspectos fisiológicos e comportamentais para a termorregulação devem ser considerados ao estudar as respostas dos insetos à mudança ambiental, que certamente afetará a distribuição geográfica, o forrageamento e a reprodução destes insetos (Woods *et al.* 2015, Blanckenhorn 2018).

A diminuição na absorção dos nutrientes pode causar redução na capacidade reprodutiva do inseto, com declínio da fecundidade e fertilidade além de afetar a longevidade dos adultos (Alves *et al.* 2013, Cruz *et al.* 2016, Cruz *et al.* 2017).

Portanto, devido ao fato que existe um efeito negativo no desempenho reprodutivo de *T. notata* após aclimação em temperaturas altas (>32 °C) e baixas (<20 °C), e que tanto machos como fêmeas parecem ser afetados nesse processo, esse estudo visa investigar possíveis alterações fisiológicas em termos de formação e nutrição das gônadas que podem estar relacionadas com a esterilidade de adultos aclimatados, e se estas alterações são reversíveis.

As proteínas como vitelogenina, vitelogênica carboxipeptidase, catepsina B e lipoforina incorporados na hemolinfa são precursores nos oócitos (Raikhel et al., 2002; Gillott 2005, Silva et al. 2016).

As principais proteínas estão ligadas a vitelogênese que serão incorporadas no ovócito afetando a reprodução (Cruz *et al.* 2017). Um exemplo importante de proteína é a lipoforina tendo função na produção dos ovos e no transporte de hormônio juvenil (Lima-Mendonça *et al.* 2014).

O lípideo é importante fonte de energia e esta ligado ao processo de ovogênese. Os açúcares são importantes pois estão associados a reserva de energia. Assim, quando o inseto necessita a trealose é quebrada pela trealase para formação dos tecidos tangentes a hemolinfa, são associados ao processo reprodutivo, também atuam no metabolismo dos carboidratos. Os carboidratos por sua vez estão relacionados ao desenvolvimento dos ovos através do processo pré-vitelogênico, e também podem ser usados como fontes de energia quando transformados em lipídios (Cruz *et al.* 2017).

Investigar se esta ocorrendo uma boa nutrição do inseto é essencial, pois a redução da nutrição esta associada a dificuldade no processo de vitelogênese, diferenciação do ovário e maturação e produção do ovo (Engelmann (1998).

Este trabalho objetiva investigar possíveis alterações fisiológicas que podem estar relacionadas com a redução de fertilidade e fecundidade de adultos de *T. notata* aclimatados. Avaliar a histologia e quantificar a proteína total, glicogênio, carboidratos totais e lipídeos nos insetos aclimatados e em condições de temperatura ideal, os carboidratos neutros nas gônadas (testículos e ovários) através de análises histológicas e histoquímicas.

Literatura Citada

- Allen, J.L., Clusella-Trullas, S., & S.L. Chown. 2012.** The effects of acclimation and rates of temperature change on critical thermal limits in *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) and *Cyrtobagous salviniae* (Curculionidae). *J. Insect Physiol.* 58: 669-678.
- Barbosa, P.R.R., Oliveira, M. D., Giorgi, J.A., Oliveira, J.E.M. & Torres, J.B., 2014.** Suitability of Two Prey Species for Development, Reproduction, and Survival of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae), *Annals of the Entomological Society of America*, Volume 107, Issue 6, 1 November 2014, 1102–1109
- Begha, B.P., Souza, J.M.T. de, Antunes, C.H. & Milléo, J. 2019.** Diversidade e sazonalidade de coccinelídeos (Coleoptera: Coccinellidae) em pomar no município de Ponta Grossa, Paraná. *EntomoBrasilis*. 12, 3 (Dec. 2019), 108-112.
- Blanckenhorn, W.U. 2018.** Behavioral, plastic, and evolutionary responses to a changing world. In: *Insect Behavior: From mechanisms to ecological and evolutionary consequences*. Edited by Alex Cordoba-Aguilar, Daniel Gonzalez-Tokman, and Isaac Gonzalez-Santoyo. London, Oxford University Press, 270p.
- Carmo, E.B.S. 2021.** Papel da aclimatacao na sobrevivencia, reproducao e resposta funcional de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae). Dissertação (Dissertação em Entomologia agrícola) – UFRPE.
- Cruz, G.S., Wanderley-Teixeira, V., Oliveira, J.V., D’assunção, C.G. , Cunha, F.M., Teixeira, A.A.C., Guedes, C.A., Dutra, K.A., Barbosa D.R.S. & Breda, M.O. 2017.** Effect of transanethole, limonene and your combination in nutritional componentes and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chem.-Biol. Interact.* 263: 74-80.
- Engelmann, F., 1998.** In vitro germplasm conservation. *Acta Hortic.* 461, 41–47
- Ferreira, L. F., Silva-Torres, C. S. A. 2019.** Resposta biológica e de predação de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) sob diferentes temperaturas e presas e uso do climex para prever sua distribuição geográfica. (Dissertação em Entomologia agrícola) – UFRPE.
- Ferreira, L. F., Silva-Torres, C. S. A., Venette, R. C., & Torres, J. B. 2020.** Temperature and prey assessment on the performance of the mealybug predator *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Austral Entomology*, 59: 178– 188.
- Ferreira, L.F., Silva-Torres, C., Torres, J., & Venette, R. 2021.** Potential displacement of the native *Tenuisvalvae notata* by the invasive *Cryptolaemus montrouzieri* in South America suggested by differences in climate suitability. *Bulletin of Entomological Research*, 111(5), 605-615.

- Ferreira, J.O.; Silva-Torres, C. S. A.; Carmo, E. B. S.; Silva, G. S.; Laumann, R. A.; Borges, M.; Moraes, M. C. B. 2023.** Footprints of the lady beetles *Cryptolaemus montrouzieri* and *Tenuisvalvae notata* affect their foraging behavior and predation rate. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, v. 171, p. 408-420.
- Gilbert, N.; Raworth, D.A.; 2012** Forum: Insects And Temperature - A General Theory. Online Cambridge University. pp. 1-13
- Gillott, C., 2005.** Entomology. Springer, Netherlands.
- Giorgi, J.A., P.R.R. Barbosa, J.E.M. Oliveira & J.B. Torres. 2018.** *Prodiloides bipunctata* Weise (Coccinellidae: Cephaloscymnini): new research on native natural predators of the carmine cochineal, *Dactylopius opuntiae* (Cockerel) (Hemiptera: Dactylopiidae) in the Brazilian Semi-arid. *Coleopt. Bull.* 72: 562–565.
- Khan, J., Ehsan-ul-Haq, A.U.R. Saljoki & A. Rehman. 2016.** Effect of temperature on biological attributes and predatory potential of *Harmonia dimidiata* (Fab.) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Rhopalosiphum padi* aphid. *J. Entomol. Zool. Stud.* 4: 1016–1022.
- Li, M., X.J. Li, J.H. Lu & M.F. Huo. 2018.** The effect of acclimation on heat tolerance of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). *J. Therm. Biol.* 71: 153-157.
- Muñoz-Valencia, V., R. González-Obando & F. Díaz. 2016.** Rapid responses to a Strong experimental selection for heat hardening in the invasive white fly *Bemisia tabaci* MEAM 1. *Entomol. Exp. Appl.* 160: 147-155.
- Nguyen, T.M., C. Bressac & C. Chevrier. 2013.** Heat stress affects male reproduction in a parasitoid wasp. *J. Insect. Physiol.* 59: 248–254.
- Oliveira, C.M., Silva-Torres, C.S.A., Torres, J.B. & Santos, G.S.S. 2022** Estimation of population growth for two species of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) under different temperatures, *Biocontrol Science and Technology*, 32:1, 74-89
- Pacheco da Silva, V.C., M. Botton, E. Prado & J.E.M. Oliveira. 2016.** Bioecologia, monitoramento e controle de cochonilhas farinhentas (Hemiptera: Pseudococcidae) na Cultura da Videira. Bento Gonçalves, Embrapa, 20p. (Circular Técnica 125).
- Pacheco da Silva, V.C., J.B. Torres, C.S.A Silva-Torres & M.B. Kaydan. 2019.** Mealybug species (Hemiptera: Coccoomorpha: Pseudococcidae) on soursop and sugar apple (Annonaceae) in North-East Brazil, with description of a new species of *Pseudococcus* Westwood. *Zootaxa* (Online), 3: 525-538.
- Pallares, S., Colado, R., Perez-Fernandez, T., Wesener, T., Ribera, I., & Sanchez-Fernandez, D. 2019.** Heat tolerance and acclimation capacity in subterranean arthropods living under common and stable thermal conditions. *Ecol. Evol.* 24: 13731-13739.

- Peronti, A.L.B.G., N.M. Martinelli, J.G. Alexandrino, A.L. Marsaro Júnior, A.M. Penteado Dias & L.M. Almeida. 2016.** Natural enemies associated with *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Fla. Entomol.* 99: 21–25.
- Raikhel, A.S., Kokozei, V.A., Zhu, J., Martin, D., Wang, S.F., Li, C., Sun, G., Ahmed, A., Dittmei, A., Attardo, N.G., 2002.** Molecular biology of mosquito vitellogenesis: from basic studies to genetic engineering of antipathogen immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32, 1275–1286
- Rolandi, C., Iglesias, M. S., & Schilman, P. E. 2014.** Metabolism and water loss rate of the haematophagous insect *Rhodnius prolixus*: effect of starvation and temperature. *Journal of Experimental Biology*, 217(24), 4414–4422.
- Sales, K., R. Vasudeva, M. E. Dickinson, J.L. Godwin, A.J. Lumley, L. Michalczyk, L. Hebberecht, P. Thomas, A. Franco & M.J.G. Gage. 2018.** Experimental heatwaves compromise sperm function and cause transgenerational damage in a model insect. *Nat. Commun.* 9: 4771.
- Santos, P.B., C.F. Castro-Guedes, A.L.B.G. Peronti & L.M. Almeida 2017.** New species of *Tenuisvalvae* (Duverger) (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on *Parthenolecanium perlatum* (Cockerell) (Hemiptera: Coccidae) in citrus crop. *Neotrop. Entomol.* 46: 507–513.
- Sebastião, D., I. Borges & A.O. Soares. 2014.** Effect of temperature and prey in the biology of *Scymnus subvillosus*. *BioControl* 60: 241–249.
- Silva, C. T. dos S., Wanderley-Teixeira, V., Cunha, F. M. da, Oliveira, J. V. de, Dutra, K. de A., Navarro, D. M. do A. F., & Teixeira, Á. A. C. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochemica*, 118(4), 347–352.
- Sunday, J.M., A.E. Bates & N.K. Dulvy. 2012.** Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nat. Clim. Change.* 2: 686–690.
- Torres, J.B., & J.A. Giorgi. 2018.** Management of the false carmine cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell): Perspective from Pernambuco state, Brazil. *Phytoparasitica* 46: 331–340.
- Túler, A. C., Silva-Torres, C. S. A., Teixeira, V. W., Teixeira, A. A. C., Guedes, C. A., D’Assunção, C. G., Alves, L. C. 2018.** Histology of the spermatheca and stored sperm of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Physiological Entomology*, 43(3), 180–187.
- Túler, A.C., C.S.A. Silva-Torres, J.B. Torres, R.B. Moraes & A.R.S. Rodrigues. 2017.** Mating system, age, and reproductive performance in *Tenuisvalvae notata*, a long-lived ladybird beetle. *Bull. Entomol. Res.* 8: 616–624.

Wang, S., Tan, X.-L., Guo, X.-J., & Zhang, F. 2013. Effect of Temperature and Photoperiod on the Development, Reproduction, and Predation of the Predatory Ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). J. of Economic Entomol, 106(6), 2621–2629.

Woods, H.A., M.E. Dillon & S. Pincebourde. 2015. The roles of microclimatic diversity and of behavior in mediating the responses of ectotherms to climate change. J Therm. Biol. 54, 86.

Zhang, S., Z. Cao, Q. Wang, F. Zhang & T.X. Liu. 2014. Exposing eggs to high temperatures affects the development, survival and reproduction of *Harmonia axyridis*. J. Therm. Biol. 39: 40-44.

485
486
487 CAPÍTULO 2
488 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA REPRODUÇÃO DE INSETOS PREDADORES¹
489
490

491 MICHELE S. COSTA
492

493 Departamento de Agronomia, Fitossanidade – Entomologia, Universidade Federal Rural de
494 Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife,
495 Pernambuco, Brasil
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505

506
507 ¹ Costa, M. S.; Guedes, C.A.; Cruz, G.S.; Torres, C.S.A.S.; Teixeira, A.A.C.; Teixeira, V.W.;
508 2023. Influência da Temperatura na Reprodução de Insetos Predadores. Ciências agrárias:
509 Estudos sistemáticos e pesquisas avançadas 4. Org. Silva, L.F.; Oliveira, V.C.; Ponta Grossa –
510 PR, Atena, v. 4, pp. 168-177. DOI: 10.22533/at.ed.39723210315.
511

RESUMO

Dentre os diversos fatores de estresse no meio ambiente, nenhum é propenso a influenciar o agroecossistema quanto às mudanças climáticas. É de grande interesse questionar como os insetos responderão às mudanças de temperatura porque são de fundamental importância para o funcionamento dos ecossistemas, pois, são altamente suscetíveis a mudanças abióticas no ambiente, com ciclos de vida que variam sazonalmente. Há evidências que os insetos estão respondendo ao aquecimento de diferentes maneiras, mas, principalmente na reprodução, pois o tempo dos eventos do ciclo de vida – fenologia – é frequentemente dependente da temperatura e à medida que o clima continua a aquecer devido a distúrbios mediados antropogenicamente, as mudanças na fenologia são inevitáveis. O controle biológico pode ser definido como um método para contribuir para o manejo de pragas, com o objetivo de fornecer um valioso serviço ecossistêmico, resultando em efeitos que contribuirão para a supressão de pragas nesses agroecossistemas, alterando o comportamento ou consumindo as principais pragas. Nesse sentido, com o amplo conhecimento das mudanças climáticas, o aquecimento global, relacionados com a temperatura e seus efeitos na reprodução, desenvolvimento e desempenho de insetos predadores pode-se estimar a efetividade do controle de pragas agrícolas no futuro.

PALAVRAS-CHAVE: Mudanças climáticas, controle biológico, inimigo natural, predação.

¹ Costa, M. S.; Guedes, C.A.; Cruz, G.S.; Torres, C.S.A.S.; Teixeira, A.A.C.; Teixeira, V.W.; 2023. Influência da Temperatura na Reprodução de Insetos Predadores. Ciências agrárias: Estudos sistemáticos e pesquisas avançadas 4. Org. Silva, L.F.; Oliveira, V.C.; Ponta Grossa – PR, Atena, v. 4, pp. 168-177. DOI: 10.22533/at.ed.39723210315.

INFLUENCE OF TEMPERATURE ON REPRODUCTION OF PREDATORS INSECTS

ABSTRACT – Among the various stressors in the environment, none is likely to influence the agroecosystem in terms of climate change. It is of great interest to question how insects will respond to contemporary temperature changes because they are of fundamental importance for the functioning of ecosystems, since they are highly susceptible to abiotic changes in the environment, with life cycles that vary seasonally, such as annual species that hibernate like eggs or pupae and larval or adult stages that are active in spring and summer. There is evidence that insects are responding to warming in different ways, but mainly in reproduction, as the timing of life cycle events – phenology – is often heavily dependent on temperature and as the climate continues to warm due to mediated disturbances. anthropogenically, changes in phenology are inevitable. Biological control can be defined as a method to contribute to pest management, with the aim of providing a valuable ecosystem service, well ahead of other measures, thus we can highlight predatory insects that are characterized by consuming the same or different types of prey or life stages of the pest, resulting in effects that contribute to the suppression of pests in these agroecosystems, changing behavior or consuming the main pests. In this sense, with the extensive knowledge of climate change, global warming, related to temperature and its effects on the reproduction, development and performance of predatory insects, it is possible to estimate the effectiveness of controlling agricultural pests in the future.

KEY WORDS: Climate changes, biological control, natural enemy, predation

Introdução

Dentre os diversos fatores de estresse no meio ambiente, nenhum é tão geograficamente difundido ou tão propenso a interagir com todos os outros fatores quanto as mudanças climáticas (Pech *et al.* 2017, Halsch *et al.* 2021). Segundo Field *et al.* (2014), há um consenso geral entre os cientistas de que o clima global está mudando em um ritmo sem precedentes, com muitas regiões experimentando tendências de aquecimento, temperaturas extremas frequentes e mudanças nos padrões de precipitação. Um aumento de 0,61°C na temperatura média global registrada desde o início do século XX (ou seja, comparando os anos de 1850–1900 e 1986–2005, 5–95% IC é 0,55–0,67°C) e o aquecimento previsto de 2° a 6°C até 2100 cresceu drasticamente a necessidade de compreender os impactos do efeito estufa (Easterling *et al.* 2000, Cristensen *et al.* 2007, Pureswaran *et al.* 2018). Nesse sentido, é de particular interesse questionar como os insetos responderão às mudanças climáticas contemporâneas porque são a linhagem mais diversa de organismos multicelulares do planeta e são de fundamental importância para o funcionamento dos ecossistemas de água doce e terrestre (Halsch *et al.* 2021).

Dentro do controle biológico que pode ser definido como um método para combater insetos, manejo de plantas daninhas e doenças buscando sempre contribuir para o manejo de pragas, apoiando as populações e introduções de inimigos naturais promovendo sua eficácia como predadores, parasitoides ou patógenos e tem sido usado há séculos com o objetivo de fornecer um valioso serviço ecossistêmico, além de contribuir para o manejo de pragas agrícolas bem à frente de outras medidas, incluindo pesticidas (Begg *et al.* 2017, Barratt *et al.* 2018, Bubici *et al.* 2019), podemos destacar os insetos predadores que são caracterizados por consumir os mesmos ou diferentes tipos de presas ou estágios de vida da praga, resultando em efeitos sinérgicos, aditivos e não aditivos na supressão de pragas de insetos (Letourneau *et al.* 2009), além de contribuírem para a supressão de pragas em agroecossistemas, alterando o comportamento ou consumindo as

principais pragas de artrópodes (Symondson *et al.* 2002, Kheirodin *et al.* 2020). Nesse sentido, com o amplo conhecimento das mudanças climáticas, o aquecimento global, relacionados com a temperatura e seus efeitos na reprodução, desenvolvimento e crescimento de insetos predadores pode-se estimar a efetividade do controle de pragas agrícolas no futuro.

Temperatura e insetos predadores

A temperatura está entre os mais importantes fatores que regulam o desenvolvimento e a reprodução dos insetos (Ju *et al.* 2011), sendo organismos pecilotérmicos, o desenvolvimento, reprodução e o potencial predatório dos insetos é afetado em grande parte por variações de temperatura no ambiente. Os insetos funcionam melhor apenas em uma determinada faixa de temperatura (Rana 2006, Iftikhar *et al.* 2018). Nesse sentido o aprendizado sobre o efeito de tal fator é essencial para melhorar os métodos de criação, prever o estabelecimento de campo e atividade de espécies insetos predadores que são etapas centrais em programas de controle biológico (Ferreira *et al.* 2020). Limites de temperatura superior e inferior para o desenvolvimento de insetos e a constante térmica (K) para completar o desenvolvimento, medida em graus-dia, pode ser útil para prever o crescimento populacional e distribuição de insetos (Messenger 1959). Por exemplo, a liberação de insetos predadores para controle biológico de pragas agrícolas é implementada com sucesso para manejo de pragas em estufas (Vreysen *et al.* 2007).

Esses insetos normalmente reproduzem-se em instalações internas sob temperaturas constantes relativamente altas (20-25°C), mas em condições de campo encontram temperaturas variáveis e às vezes condições estressantes, incluindo temperaturas mais baixas, que podem influenciar diretamente na sua reprodução e desenvolvimento (Ghazy *et al.* 2016). Melhorar a eficiência de predadores para controle biológico em campos agrícolas ao ar livre pode depender de uma melhor preparação para as condições de campo (Terblanche 2014). Especificamente, seria

vantajoso melhorar insetos predadores para que tenham melhor desempenho sem sofrerem maiores influência providas da temperatura (Jensen *et al.* 2017)

Adequar a sobrevivência às mudanças de temperatura é particularmente difícil para insetos, pois, como já dito, dependem da temperatura ambiente para regular suas funções fisiológicas relacionadas com o desenvolvimento e reprodução e têm apenas uma limitada capacidade de regular sua própria temperatura corporal (Colinet *et al.* 2015). Assim, espera-se que em resposta ao atual aquecimento global, insetos predadores em diferentes ecossistemas estejam mudando sua capacidade de desenvolvimento e reprodução e experimentando mais declínios severos no tamanho da população (Sánchez-Guillén *et al.* 2016; González-Tokman *et al.* 2020), pois, o aumento da temperatura tende a acelerar o consumo, o desenvolvimento e a reprodução de insetos, o que pode afetar a dinâmica populacional influenciando a fecundidade, a sobrevivência, o tempo de geração, o tamanho da população e a distribuição geográfica (Bale *et al.* 2002; Skendžić *et al.* 2021).

A influência da temperatura nas principais famílias de insetos predadores

Família Anthocoridae

Em trabalhos com exemplares de insetos predadores da família Anthocoridae os pesquisadores Helgadóttir *et al.* (2017), avaliaram os efeitos negativos de baixas temperaturas de desenvolvimento na predação de pulgões por *Orius majusculus* Reuter (Heteroptera: Anthocoridae) e viram que nenhuma eficiência de biocontrole aprimorada ou benefícios de produção foram obtidos com o tratamento de baixa temperatura de *O. majusculus*, nem como tratamento de desenvolvimento completo nem como tratamento de curto prazo, ou seja, a reprodução, desenvolvimento e taxa de predação foi maior para insetos que se desenvolveram em altas temperaturas, indicando que o aumento do fator temperatura tem grande influência no desempenho dessa espécie de predador. Em outra pesquisa Musolin *et al.* 2004 estudaram o controle fotoperiódico e de temperatura da indução da diapausa reprodutiva no percevejo predador *Orius*

strigicollis Poppius (Heteroptera: Anthocoridae) e suas implicações para o controle biológico e perceberam que se estima que *O. strigicollis* produza quatro ou cinco gerações na região central do Japão.

Em outro exemplo da família Anthocoridae, temos o percevejo predador *Anthocoris minki pistaciae* Wagner (Hemiptera: Anthocoridae), onde Sarnevesht *et al.* 2018 testaram a taxa de predação, desenvolvimento e reprodução em diferentes temperaturas (17, 26 e 30°C) e seus resultados obtidos mostraram que a maior taxa líquida de predação e a taxa de transformação da população de presas em descendentes de predadores ocorreram a 30°C, indicando a temperatura tem influência no desempenho desses insetos. Em trabalho similar Bahşi & Tunc (2008), testaram o desenvolvimento, sobrevivência e reprodução de *Orius niger* Wolff (Hemiptera: Anthocoridae) sob diferentes fotoperíodos e regimes de temperatura (22, 26 e 30°C) e os resultados sugeriram que *O. niger* seria capaz de sobreviver e se reproduzir em diferentes temperaturas, apenas diminuindo e aumentando o tempo de desenvolvimento e reprodução de acordo com as mesmas.

Família Coccinellidae

Em trabalhos com exemplares de insetos predadores da família Coccinellidae os pesquisadores Ferreira *et al.* 2020 avaliaram a influência da temperatura e da presa no desempenho do predador de cochonilha *Tenuisvalvae notata* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) os resultados mostraram que as espécies de presas não afetaram limiares de temperatura mais baixos ou constantes térmicas para o desenvolvimento de ovo a adulto. Além disso, a presa não afetou uma série de características reprodutivas, mas a interação entre temperatura e presa afetou mudanças nos tempos de desenvolvimento e na taxa de oviposição com a idade, ou seja, esses achados indicam que *T. notata* está bem adaptada às temperaturas tropicais e subtropicais e pode ser útil para o controle biológico de algumas cochonilhas nativas e não nativas, ou seja, a temperatura influencia na reprodução desta espécie. Em outra pesquisa Wang *et al.* (2013) estudaram o efeito

da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento, reprodução e predação da joaninha predadora *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius (Coleoptera: Coccinellidae), onde os resultados mostraram que a duração do desenvolvimento pré-adulto diminuiu significativamente com o aumento da temperatura. A taxa de emergência de adultos foi maior a 35°C. Temperaturas mais altas encurtaram a duração da cópula e pré-oviposição, prolongaram a duração da oviposição e aumentaram o nível de fecundidade. A emergência foi maior a 30°C. Por outro lado, a menor duração de cópula e oviposição e o menor nível de fecundidade e emergência, ou seja, os resultados revelam as altas sensibilidades térmicas de *C. sexmaculata*, o que destaca a importância da regulação ambiental na criação massal desse inimigo natural para aplicação como controle biológico em agroecossistemas.

Em outro exemplo da família Coccinellidae temos o *Menochilus sexmaculatus* Fabricius (Coleoptera: Coccinellidae), onde Iftikhar *et al.* 2018 testaram o efeito da temperatura (24, 27 e 32°C) na demografia e taxa de predação desse inseto predador criado em *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) e relataram que a reprodução e desenvolvimento foram de acordo com a temperatura, ou seja, em temperaturas mais baixas, menor reprodução e nas mais altas, maior reprodução. Em pesquisa similar Mandour *et al.* 2011, testaram o efeito de diferentes regimes de temperatura na biologia, reprodução e predação de *Hippodamia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae) e os resultados mostraram que a temperatura teve um efeito significativo no desenvolvimento de *H. variegata*, com período de desenvolvimento total (ovo-adulto) foi mais curto (12,10 dias) a 30°C e mais longo (66,70 dias) a 15°C, ou seja, a temperatura tem total influência sobre a reprodução, desenvolvimento e sobrevivência dessa espécie de inseto predador.

Família Pentatomidae

Em trabalhos com exemplares de insetos predadores da família Pentatomidae os pesquisadores Wang *et al.* 2022 avaliaram o desempenho do crescimento populacional de *Arma custos* Faricius (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes temperaturas (18, 22, 26, 30 e 34°C) e os resultados apontam que *A. custos* pode completar seu ciclo de vida em 18°C-30°C e a duração do desenvolvimento e reprodução encurtados com o aumento da temperatura, onde a fecundidade de uma única fêmea e a taxa bruta de reprodução foram as mais altas a 30°C, ou seja, a temperatura influência na reprodução desse inseto predador e essa pesquisa pode fornecer uma base teórica científica para a reprodução artificial interna, soltura externa e colonização dessa espécie. Em outra pesquisa Santos *et al.* (2018) estudaram os efeitos da temperatura (13, 17, 21, 25, 29 e 33°C) no desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae): implicações para a criação massal e chegaram no resultado de que o número de ovos, peso, tamanho, reprodução e desenvolvimento foram afetados negativamente por esta temperatura mais baixa. As temperaturas de 21 e 25°C foram as mais adequadas para o desenvolvimento e reprodução do predador, no entanto, as temperaturas de 17 e 29°C permitiram retardar ou acelerar o ciclo de vida.

Em outro exemplo da família Pentatomidae temos o *Eocanthecona furcellata* Wolff (Heteroptera: Pentatomidae), onde Peng *et al.* 2022 estudaram a influência da temperatura no desenvolvimento, reprodução e predação do percevejo predador, onde os resultados mostraram que o aumento na taxa de desenvolvimento de *E. furcellata* variou entre a temperatura de 20 a 35°C, ou seja, a duração da pré-oviposição, o período de oviposição e a longevidade do adulto diminuíram significativamente e as temperaturas aumentaram, com isso esse estudo mostrou que a temperatura teve um grande efeito no desenvolvimento, longevidade, fecundidade, parâmetros da tabela de vida e predação, sendo 29°C a temperatura adequada para o crescimento populacional dessa espécie de percevejo predador.

Conclusão

Diante do exposto podemos afirmar que o controle biológico utilizando as mais diversas espécies de percevejos predadores é eficiente para o controle de diferentes pragas agrícolas. Para garantir o sucesso do uso desse método é importante que se conheça suas particularidades, ou seja, quais fatores são capazes de influenciar no desempenho e na reprodução desses inimigos naturais, especialmente a temperatura, pois, a mesma em sua faixa limite (superior e inferior) afeta de maneira direta a dinâmica populacional desses insetos, conhecer, entender e adequar a manipulação desses agentes à esses limite é primordial de modo a contribuir para que este consiga se estabelecer e contribuir para redução de danos nos cultivos agrícolas.

Literatura Citada

- Abram, P.K.; Boivin, G.; Moiroux, J.; Brodeur, J. 2017.** Behavioural effects of temperature on ectothermic animals: unifying thermal physiology and behavioural plasticity. *Biological Reviews*, v. 92, p. 1859-1876.
- Bahşi, Ş.Ü.; Tunc, I. 2008.** Development, survival and reproduction of *Orius niger* (Hemiptera: Anthocoridae) under different photoperiods and temperature regimes. *Biocontrol Science and Technology*, v. 18, p. 767-778.
- Bale, J.S.; Mestres, G.J.; Hodkinson, I.D.; Awmack, C.; Bezemer, T.M.; Brown, V.K.; Butterfield, J.; Ônibus, A.; Coulson, J.C.; Farrar, J. 2002.** Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperatures on herbivorous insects. *Global Change Biology*, v. 8, p. 1–16.
- Barratt, B.I.P.; Moran, V.C.; Bigler, F.; Van Lenteren, J.C. 2018.** The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl*, v. 63, p. 155-167.
- Begg, G.S.; Cook, S.M.; Dye, R.; Ferrante, M.; Franck, P.; Lavigne, C.; Birch, A.N.E. 2017.** A functional overview of conservation biological control. *Crop Protection*, v. 97, p. 145-158.
- Bubici, G.; Kaushal, M.; Prigigallo, M.I.; Gómez-Lama Cabanás, C.; Mercado-Blanco, J. 2019.** Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in microbiology*, v. 10, p. 616.

- Chen, I.C.; Hill, J.K.; Shiu, H.J.; Holloway, J.D.; Benedick, S.; Chey, V.K.; Barlow, H.S.; Thomas, C.D. 2011.** Asymmetric boundary shifts of tropical montane Lepidoptera over four decades of climate warming. *Global Ecology and Biogeography*, v. 20, p. 34–45.
- Chick, L.D.; Strickler, S.A.; Perez, A.; Martin, R.A.; Diamond, S.E. 2019.** Urban heat islands advance the timing of reproduction in a social insect. *Journal of Thermal Biology*, v. 80, p. 119-125.
- Christensen, J.H.; Hewitson, B.; Busuioc, A. Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M.; Miller, H.L. 2007.** Mudança climática: a base da ciência física. Contribuição do Grupo de Trabalho I ao Quarto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas. Cambridge University Press, Cambridge pp. 847–940.
- Colinet, H.; Sinclair, B.J.; Vernon, P.; Renault, D. 2015.** Insects in fluctuating thermal environments. *Annual Review of Entomology*, v. 60, p. 123–140.
- Easterling, D.R.; Karl, T.R.; Gallo, K.P.; Robinson, D.A.; Trenberth, K.E.; Dai, A. 2000.** Observed climate variability and change of relevance to the biosphere. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, v. 105, p. 20101-20114.
- Ferreira, L.F.; Silva-Torres, C.S.; Venette, R.C.; Torres, J.B. 2020.** Temperature and prey assessment on the performance of the mealybug predator *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Austral Entomology*, v. 59, p. 178-188.
- Field, C.B.; Barros, V.R.; Mach, K.J.; Mastrandrea, M.D.; Van Aalst, M. 2014.** Editores. Mudanças climáticas: impactos, adaptação e vulnerabilidade. Parte A: aspectos globais e setoriais. Contribuição do grupo de trabalho II ao quinto relatório de avaliação do painel intergovernamental sobre mudanças climáticas. Cambridge University Press, Cambridge, v. 7, pp. 35-94.
- Ghazy, N.A.; Amano, H. 2014.** Rapid cold hardening response in the predatory mite *Neoseiulus californicus*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 63, p. 535-544.
- González-Tokman, D.; Córdoba-Aguilar, A.; Dáttilo, W.; Lira-Noriega, A.; Sánchez-Guillén, R.A.; Villalobos, F. 2020.** Insect responses to heat: physiological mechanisms, evolution and ecological implications in a warming world. *Biological Reviews*, v. 95, p. 802-821.
- Halsch, C.A.; Shapiro, A.M.; Fordyce, J.A.; Nice, C.C.; Thorne, J.H.; Waetjen, D.P.; Forister, M.L. 2021.** Insects and recent climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 118, p. e2002543117.
- Harvey, J.A.; Heinen, R.; Gols, R.; Thakur, M.P. 2020.** Climate change-mediated temperature extremes and insects: From outbreaks to breakdowns. *Global change biology*, v. 26, p. 6685-6701.

- Helgadóttir, F.; Toft, S.; Sigsgaard, L. 2017.** Negative effects of low developmental temperatures on aphid predation by *Orius majusculus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Biological Control*, v. 114, p. 59-64.
- Iftikhar, A.; Aziz, M.A.; Naeem, M.; Ahmad, M.; Mukhtar, T. 2018.** Effect of Temperature on Demography and Predation Rate of *Menochilus sexmaculatus* (Coleoptera: Coccinellidae) Reared on *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Pakistan Journal of Zoology*, v. 50, p. 5.
- Jensen, K.; Kristensen, T.N.; Overgaard, J.; Toft, S.; Sørensen, J.G.; Holmstrup, M. 2017.** Cold acclimation reduces predation rate and reproduction but increases cold- and starvation tolerance in the predatory mite *Gaeolaelaps aculeifer* Canestrini. *Biological Control*, v. 114, p. 150-157.
- Ju, R.T.; Wang, F.; Li, B. 2011.** Effects of temperature on the development and population growth of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata*. *Journal of Insect Science* v. 11, p. 16.
- Kheirodin, A., Simmons, A.M.; Legaspi, J.C.; Grabarczyk, E.E.; Toews, M.D.; Roberts, P.M.; Schmidt, J.M. 2020.** Can generalist predators control *Bemisia tabaci*?. *Insects*, v. 11, p. 823.
- Letourneau, D.K.; Jedlicka, J.A.; Bothwell, S.G.; Moreno, C.R. 2009.** Effects of natural enemy biodiversity on the suppression of arthropod herbivores in terrestrial ecosystems. In *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, v. 40, pp. 573–592.
- Mandour, N.S.; Sarhan, A.A.; El-Basha, N.A.; Abdel-Motaal, D.S. 2011.** Effect of different temperature regimes on the biology, reproduction and predation of *Hippodamia variegata* (Goeze)(Coleoptera: Coccinellidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, v. 21, p. 305-312.
- Messenger, P.S. 1959.** Bioclimatic studies with insects. *Annual Review of Entomology*, v. 4, p. 183-206.
- Musolin, D.L.; Tsytulina, K.; Ito, K. 2004.** Photoperiodic and temperature control of reproductive diapause induction in the predatory bug *Orius strigicollis* (Heteroptera: Anthocoridae) and its implications for biological control. *Biological Control*, v. 31, p. 91-98.
- Parmesan, C. 2006.** Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, v. 37, p. 637– 669.
- Pech, G.T.; Araújo, M.B.; Bell, J.D.; Blanchard, J.; Bonebrake, T.C.; Chen, I.C.; Williams, S.E. 2017.** Biodiversity redistribution under climate change: Impacts on ecosystems and human well-being. *Science*, v. 355, p. eaai9214.
- Peng, Z.; Zhang, X.; Gu, X.; Meng, F.; Zhang, L.; He, Y.; Xian, J. 2022.** Influence of Temperature on the Development, Reproduction, and Predation of the Predatory Stink Bug, *Eocanthecona furcellata* (Wolff) (Heteroptera: Pentatomidae). Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4078780> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4078780>, 31p.

- Pureswaran, D.S.; Roques, A.; Battisti, A. 2018.** Insetos florestais e mudanças climáticas. *Current Forestry Reports*, v. 4, p. 35-50.
- Rana, J.S. 2006.** Response of *Coccinella septempunctata* and *Menochilus sexmaculatus* (Coleoptera: Coccinellidae) to their aphid prey, *Lipaphis erysimi* (Hemiptera: Aphididae) in rapeseed mustard. *European Journal of Entomology*, v. 103: p. 81-84.
- Rebaudo, F.; Rabhi, V.B. 2018.** Modeling temperature-dependent development rate and phenology in insects: review of major developments, challenges, and future directions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 166, p. 607-617.
- Robinson, A.; Inouye, D.W.; Ogilvie, J.E.; Mooney, E.H. 2017.** Multitrophic interactions mediate the effects of climate change on herbivore abundance. *Oecologia*, v. 185, p. 181-190.
- Sanchez-Guillén, R.A.; Cordoba-Aguilar, A.; Hansson, B.; Ott, J.; Wellenreuther, M. 2016.** Evolutionary consequences of climate-induced range shifts in insects. *Biological Reviews*, v. 91, p. 1050–1064.
- Santos, Í.T.B.F.; Pinheiro, H.S.S.; Dos Santos, V.B.; De Santana, L.K.N.; Poderoso, J.C.M.; Riberio, G.T. 2018.** Effects of temperature on the development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae): implications for mass rearing. *Florida Entomologist*, v. 101, p. 458-463.
- Sarnevesht, M.; Gheibi, M.; Hesami, S.; Zohdi, H. 2018.** Predation of *Anthocoris minki pistaciae* Wagner (Hemiptera: Anthocoridae) on *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, v. 28, p. 1-8.
- Skendžić, S.; Zovko, M.; Živković, I.P.; Lešić, V.; Lemić, D. 2021.** The impact of climate change on agricultural insect pests. *Insects*, v. 12, p. 440.
- Symondson, W.O.C.; Sunderland, K.D.; Greenstone, M.H. 2002.** Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review Entomology*. v. 47, p. 561–594.
- Terblanche, J.S. 2014.** Physiological performance of field-released insects. *Curr. Opin. Insect Science*. v. 4, p. 60-66.
- Tobin, P.C.; Nagarkatti, S.; Loeb, G.; Saunders, M.C. 2008.** Historical and projected interactions between climate change and insect voltinism in a multivoltine species. *Global Change Biology*, v. 14, p. 951– 957.
- Vreysen, M.J.B.; Robinson, A.S.; Hendrichs, J. 2007.** Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. Springer, Dordrecht, v. 792, p. 31.

Wang, J.; Mu, Y.; Yang, C.; Yang, L.; Zhang, C.; Yu, H.; Chen, X. 2022. Performance of Population Growth of *Arma costs* (Faricius) (Hemiptera: Pentatomidae) at Different Temperatures. *Journal of Insect Science*, v. 22, p. 12.

Wang, S.; Tan, X.L.; Guo, X.J.; Zhang, F. 2013. Effect of temperature and photoperiod on the development, reproduction, and predation of the predatory ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 106, p. 2621-2629.

CAPÍTULO 3

EFEITO DA ACLIMATAÇÃO TÉRMICA NA HISTOFISIOLOGIA REPRODUTIVA DE
Tenuisvalvae notata (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)¹

MICHELE S. COSTA¹

Departamento de Agronomia, Fitossanidade – Entomologia, Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife,
Pernambuco, Brasil

¹Costa, M.S. Efeito da Aclimação Térmica na Fisiologia Reprodutiva e Crescimento Populacional de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae). A ser submetido.

RESUMO

A joaninha *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) é um inseto predador de cochonilhas, com faixa de temperatura ótima para desenvolvimento variando de 20-28°C. Nossa hipótese é que as populações de *T. notata* encontradas em áreas com temperaturas amenas apresentam adaptação fisiológica para sustentar a sobrevivência e reprodução em tais locais. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da temperatura na reprodução quanto à quantificação de proteínas totais, lipídios, açúcares, glicogênio e análises histológicas e histoquímicas. Os insetos utilizados nas análises eram da geração F2 e foram criados em diferentes temperaturas: 28°C (controle), 18°C e 32°C. Machos aclimatados a 18°C foram divididos em três faixas etárias: 5-10 dias, 15 dias e 30 dias. Amostras (n=10), cada uma com 10 joaninhas, foram centrifugadas e separadas para realizar a quantificação de Proteína, Lipídio, Açúcar Total e Glicogênio.. Não houve diferenças significativas no perfil bioquímico dos tratamentos 18°C e 32°C quanto à redução na quantidade de proteínas (fêmeas) e glicogênio em relação ao controle (28°C). A análise histológica dos testículos masculinos mostrou um aumento no número de cistos e espaços vazios sem espermatozoides no tratamento de 18 °C. Houve redução na quantidade de vitelo nos ovários. As análises histoquímicas mostraram redução na quantidade de carboidratos neutros nos ovários de fêmeas criadas a 18°C. Mostrou-se evidente como a maturação do sexo masculino devido à variação de temperatura e nutrição das gônadas desempenha um papel fundamental na reprodução de *T. notata*. Sendo o tratamento de 32 °C o melhor para reprodução, e 18 °C reduzindo significativamente a fecundidade e fertilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Coccinellidae, controle biológico, aclimação, reprodução, histoquímica.

ABSTRACT

The lady beetle *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) is a predatory insect of mealybugs, with an optimal temperature range for development varying from 20-28°C. It can be acclimated to temperatures outside their optimal range, but they do not reproduce satisfactorily or totally. This study aimed to investigate the effects of temperature on the reproduction of *T. notata* regarding quantification of total proteins, lipids, sugar, glycogen, and the histological and histochemical analyses of gonads. Insects used in the analyses were in the F2 generation and were reared at different temperatures: 28°C (control), 18°C and 32°C. Males acclimated at 18°C were divided in three different age groups: 5-10 days-old, 15 days-old, and 30 days-old. Samples (n=10), each with 10 lady beetles, were centrifuged and separated. Gonads were dissected, dehydrated and embedded in historesin. The blocks were sectioned, stained and photos were captured with a photomicroscope. In addition, females insects acclimated and mated in the laboratory were placed in semi-field conditions to measure their reproduction (fecundity and fertility) under natural environmental conditions. No there were significant differences in the biochemical profile of *T. notata* acclimated (18°C and 32°C) regarding a reduction in amount of lipids and total sugar in comparison to the control (28°C). Histological analysis of male testicles showed an increase in the number of cists and empty spaces with no spermatozoa. Meanwhile, there was a reduction in the amount of yolk in female ovarioles. In addition, histochemical analyses showed a reduction in the amount of neutral carbohydrates in ovarioles of females reared at 18°C. On the other hand, the amount of total proteins was not significantly affected in gonads. It is now evident how male sex maturation due to temperature variation and gonad nutrition play a key role in the reproduction of *T. notata*. We hypothesize that populations of *T. notata* found in areas with mild temperatures show physiological adaptation to sustain survival and reproduction in such places.

978 KEYWORDS: Coccinellidae, biological control, acclimatization, reproduction, histochemistry.
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

Introdução

Tenuisvalvae notata (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), é uma espécie de joaninha importante no controle de cochonilhas-farinhentas (Hemiptera: Pseudococcidae) (Barbosa *et al.* 2014). Esta espécie teve a fecundidade média de 8 ovos a 20 °C e de 442 ovos à 28 °C. Por outro lado, criadas em temperaturas abaixo de 18 °C e acima de 34 °C houve uma alteração de fecundidade e fertilidade. Adultos criados a ≥ 32 °C não ovipositaram, e em temperaturas baixas houve uma redução da fecundidade. A fertilidade foi reduzida nos dois extremos. Esses efeitos de temperaturas altas ou baixas podem comprometer o desempenho reprodutivo de *T. notata*, pois podem causar alterações fisiológicas na formação das gônadas dessa espécie (Carmo 2021, Ferreira *et al.* 2020).

Nesse contexto, os insetos apresentam respostas variadas à aclimação, das quais podem ser através de alterações nas proteínas e lipídios da membrana (Farkas *et al.* 1994, Watabe *et al.* 1998, Bowler 2005) na locomoção e taxa metabólica (O'Steen & Bennett 2003, Lachenicht *et al.* 2010).

Estudos que quantifiquem possíveis alterações nutricionais das gônadas devido a temperaturas extremas são importantes, pois visam elucidar alterações reprodutivas, tanto que em diversos meios científicos se faz relevante e se volta a atenção para isso, como por exemplo: biologia (Da Silva *et al.* 2011), zoneamento ecológico (Afonso *et al.* 2009), relação inseto-pragas (Salvador *et al.* 2012), oviposição (Moscardi *et al.* 1981)... Em especial da *T. notata*, uma vez que pouco se sabe sobre os efeitos da aclimação nessa espécie.

A diminuição da temperatura pode causar diminuição de predação, conseqüentemente redução da absorção dos nutrientes, assim causando redução na capacidade reprodutiva, fecundidade e fertilidade (Alves *et al.* 2013). A redução da ingestão de alimentos e nutrição do

inseto causa dificuldade no processo de vitelogênese, diferenciação do ovário e maturação e produção do ovo (Engelmann 1998). O estudo de proteínas, como a vitelogenina, é importante pois esta associada a formação do oócitos (Silva *et al.* 2016).

Os aspectos fisiológicos relacionados a temperatura devem ser estudados, para conhecer as respostas dos insetos à mudança climática, pois essa afeta a distribuição geográfica, o forrageamento e a reprodução (Woods *et al.* 2015, Blanckenhorn 2018).

Este trabalho objetivou investigar alterações fisiológicas e bioquímicas que podem estar relacionadas com a redução de fertilidade e fecundidade de adultos de *T. notata* aclimatados. Avaliar a histologia e quantificar a proteína total, glicogênio, carboidratos totais e lipídeos nos insetos aclimatados e em condições de temperatura ideal, os carboidratos neutros nas gônadas (testículos e ovários) através de análises histológicas e histoquímicas.

Material e Métodos

Insetos. Os insetos (presa e predador) foram retirados da população estabelecida no Laboratório de Comportamento de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A presa cochonilha *Ferrisia dasyliirii* (Cockrell) foi coletada em algodoeiros na área experimental da UFRPE, Recife, Pernambuco, Brasil (8.017070°S, 34.944362°W) e o inseto predador *T. notata* foi coletado também em plantio comercial de algodoeiro em Surubim, Pernambuco, Brasil, (7.833056°S, 35.754722°W). Cada população contando com 11-12 gerações por ano em laboratório.

Criação da presa. A colônia da cochonilha *F. dasyliirii* foi criada sobre abóboras *Cucurbita moschata* (Duch.) var. “Jacarezinho” (Cucurbitaceae), adquiridas uma vez a cada 30 dias no Centro de Abastecimento Alimentar – Ceasa, de Recife-PE, Brasil. Depois de lavadas e secas, as abóboras são infestadas com cochonilhas fecundadas da colônia estoque do Laboratório de

Comportamento, seguindo metodologia descrita por Sanches & Carvalho (2010). A colônia foi mantida em sala climatizada sob condições controladas de temperatura $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12:12h (Luz: Escuro).

Criação da *T. notata*. Inicialmente os insetos que foram usados como parentais estavam sob as mesmas condições da criação das cochonilhas, inseridas em caixa de acrílico de 40x25x20cm (comprimento x altura x largura) contendo aberturas circulares nas laterais. A caixa era forrada internamente com papel toalha e foram ofertadas duas abóboras infestadas com a cochonilha *F. dasyrillii* servindo como presa para as joaninhas, as mesmas foram repostas quando necessário. Os insetos permaneceram nessas caixas com as presas até o momento onde foram retirados para iniciar as gerações de aclimação como descrito a seguir.

Aclimação. Para aclimação dos adultos às temperaturas de 18°C , 32°C e 28°C (baixa, alta e controle), inicialmente, indivíduos adultos de *T. notata* foram retirados da caixa de criação e separados em 3 grupos. Cada grupo foi formado por $n=20$ casais e cada casal foi colocado em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro), juntamente com um pedaço de papel toalha de $0,5\text{ cm}^2$ como substrato para oviposição, e ninfas das cochonilhas *F. dasyrillii*, ofertadas em abundância como alimento. Os grupos foram levados para três câmaras germinadoras climáticas do tipo B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio): i) os indivíduos submetidos ao aumento gradual da temperatura até 32°C ; ii) os indivíduos submetidos a redução gradual de temperatura 18°C ; iii) os indivíduos mantidos a temperatura de criação 28°C sendo o grupo controle. A aclimação dos insetos deu-se pela metodologia de Carmo (2021), em escala de 1°C por dia, até atingir a temperatura mínima de 18°C e máxima de 32°C de acordo com o tratamento. Os adultos obtidos a partir desse processo foram utilizados como parentais. Após atingirem a segunda geração (F2) de insetos adultos nessas condições, eles foram utilizados nos bioensaios a seguir.

Ensaio Bioquímico. A extração e quantificação das proteínas totais, lipídios, açúcar total e glicogênio foi pós atingir a maturidade sexual de 5-10 dias da emergência das joaninhas nas respectivas temperaturas como previamente descrito. Cada amostra contou com 10 joaninhas e para cada tratamento foram 10 amostras, totalizando 100 joaninhas/tratamento/sexo. O preparo das amostras se deu com as joaninhas imobilizadas a uma temperatura de 4°C e maceradas em tampão fosfato de sódio (pH 7,4 e 0,1 M), na proporção de dez joaninhas/ 0,5 mL de tampão. Para cada grupo de macerado foi retirado com um pipetador 0,5 mL da mistura (joaninhas + tampão) e foi armazenado em um microtúbulo devidamente etiquetado. Todo procedimento foi efetuado em baixa temperatura para evitar a oxidação das amostras, obtendo-se assim as amostras de cada tratamento. Após esta etapa ocorre o preparo das amostras, para isso cada grupo de amostras é centrifugada por 3 minutos a 3000 rpm. Após a centrifugação é separado 100 µL de cada amostra para análise das proteínas solúveis totais e 200 µL para as análises de lipídeos, açúcar total e glicogênio.

Extração e Quantificação das Proteínas Solúveis Totais. As proteínas solúveis totais foram determinadas a partir do método de Bradford (1976). Os 100 µL de cada amostra de macerado foram transferidos para tubos de vidro de centrifugação, adicionando o corante Bradford até alcançar o volume de 5 mL. As amostras foram homogeneizadas em agitador tipo vórtex e em seguida permaneceram em repouso por 2 minutos. Posteriormente, foi verificada a absorvância em espectrofotômetro UV visível/190-1000 nm Biospectro SP-220 em comprimento de onda de 595 nm. Cada amostra foi realizada em duplicata. A unidade de leitura utilizada foi µg/mL. Os resultados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o ProcGLM do SAS (SAS 2001).

Extração e Quantificação de Lipídio, Açúcar Total e Glicogênio. Foi avaliado utilizando o método de Van Handel (1985a, b), onde 200 µL do macerado homogeneizado foi acrescido de

200 µL de sulfato de sódio e 800 µL de clorofórmio e metanol (1:1), e centrifugado a 3000 rpm durante 3 min. O precipitado foi utilizado para a análise de glicogênio, e o sobrenadante foi transferido para um microtúbulo onde foi acrescentado 600 µL de água destilada e centrifugado a 3000 rpm durante 3 min. O precipitado foi utilizado para a análise de lipídios e o sobrenadante para análise de açúcar total. O lipídio foi tratado com reagente ácido fosfórico/vanilina enquanto que o açúcar total e o glicogênio, tratados com reagente ácido sulfúrico/antrona. Posteriormente, verificou-se a absorvância em espectrofotômetro UV visível/190-1000 nm Biospectro SP-220 em comprimento de onda de 625 nm. A unidade de leitura utilizada foi µg/mL. Os resultados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o ProcGLM do SAS (SAS 2001), caso o dado não atendesse os requisitos de normalidade e homogeneidade foram comparadas pelo teste Kruskal Wallis ao nível de 5% de probabilidade .

Análise Histológica das gônadas. As joaninhas aclimatadas (18°C e 34°C) e o grupo controle (28°C) foram imobilizadas e dissecadas em formol tamponado sob estereomicroscópio para retirada das gônadas. Estes foram fixadas em formol tamponado a 10% por 24h e conservadas em álcool 70%. Em seguida desidratados em banhos crescentes de álcool etílico (70, 80, 95 e 100%), por 15 minutos cada, embebidos em álcool+historesina (1:1) por 24h e finalmente incluído em historesina Leica[®] por 24h. Secções de cortes de 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica[®] RM 2035. Para os estudos histológicos os cortes foram submetidos à técnica de coloração pelo Azul de Toluidina. As lâminas foram examinadas em microscópio de luz OLYMPUS BX-49 e fotografadas em fotomicroscópio Leica[®] DM 500. As imagens da análise histológica foram digitalizadas pelo software LAS Leica Image.

Histoquímica das gônadas. As joaninhas aclimatadas ou não (grupo controle) foram imobilizadas e dissecadas em tampão fosfato-salino (pH 7,4 e 0,2 M) sob estereomicroscópio e

foram retiradas as gônadas, e submetidas ao mesmo procedimento de inclusão e obtenção de cortes para a análise histológica. Para as análises histoquímicas foram utilizados o Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para detecção de polissacarídeos neutros (Junqueira & Junqueira 1983) e Xylidine Ponceau para detecção de proteínas totais (Pearse 1960). As lâminas foram examinadas em microscópio de luz OLYMPUS BX-49 e fotografadas em fotomicroscópio Leica© DM 500. As imagens foram digitalizadas pelo software LAS Leica Image.

Quantificação Média de Polissacarídeos Neutros e Proteínas Totais. Com o auxílio do programa de editor de imagens GIMP 2.8 (GNU Image Manipulation Program, UNIX platforms) foram convertidas as imagens digitais de histoquímica para uma escala de cinza, permitindo assim a mensuração dos valores de pixels referentes à marcação selecionada no tecido (Solomon 2009). Para cada análise histoquímica foi utilizado três lâminas de indivíduos diferentes, sendo mensurados quatro campos de cada lâmina, totalizando 12 campos por grupo. Os resultados dos teores de glicogênio e proteína foram submetidos à testes de homogeneidade e normalidade para posterior realização de Anova e Tukey a 5% através do programa SAS (SAS Institute 2001).

Avaliação da reversibilidade da reprodução após aclimação. Este teste teve o objetivo de avaliar se a fecundidade e fertilidade dos adultos de *T. notata* poderiam ser restabelecidas após aclimação e exposição às condições de temperatura ambiente próximas à faixa ótima de desenvolvimento. Sob condições controladas de temperatura (28 °C, 32°C e 18 °C), umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12:12h (Luz: Escuro). Dessa forma, após atingirem F2 em B.O.D. Foram formados casais (n=30) em placas de Petri (5-10 dias de idade) nos tratamentos de 28°C e 32°C. Além desses, foram formados casais provenientes de 18°C com diferentes faixas etárias: i) 5-10 dias de idade fêmeas e machos (n=30); ii) 5 dias de idade da fêmea e 15 dias de idade do macho (n=10); e iii) 5 dias de idade da fêmea e 30 dias de idade do macho (n=30). Os tratamentos com diferentes idades dos machos provenientes de 18°C foram formados devido a

1144 visualização das gônadas masculinas de machos com 5-10 dias, mostrando os cistos e
1145 espermatozoides imaturos, o que poderia refletir no restabelecimento da reprodução em condições
1146 de semi-campo. Foram feitas trinta (n=30) repetições de cada tratamento. As cópulas ocorreram
1147 nos primeiros minutos ainda na bancada em laboratório em placas de Petri. Em seguida, os casais
1148 foram levados dentro de Placas de Petri para a B.O.D. com a respectiva temperatura do tratamento
1149 e permaneceram lá por 24h. Após esse período, as fêmeas foram separadas dos machos e levadas
1150 para condições de temperatura ambiente em um telado na área experimental da UFRPE. Para tal,
1151 plantas de algodão foram previamente produzidas em vasos de 5L. Quando atingiram 30 dias de
1152 idade, com 5-6 folhas desenvolvidas, foram infestadas com ninfas de terceiro instar da cochonilha
1153 *F. dasyllirii* na folha superior mais expandida. Após infestação, as folhas foram inseridas em
1154 gaiolas de organza de 10x15cm, as quais receberam as fêmeas previamente acasaladas de *T.*
1155 *notata* vindas do laboratório após aclimação. Nesse estudo foi quantificado a fecundidade
1156 (número de ovos) destas fêmeas e a viabilidade dos ovos (fertilidade) por um período de 20 dias,
1157 sendo cada avaliação em intervalos de 5 dias. No momento da avaliação, a folha de algodão e a
1158 gaiola juntamente com as joaninhas eram retiradas da planta e levadas para o laboratório, e com o
1159 auxílio de um estereoscópio (Leica EZ4 W com oculares de 10X) os ovos e larvas eram
1160 visualizados e contabilizados. Quando necessário ninfas de cochonilhas eram repostas nas gaiolas
1161 em abundância como alimento para as fêmeas de joaninhas, e as larvas de joaninhas que
1162 emergiram eram retiradas das gaiolas para evitar o canibalismo sobre ovos. Para registrar a
1163 temperatura e umidade relativa dentro do telado foi utilizado um termo-higrômetro Data Logger
1164 Hobo U-12, apoiado sobre um banco de madeira, posicionado no centro do telado a
1165 aproximadamente 50 cm do solo, posição equivalente àquela das joaninhas nas plantas de
1166 algodão. Os dados foram coletados entre os dias 13/03/2023 e 29/05/2023 com a temperatura
1167 média de 30,9°C nesse intervalo de tempo, tendo como máxima e mínima, 52,02°C e 22,2°C,

respectivamente. A UR% média foi 73,5%, tendo como máxima e mínima, 100% e 24,5%,
respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância, e médias separadas pelo teste
de Tukey HSD com 5% de probabilidade, utilizando o software SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

Ensaio Bioquímico: Extração e Quantificação das Proteínas Solúveis Totais.

As análises bioquímicas para detecção de proteínas revelaram que nas fêmeas (Fig. 1 A)
não houve diferença significativa em relação ao controle ($F = 0,90$; $P = 0,4186$). As médias $\pm EP$
foram $79,05 \pm 14,19$; $70,26 \pm 12,67$ e $77,67 \pm 18,74$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C
respectivamente. Nos machos (Fig. 1 B), após a transformação arcoseno dos dados, revelou que
houve diferença significativa dos tratamentos ($F = 6,61$; $P = 0,0046$), tendo aumento para o
tratamento de 32°C e redução para 18°C em comparação ao controle. As médias foram
 $66,56 \pm 10,56$; $82,88 \pm 14,39$ e $56,18 \pm 22,45$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C
respectivamente. Médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Ensaio Bioquímico: Extração e Quantificação de Lipídio, Açúcar Total e Glicogênio.

As análises bioquímicas para detecção de Lipídeos revelaram que nas fêmeas (Fig. 2 A)
houve diferença significativa em relação ao controle ($\chi^2 = 18,8005$; $P < 0,0001$). As médias foram
 $66,90 \pm 26,14$; $26,90 \pm 4,62$ e $28,50 \pm 6,07$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C
respectivamente. Nos machos (Fig. 2 B) revelou que houve diferença significativa dos
tratamentos ao controle ($\chi^2 = 17,9901$; $P < 0,0001$), tendo redução para os tratamento de 32°C e
18°C. As médias $\pm EP$ foram $51,10 \pm 10,98$; $29,40 \pm 5,23$ e $26,80 \pm 2,29$ para os tratamentos de 28 °C,
32 °C e 18 °C respectivamente. Médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis ao nível de 5%.

Para detecção de glicogênio (Fig. 2 C, D), as análises revelaram que não houve diferença
significativa comparados ao controle, nas fêmeas ($F = 1,16$; $P = 0,3300$). As médias $\pm EP$ foram

91,60±33,69; 71,24±36,89 e 81,34±18,84 para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente. Igualmente não houve diferença para os machos comparados ao controle (F = 0,35; P = 0,7044). As médias foram 69,93±18,55; 89,12±24,11 e 84,93±22,43 para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente

Quando foram realizadas as análises bioquímicas para detecção de Açúcar total, as médias revelaram que nas fêmeas (Fig. 2 E) houve diferença significativa sendo os tratamentos 32 °C e 28 °C superiores ao tratamento de 18 °C (F = 4,22; P = 0,0254). As médias ±EP foram 150,81±47,40; 174,62±29,47 e 126,72±31,00 para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente. Nos machos (Fig. 2 F) também houve diferença significativa dos tratamentos com o controle (F = 6,60; P = 0,0047), tendo redução para o tratamento de 32°C em relação ao tratamento de 28 °C e 18°C. As médias ±EP após transformação, raiz quadrada, foram 113,56±36,15; 190,36±68,62 e 142,44±28,74 para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente. Médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Análise Histológica das gônadas.

Os cortes de ovariolos corados por Azul de Toluidina revelaram que todos são revestidos com bainha de tecido conjuntivo, além de apresentarem vesícula germinativa (Fig. 3), os oócitos estão se desenvolvendo e é circundado por células foliculares, apresentam região vitelária bem desenvolvida. O tratamento de 18°C mostrou redução de vitelo, assim tendo o ovariolo morfologicamente diferente do controle.

O testículo dos adultos é revestido por um tecido conjuntivo, observada a presença de muitos espermatozóides formados no controle (Fig. 4A), nos grupos submetido a 18°C e 32°C (Fig. 4B, C) pode-se observar cistos (contendo células da linhagem espermática) e espermatoóides. Nos testículos submetidos a aclimação observou-se espaços não preenchidos por espermatozóides. O testículo de 18°C mostrou maior abundância de cistos.

Quantificação Média de Polissacarídeos Neutros e Proteínas Totais

A análise histoquímica detectou redução para Xylidine Ponceau nos ovários de adultos dos tratamentos (Fig. 6). Mostrou uma redução nos teores de proteína quando são submetidos a temperatura de 32°C e 18°C ($F = 3,43$; $P = 0,0442$). As médias $\pm EP$ foram $447508,42 \pm 280645,76$; $206622,50 \pm 257081,84$ e $207979,08 \pm 238224,09$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente. Na análise para Xylidine Ponceau nos testículos de adultos (Fig. 7) obteve um aumento para o tratamento de 32°C e redução de proteínas para o tratamento de 18°C, mas essa diferença não foi significativa estatisticamente ($F = 1,49$; $P = 0,2401$). As médias $\pm EP$ foram $377572,50 \pm 283227,27$; $425523,08 \pm 245999,35$ e $251416,75 \pm 162121,44$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente.

Na detecção de carboidratos neutros por Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.), nos ovários, houve diferença significativa, apresentaram menor valor nos adultos submetidos a aclimação, tendo diferença significativa para o tratamento de 18 °C ($F = 8,440$; $P = 0,0011$) (Fig. 8). As médias $\pm EP$ foram $464096,67 \pm 222790,24$; $325662,00 \pm 180756,42$ e $165181,92 \pm 114862,37$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente. A análise histoquímica para os testículos (Fig. 9) apresentou redução para os tratamentos fora da faixa ideal, essa redução foi significativa estatisticamente para o tratamento de 18 °C ($F = 5,12$; $P = 0,0116$). As médias $\pm EP$ após transformação, por raiz quadrada para fêmeas e logarítmica para machos, foram $330738,92 \pm 293634,94$; $682949,75 \pm 387646,26$ e $357650,58 \pm 776583,10$ para os tratamentos de 28 °C, 32 °C e 18 °C respectivamente.

Avaliação da reversibilidade da reprodução após aclimação.

Neste estudo, os indivíduos criados por duas gerações consecutivas nas temperaturas fora da faixa ideal (<20°C e >32°C) sofreram alterações reprodutivas, mesmo sendo capazes de sobreviver nessas condições.

As fêmeas de 28°C foram as que mais ovipositaram, e também tiveram maior viabilidade de ovos (fertilidade).

Para às fêmeas oriundas de 32°C, não houve oviposição na primeira semana em condições de semi-campo. Entretanto, esse padrão não se repetiu na semana subsequentes com um aumento significativo tanto na fecundidade ($F = 19,20$; $P < 0,0001$), como na fertilidade ($F = 10,270$; $P < 0,0001$).

Por fim, fêmeas oriundas de 18°C acasaladas com machos de 30 dias foram as que menos se adaptaram as condições de semi-campo durante o período de avaliação. A fecundidade foi menor que 10 ovos nas duas primeiras semanas de avaliação, e praticamente nula nas duas últimas semanas. Além disso, a viabilidade de ovos também foi significativamente menor que os outros tratamentos, principalmente na primeira semana tendo 12 ovos, mas estas não evoluíram para larvas. Nas terceira semana não tendo fertilidade e fecundidade.

Para as fêmeas oriundas de de 18°C e acasaladas com machos de 5-10 e 15 dias nenhuma ovipositou no intervalo de 30 dias.

Não houve diferença estatística na fecundidade (Tabela 1) ($F = 2,14$; $P = 0,1239$) e fertilidade (Tabela 2) ($F = 2,16$; $P = 0,1218$) de fêmeas aclimatadas na primeira semana em comparação ao controle em condição de semi-campo (Tabela 1). Por outro lado, as semanas seguintes de avaliação (5-20 dias) houve diferença estatística na fecundida e na fertilidade das fêmeas aclimatadas em laboratório e transferidas para o telado.

Discussão

Os insetos de ambientes estáveis termicamente são mais limitados em se tratando de aclimação (Pallarés *et al.* 2019). A temperatura causa efeito na sobrevivência, fecundidade, taxa

de crescimento e desenvolvimento dos insetos. O aumento na temperatura aumenta na taxa metabólica e taxas de desenvolvimento (Khan *et al.* 2016).

As fêmeas aclimatadas não tiveram alterações morfológicas comparadas ao controle, o mesmo efeito não aconteceu com *Drosophila melanogaster* Meigen que não obteve ovócitos maduros quando submetidas a temperaturas mais elevadas, mas quando volta para temperatura amena sua fertilidade é recuperada (Audit-Lamour & Busson 1981). Já que o estresse térmico pode causar a cessação da oviposição, pois está ligado a inibição da enzima degradadora de hormônio juvenil na hemolinfa (Raushenbach *et al.* 2004).

Os testículos das joaninhas de 18°C apresentaram maior quantidade de espaço entre espermatozóides e maior quantidade de cistos quando comparados ao controle, não era totalmente preenchido e alguns espaços preenchidos não tinham espermatozóides maduros, reduzindo a fertilidade dos mesmos. Diferente do estudo com o besouro macho de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) que mostrou alterações negativas quando submetido a temperatura mais elevada, reduzindo a produção de espermatozóides, diminuindo a fertilidade e competitividade desses (Sales *et al.* 2018). Também em *Drosophila melanogaster* Meigen que diminuiu a fertilidade com o aumento de temperatura nos machos (Rohmer *et al.* 2004). O aumento da cabeça dos espermatozóides, devido a condensação de cromatina, pelo estresse térmico sugere que o calor afeta os processos fisiológicos em várias espécies, causando infertilidade temporária (Rohmer 2004).

Houve redução de proteínas totais nas gônadas das fêmeas, mostrando que ocorreu redução da proteína da gema nos ovariolos (Gillott, 2005; Silva *et al.* 2016) causando redução da reprodução já que afeta a vitelogênese e diminuindo a ação de secretar, do corpo gorduroso, algumas proteínas, como a vitelogenina, que compõe o ovócito (Cruz *et al.* 2017)..

Em *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) foi constatado maior tempo para desenvolvimento e maior períodos de pré-oviposição na temperatura de 17 °C. Além disso o número de ovos foi reduzido nesta temperatura (Santos *et al.* 2018), semelhante a este estudo com *T. notata*.

. Em condições de laboratório esses indivíduos conseguiam passar de um estadio para outro, chegando a ninfa 3, mas não chegaram a pupa e conseqüentemente adulto, em condições de semi-campo esses indivíduos morreram na segunda semana de vida, resultado semelhante foi visto no trabalho de Santos *et al.* (2018) para *Podisus nigrispinus*. Quando *D. melanogaster* foi submetida a temperaturas mais amenas recuperam a fertilidade (Rohmer *et al.* 2004) o mesmo não ocorreu no estudo com *T. notata*. A diminuição da oviposição na temperatura de 18°C pode estar ligada a redução da reserva de energia, nos machos, já que os insetos consomem menos alimentos nesta condição (Renault *et al.* 2003)

Aumento do tempo no desenvolvimento pode estar ligado a alocação de recursos energéticos do inseto para a sua sobrevivência (Vacari *et al.* 2014), resultado semelhante foi visto no estudo com *Podisus nigrispinus* (Santos *et al.* 2018) e neste com *T. notata* que aumentando o tempo para mudança de instar..

Os resultados foram importantes para um melhor entendimento dos efeitos de variações de temperatura na sobrevivência e reprodução desse predador, pois fora da sua faixa ideal, o tratamento de 18 °C foi o mais afetado negativamente, prejudicando seu crescimento populacional e conseqüentemente o controle de cochonilhas.

Literatura Citada

- Afonso, A.P.S., Wrege, M., Martins, J.F.S. & Nava, D.E. 2009.** Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. Arquivos do Instituto Biológico 76, 607–612.
- Allen, J.L., Clusella-Trullas, S., & S.L. Chown. 2012.** The effects of acclimation and rates of temperature change on critical thermal limits in *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae) and *Cyrtobagous salviniae* (Curculionidae). J. Insect Physiol. 58: 669-678.
- Audit-Lamour, C. & D. Busson. 1981.** Oogenesis defects in the ecd-1 mutant of *Drosophila melanogaster*, deficient in ecdysteroid at high temperature. J. Insect Physiol. 27: 829-837.
- Bale, J. S., Masters, G. J., Hodkinson, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K., Whittaker, J. B. 2002.** Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. Global Change Biology, 8(1), 1–16
- Barbosa, P.R.R., Torres, J.B. & Giorgi, J.A. 2012.** Desempenho de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) em diferentes presas e sua predação sobre *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae). Dissertação (Dissertação em Entomologia agrícola) – UFRPE.
- Barbosa, P.R.R., Oliveira, M. D., Giorgi, J.A., Oliveira, J.E.M. & Torres, J.B., 2014.** Suitability of Two Prey Species for Development, Reproduction, and Survival of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae), Annals of the Entomological Society of America, Volume 107, Issue 6, 1 November 2014, 1102–1109
- Begha, B.P., Souza, J.M.T. de, Antunes, C.H. & Milléo, J. 2019.** Diversidade e sazonalidade de coccinelídeos (Coleoptera: Coccinellidae) em pomar no município de Ponta Grossa, Paraná. EntomoBrasilis. 12, 3 (Dec. 2019), 108-112.
- Blanckenhorn, W.U. 2018.** Behavioral, plastic, and evolutionary responses to a changing world. In: Insect Behavior: From mechanisms to ecological and evolutionary consequences. Edited by Alex Cordoba-Aguilar, Daniel Gonzalez-Tokman, and Isaac Gonzalez-Santoyo. London, Oxford University Press, 270p.
- Bowler, K. 2005.** Acclimation, heat shock and hardening. J. Therm. Biol. 30: 125-130.
- Carmo, E.B.S. 2021.** Papel da aclimatacao na sobrevivencia, reproducao e resposta funcional de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae). Dissertação (Dissertação em Entomologia agrícola) – UFRPE.
- Cruz, G.S., Wanderley-Teixeira, V. Oliveira, J.V. Lopes, F.S.C. Barbosa, D.R.S. Breda, O. Dutra, K.A. Guedes, C.A. Navarro, D.M.A.F. & Teixeira, A.A.C. 2016 .** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 109: 660-666

- Cruz, G.S., Wanderley-Teixeira, V., Oliveira, J.V., D'assunção, C.G., Cunha, F.M., Teixeira, A.A.C., Guedes, C.A., Dutra, K.A., Barbosa D.R.S. & Breda, M.O. 2017.** Effect of transanethole, limonene and your combination in nutritional componentes and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Chem.-Biol. Interact. 263: 74-80.
- Da Silva, D.M., Hoffmann-Campo, C.B., De Freitas Bueno, A., De Freitas Bueno, R. C. O., De Oliveira, M.C.N., & Moscardi, F. 2011.** Biological characteristics of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) for three consecutive generations under different temperatures: understanding the possible impact of global warming on a soybean pest. Bulletin of Entomological Research, 102(03), 285–292.
- Dahlhoff, E.P. & N.E. Rank. 2007.** The role of stress proteins in responses of a montane willow leaf beetle to environmental temperature variation. J. Biosci. 32: 477-488.
- Engelmann, F., 1998.** In vitro germplasm conservation. Acta Hortic. 461, 41–47
- Farkas, T., I. Dey, C. Buda & J.E. Halver. 1994.** Role of phospholipids molecular- species in maintaining lipid–membrane structure in response to temperature. Biophys. Chem. 26: 147–155.
- Ferreira, L. F., Silva-Torres, C. S. A., Venette, R. C., & Torres, J. B. 2020.** Temperature and prey assessment on the performance of the mealybug predator *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). Austral Entomology, 59: 178–188.
- Ferreira, L.F., Silva-Torres, C., Torres, J., & Venette, R. 2021.** Potential displacement of the native *Tenuisvalvae notata* by the invasive *Cryptolaemus montrouzieri* in South America suggested by differences in climate suitability. Bulletin of Entomological Research, 111(5), 605-615.
- Gilbert, N.; Raworth, D.A.; 2012** Forum: Insects And Temperature - A General Theory. Online Cambridge University. pp. 1-13
- Gillott, C., 2005.** Entomology. Springer, Netherlands
- Giorgi, J.A., P.R.R. Barbosa, J.E.M. Oliveira & J.B. Torres. 2018.** *Prodiloides bipunctata* Weise (Coccinellidae: Cephaloscymnini): new research on native natural predators of the carmine cochineal, *Dactylopius opuntiae* (Cockerel) (Hemiptera: Dactylopiidae) in the Brazilian Semi-arid. Coleopt. Bull. 72: 562–565.
- Gordon, R.D. 1985.** The Coccinellidae (Coleoptera) of America North of Mexico. J.N.Y. Entomol. Soc. 93: 352–599.
- Janowitz, S.A. & K. Fischer. 2011.** Opposing effects of heat stress on male versus female reproductive success in *Bicyclus anynana* butterflies. J. Therm. Biol. 36: 283-287.

- Khan, J., Ehsan-ul-Haq, A.U.R. Saljoki & A. Rehman. 2016.** Effect of temperature on biological attributes and predatory potential of *Harmonia dimidiata* (Fab.) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Rhopalosiphum padi* aphid. J. Entomol. Zool. Stud. 4: 1016–1022.
- Krebs, R.A., & V., Loeschcke. 1994.** Costs and benefits of activation of the heat-shock response in *Drosophila melanogaster*. Funct. Ecol. 730-737.
- Lachenicht, M.W., S. Clusella-Trullas, L. Boardman, C. Le Roux & J.S. Terblanche. 2010.** Effects of acclimation temperature on thermal tolerance, locomotion performance and respiratory metabolism in *Acheta domesticus* L. (Orthoptera: Gryllidae). J. Insect. Physiol. 56: 822-830.
- Leroi, A.M., Bennett, A.F., & R.E. Lenski. 1994.** Temperature acclimation and competitive fitness: an experimental test of the beneficial acclimation assumption. Proc. Natl. Acad. Sci. 91: 1917-1921.
- Li, M., X.J. Li, J.H. Lu & M.F. Huo. 2018.** The effect of acclimation on heat tolerance of *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). J. Therm. Biol. 71: 153-157.
- Lima-Mendonça, A., Mendonça, A.L., Sant'Ana, A.E.G., Nascimento, R.R.; Semioquímicos de moscas das frutas do gênero Anastrepha. 2014.** Quím. Nova 37, 293-303
- Mellanby, K. 1939.** Low Temperature and Insect Activity. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 127(849), 473–487.
- Moscardi, F., Barfield, C. S., & Allen, G. E. 1981.** Effects of Temperature on Adult Velvetbean Caterpillar Oviposition, Egg Hatch, and Longevity. Annals of the Entomological Society of America, 74(2), 167–171.
- Muñoz-Valencia, V., R. González-Obando & F. Díaz. 2016.** Rapid responses to a Strong experimental selection for heat hardening in the invasive white fly *Bemisia tabaci* MEAM 1. Entomol. Exp. Appl. 160: 147-155.
- Nguyen, T.M., C. Bressac & C. Chevrier. 2013.** Heat stress affects male reproduction in a parasitoid wasp. J. Insect. Physiol. 59: 248–254.
- Oliveira, C.M., Silva-Torres, C.S.A., Torres, J.B. & Santos, G.S.S. 2022** Estimation of population growth for two species of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) under different temperatures, Biocontrol Science and Technology, 32:1, 74-89
- O'Steen, S. & A.F. Bennett. 2003.** Thermal acclimation effects differ between voluntary, maximum, and critical swimming velocities in two cyprinid fishes. Physiol. Biochem. Zool. 76: 484-496.
- Pacheco da Silva, V.C., M. Botton, E. Prado & J.E.M. Oliveira. 2016.** Bioecologia, monitoramento e controle de cochonilhas farinhas (Hemiptera: Pseudococcidae) na Cultura da Videira. Bento Gonçalves, Embrapa, 20p. (Circular Técnica 125).

- Pacheco da Silva, V.C., J.B. Torres, C.S.A Silva-Torres & M.B. Kaydan. 2019.** *Mealybug species* (Hemiptera: Coccothraupidae: Pseudococcidae) on soursop and sugar apple (Annonaceae) in North-East Brazil, with description of a new species of *Pseudococcus* Westwood. *Zootaxa* (Online), 3: 525-538.
- Pallares, S., Colado, R., Perez-Fernandez, T., Wesener, T., Ribera, I., & Sanchez-Fernandez, D. 2019.** Heat tolerance and acclimation capacity in subterranean arthropods living under common and stable thermal conditions. *Ecol. Evol.* 24: 13731-13739.
- Peronti, A.L.B.G., N.M. Martinelli, J.G. Alexandrino, A.L. Marsaro Júnior, A.M. PenteadoDias & L.M. Almeida. 2016.** Natural enemies associated with *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Fla. Entomol.* 99: 21–25.
- Renault D., Hance T., Vannier G., Vernon P. 2003.** Is body size an influential parameter in determining the duration of survival at low temperatures in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Zoology* 259: 381–388.
- Rinehart, J.P., G.D. Yocum & D.L. Denlinger. 2000.** Thermotolerance and rapid cold hardening ameliorate the negative effects of brief exposures to high or low temperatures on fecundity in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol. Entomol.* 25: 330-336.
- Rohmer, C., J.R. David, B. Moreteau & D. Joly. 2004.** Heat induced male sterility in *Drosophila melanogaster*: adaptive genetic variations among geographic populations and role of the Y chromosome. *J. Exp. Biol.* 207: 2735-2743.
- Rolandi, C., Iglesias, M. S., & Schilman, P. E. 2014.** Metabolism and water loss rate of the haematophagous insect *Rhodnius prolixus*: effect of starvation and temperature. *Journal of Experimental Biology*, 217 (24), 4414–4422.
- Sales, K., R. Vasudeva, M. E. Dickinson, J.L. Godwin, A.J. Lumley, L. Michalczyk, L. Hebberecht, P. Thomas, A. Franco & M.J.G. Gage. 2018.** Experimental heatwaves compromise sperm function and cause transgenerational damage in a model insect. *Nat. Commun.* 9: 4771.
- Salvador, Mariana Closs; Moscardi, F.; Oliveira, M C N De; Ueda, T.; Janegitz, T. ; Graça, J. P.; Souza, M.; Hoffmann-Campo, C.B.H. 2012.** Influencia de diferentes temperaturas sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda*. In: XXVI Congresso Brasileiro de Entomologia.
- Sanches, N.F.; Carvalho, R.S. 2010.** Procedimentos para Manejo da criação e Multiplicação do Predador Exótico *Cryptolaemus montrouzieri*. Embrapa – Circular Técnica 99.
- Santos, P.B., C.F. Castro-Guedes, A.L.B.G. Peronti & L.M. Almeida 2017.** New species of *Tenuisvalvae* (Duverger) (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on *Parthenolecanium perlatum* (Cockerell) (Hemiptera: Coccidae) in citrus crop. *Neotrop. Entomol.* 46: 507–513.

- Santos, Í. T. B. F. dos, Pinheiro, H. S. S., Santos, V. B. dos, Santana, L. K. N. de, Poderoso, J. C. M., & Riberio, G. T. 2018.** Effects of Temperature on the Development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae): Implications for Mass Rearing. *Florida Entomologist*, 101(3), 458–463.
- Saxena, B.P., P.R. Sharma, R.K. Thappa, & K. Tikku. 1992.** Temperature induced sterilization for control of three stored grain beetles. *J. Stored. Prod.* 28: 67-70.
- Sebastião, D., I. Borges & A.O. Soares. 2014.** Effect of temperature and prey in the biology of *Scymnus subvillosus*. *BioControl* 60: 241–249.
- Silva, C. T. dos S., Wanderley-Teixeira, V., Cunha, F. M. da, Oliveira, J. V. de, Dutra, K. de A., Navarro, D. M. do A. F., & Teixeira, Á. A. C. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochemica*, 118(4), 347–352.
- Sunday, J.M., A.E. Bates & N.K. Dulvy. 2012.** Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nat. Clim. Change.* 2: 686-690.
- Torres, J.B., & J.A. Giorgi. 2018.** Management of the false carmine cochineal *Dactylopius opuntiae* (Cockerell): Perspective from Pernambuco state, Brazil. *Phytoparasitica* 46: 331–340.
- Túler, A. C., Silva-Torres, C. S. A., Teixeira, V. W., Teixeira, A. A. C., Guedes, C. A., D’Assunção, C. G., Alves, L. C. 2018.** Histology of the spermatheca and stored sperm of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Physiological Entomology*, 43(3), 180–187.
- Túler, A.C., C.S.A. Silva-Torres, J.B. Torres, R.B. Moraes & A.R.S. Rodrigues. 2017.** Mating system, age, and reproductive performance in *Tenuisvalvae notata*, a long-lived ladybird beetle. *Bull. Entomol. Res.* 8: 616-624.
- Vacari A.M., Goulart R.M., Volpe H.X.L., Bortoli S.A. 2014.** Effect of egg rearing temperature and storage time on the biological characteristics of the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 107: 178–183
- Wang, S., Tan, X.-L., Guo, X.-J., & Zhang, F. 2013.** Effect of Temperature and Photoperiod on the Development, Reproduction, and Predation of the Predatory Ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *J. of Economic Entomol.*, 106(6), 2621–2629.
- Watabe, S., Y. Hirayama, M. Nakaya, M. Kakinuma, K. Kikuchi, X-F. Guo, S. Kanoh, S. Chaen & T. Ooi. 1998.** Carp expresses fast skeletal muscle myosin isoforms with altered motor functions and structural stabilities to compensate for changes in environmental temperature. *J. Therm. Biol.* 22: 375–390.

- 1543 **Weldon, C.W., J.S. Terblanche & S.L. Chown. 2011.** Time-course for attainment and reversal
1544 of acclimation to constant temperature in two *Ceratitis* species. J. Therm. Biol. 36: 479-485.
1545
- 1546 **Woods, H.A., M.E. Dillon & S. Pincebourde. 2015.** The roles of microclimatic diversity and of
1547 behavior in mediating the responses of ectotherms to climate change. J Therm. Biol. 54, 86.
1548
- 1549 **Zhang, S., Z. Cao, Q. Wang, F. Zhang & T.X. Liu. 2014.** Exposing eggs to high temperatures
1550 affects the development, survival and reproduction of *Harmonia axyridis*. J. Therm. Biol.
1551 39: 40-44.
1552

1553 Tabela 1. Fecundidade de *Tenuisvalvae notata* em condição de semi-campo (Temp.
 1554 média=30,9°C, UR% média=73,5%, após aclimação em laboratório.

Temp. (°C)	Tempo (dias) após liberação em estufa telada			
	0-5	6-10	11-15	16-20
18	0,40±0,89 a*	0,23±0,67 b	0,00±0,00 b	0,10±0,40 b
28	0,50±1,30 a	1,20±0,66 a	2,10±2,55 a	1,36±2,90 a
32	0,03±0,18 a	1,13±0,68 a	0,86±0,68 b	0,86±1,47 ab
F	2,14	19,20	14,38	3,39
P	0,1239	<0,0001	<0,0001	0,0381

1555 *Médias ±EP seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao
 1556 nível de 5% de probabilidade.

1557
 1558
 1559
 1560
 1561
 1562
 1563
 1564
 1565
 1566
 1567
 1568
 1569

1570 Tabela 2. Fertilidade (viabilidade de ovos) de *Tenuisvalvae notata* em condição de semi-campo
1571 (Temp. média=30,9°C, UR% média=73,5%, após aclimação em laboratório.

Temp. (°C)	Tempo (dias) após liberação em estufa telada			
	0-5	6-10	11-15	16-20
18	0,00±0,00 a	0,10±0,40 b	0,00±0,00 b	0,10±0,40 b
28	0,30±1,11 a	1,16±0,69 a	1,36±1,90 a	1,20±2,48 a
32	0,00±0,00 a	0,96±0,55 a	0,73±0,69 a	0,83±1,41 ab
F	2,16	30,15	10,27	3,39
P	0,1218	<0,0001	<0,0001	0,0383

1572 *Médias ±EP seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao
1573 nível de 5% de probabilidade.

1574
1575
1576
1577
1578
1579
1580
1581

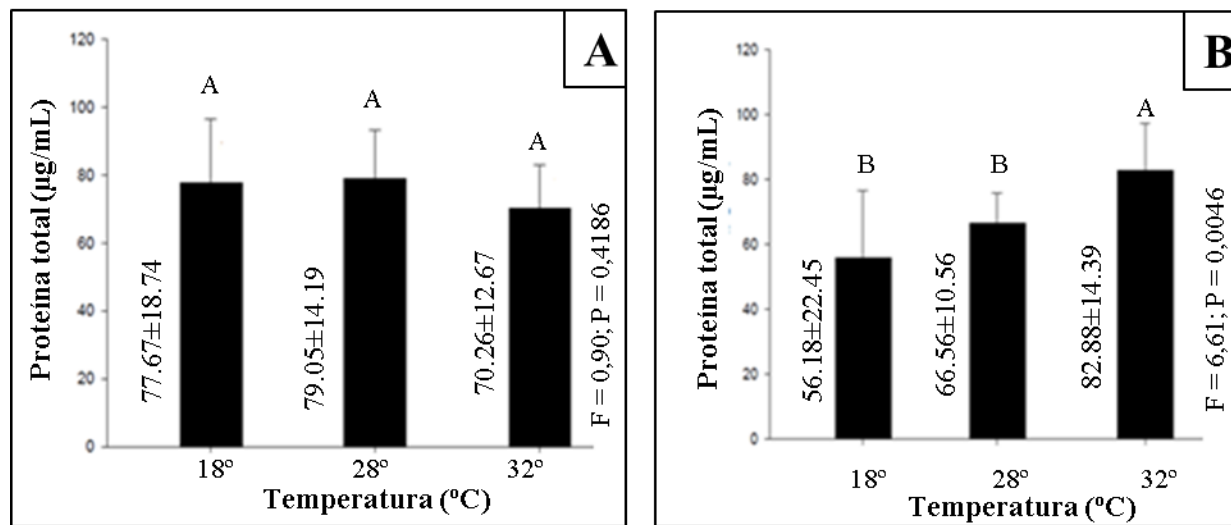


Figura 1. Média ($\pm$ EP) de proteína total ($\mu\text{g/mL}$) de adultos de *Tenuisvalvae notata* submetidas a temperatura de 28°C, 32°C e 18°C. A – Fêmeas, B- Machos. Barras seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

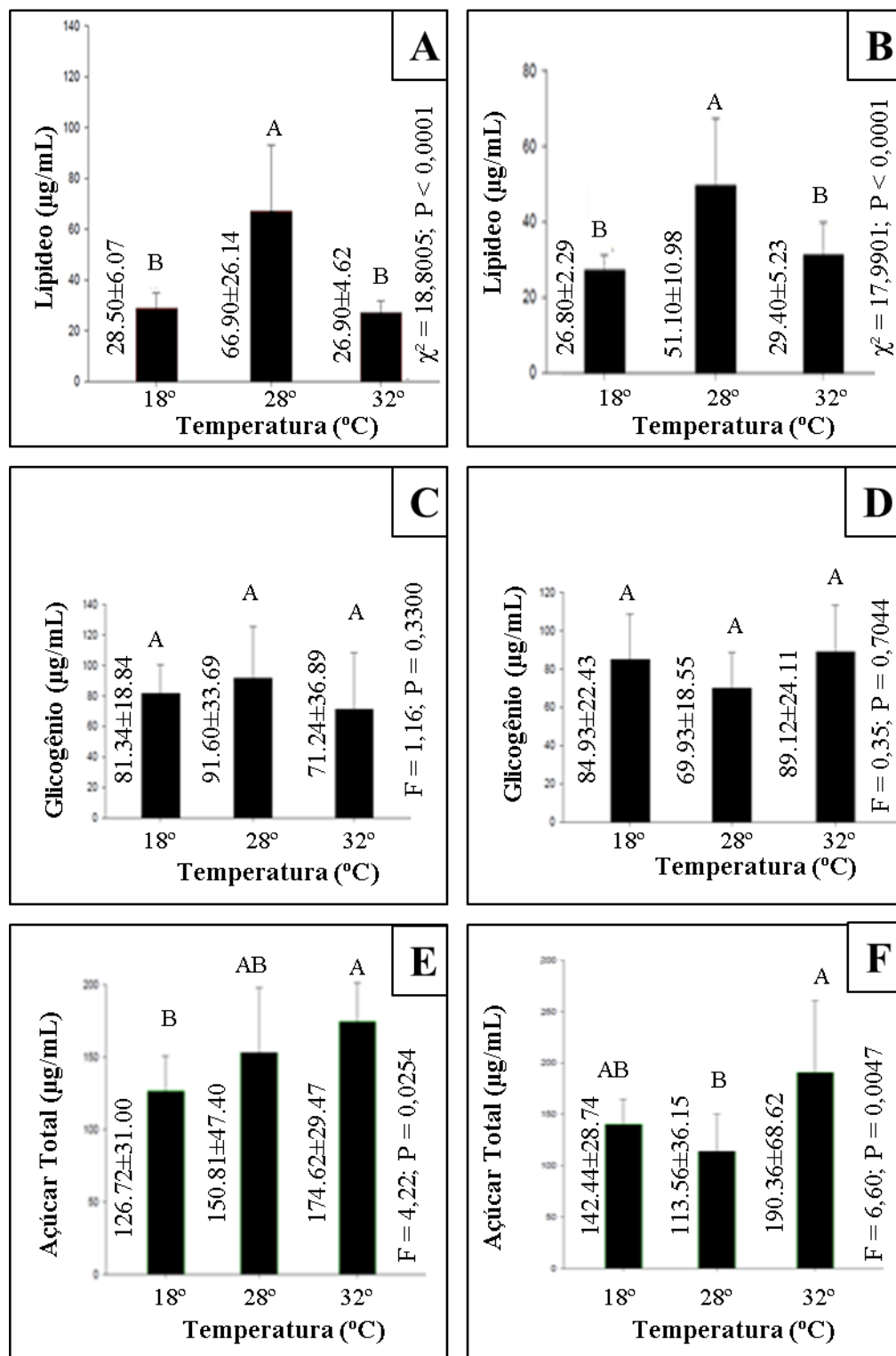


Figura 2. Análise de bioquímica (µg/mL) de adultos de *Tenuisvalvae notata* submetidos a temperatura de 28°C, 32°C e 18°C. A, Lipídeo (fêmea). B, Lipídeo (macho). C, Glicogênio

(fêmea); D, Glicogênio (macho). E, Açúcar total (fêmea). F, Açúcar total (macho). Barras seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Kruskal Wallis (Fig. A e B) ou Tukey (Fig. C, D, E e F) ao nível de 5% de probabilidade.

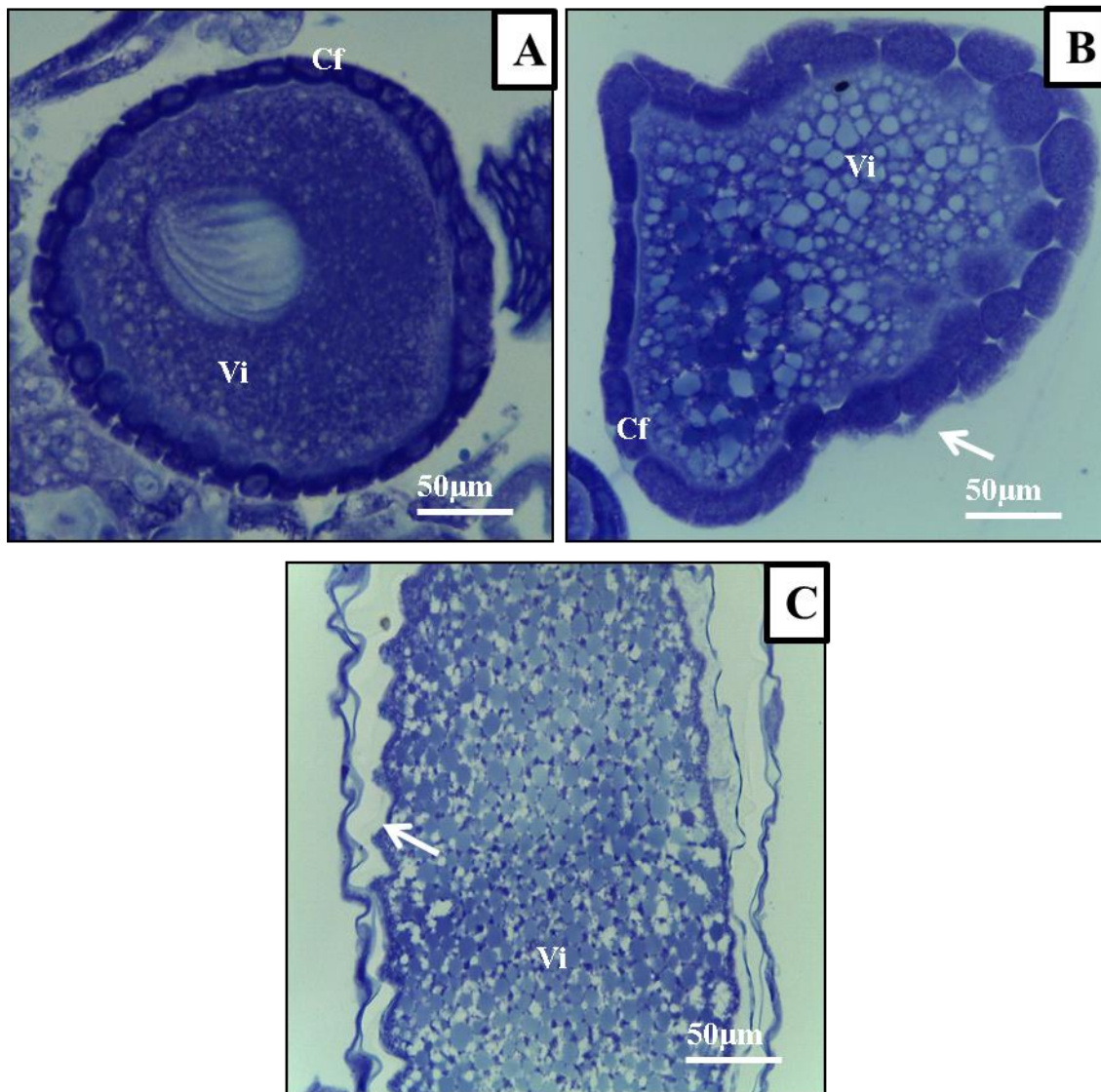


Figura 3. Ovariolo de adultos de *Tenuisvalvae notata*.. Coloração Azul de Toluidina A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C, respectivamente. Vitelo (Vi); seta, bainha de tecido conjuntivo; Cf, células foliculares.

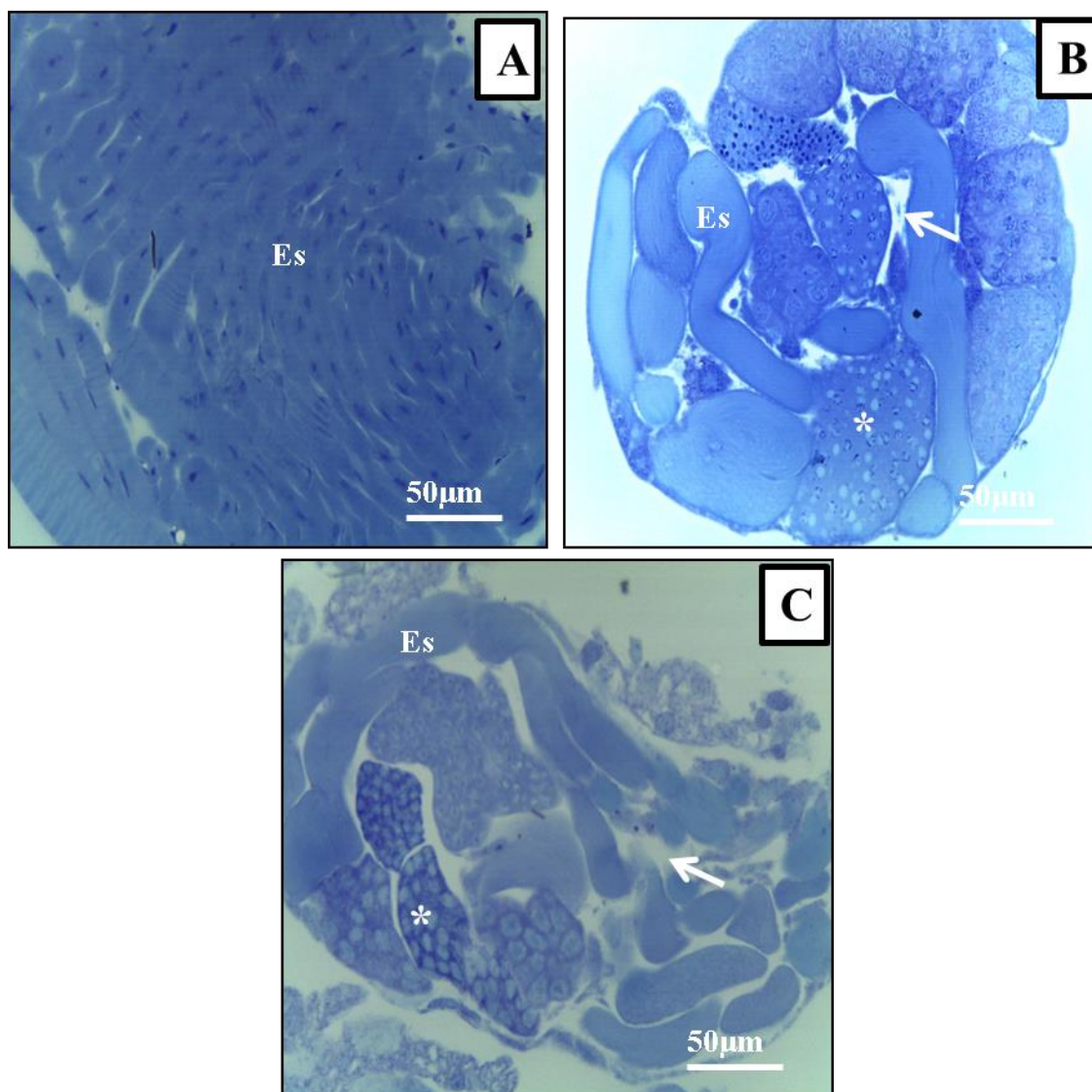
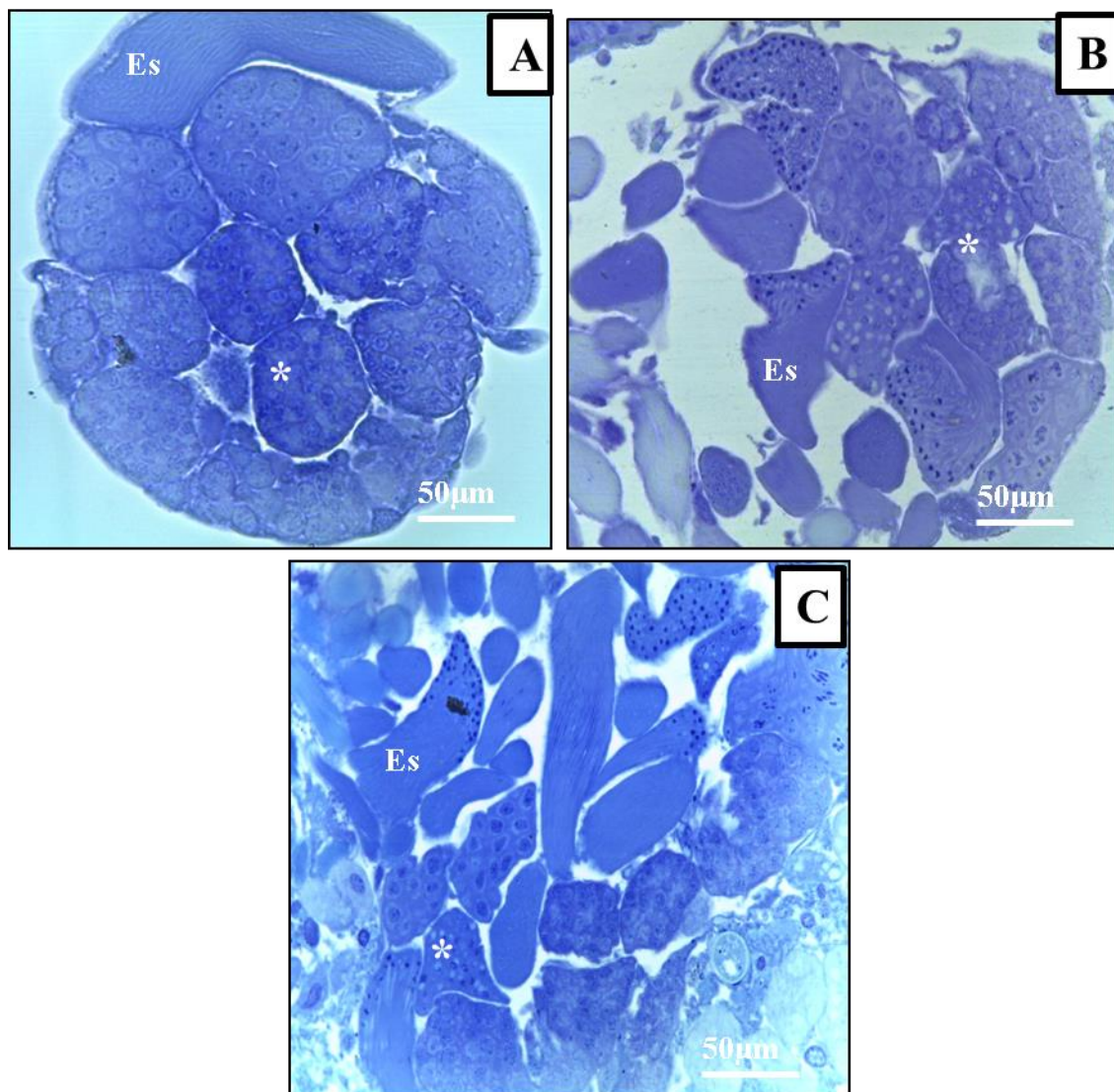


Figura 4. Testículo de adultos de *Tenuisvalvae notata*.. Coloração Azul de Toluidina A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C respectivamente. Es, espermatozoides; Seta, espaços vazios; Asterisco, cistos.



1620
 1621 Figura 5. Testículo de adultos de 18°C de *Tenuisvalvae notata*. Coloração de Azul de Toluidina. A
 1622 – 5-10 dias, B – 15 dias e C 30 dias. Es, espermatozoides; Asterisco, cistos.

1623

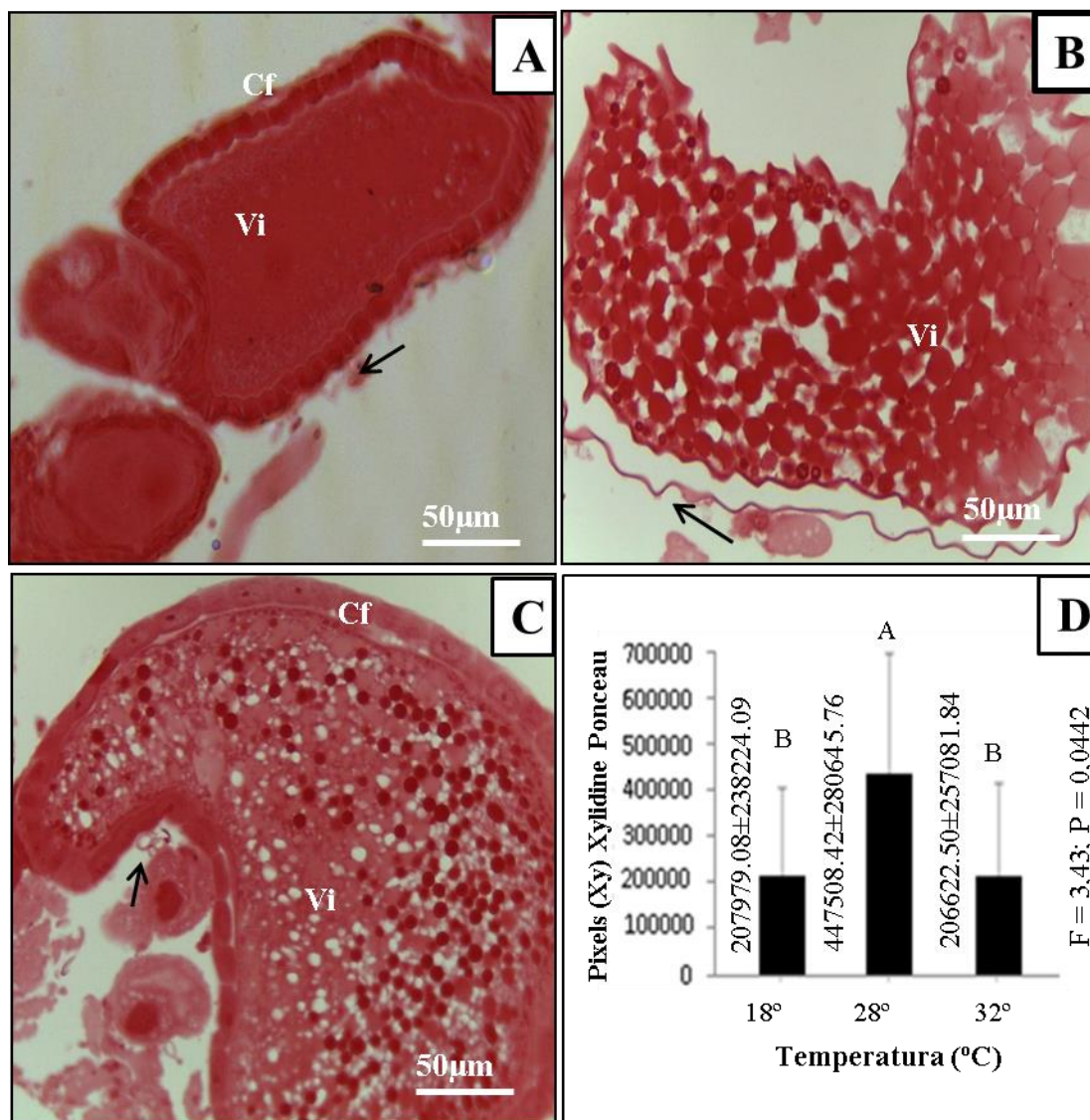


Figura 6. Histoquímica do ovaríolo de adultos de *Tenuisvalvae notata* para quantificação de proteínas totais. Coloração Xylidine Ponceau. A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C respectivamente. Vitelo (Vi); seta, bainha de tecido conjuntivo; Cf, células foliculares. D - D - Quantidade média de pixels (média $\pm$ EP). Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

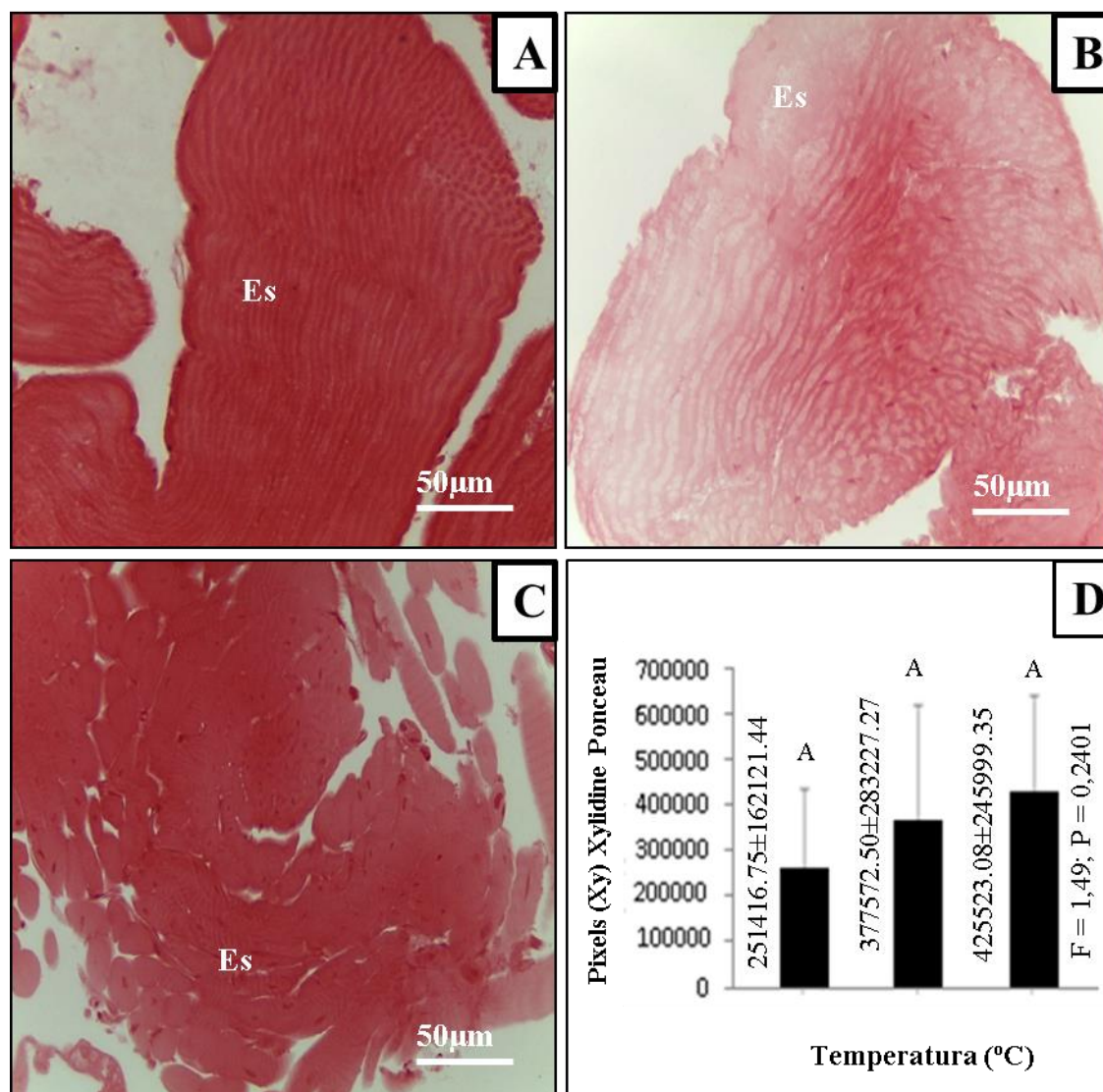


Figura 7. Histoquímica do testículo de adultos de *Tenuisvalvae notata* para quantificação de proteínas totais. Coloração Xylidine Ponceau. A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C respectivamente. Es, espermatozoides. D - Quantidade média de pixels (média ± EP). Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

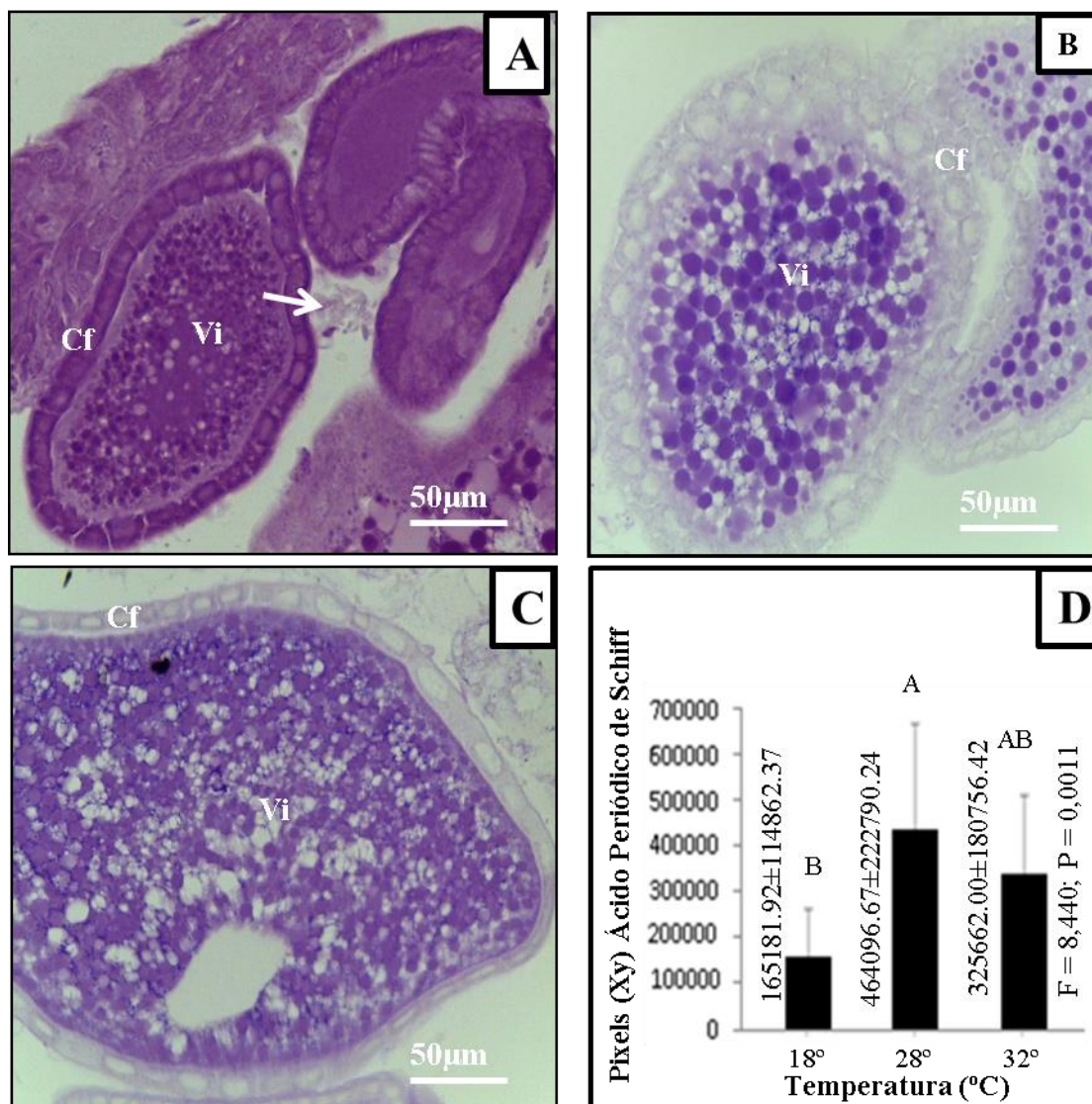


Figura 8. Histoquímica do ovário de adultos de *Tenuisvalvae notata* para quantificação de carboidratos neutros. Coloração Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.). A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C respectivamente. Vitelo (Vi); seta, bainha de tecido conjuntivo; Cf, células foliculares. D - Quantidade média de pixels (média ± EP). Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

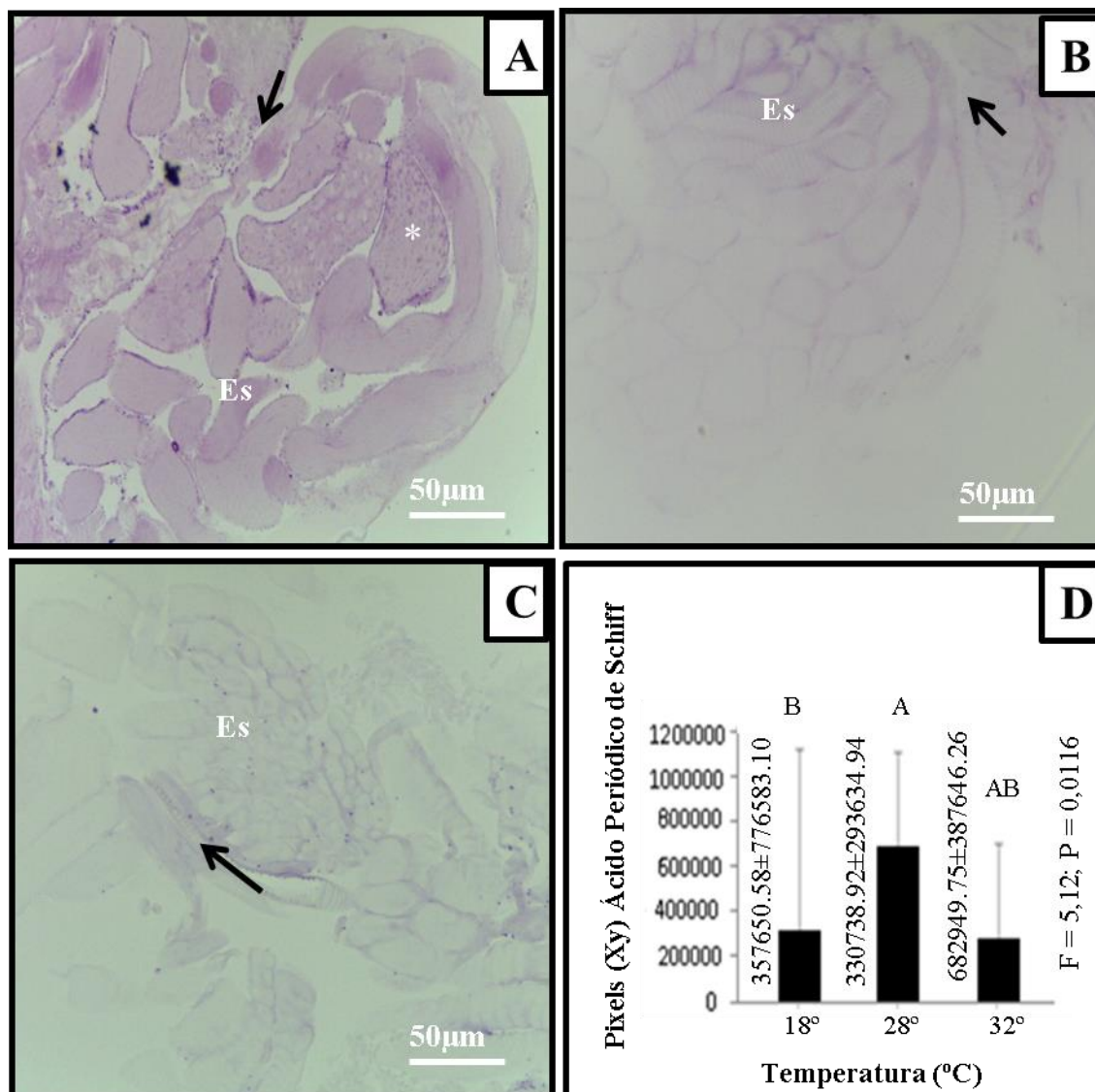


Figura 9. Histoquímica do testículo de adultos de *Tenuisvalvae notata* para quantificação de carboidratos neutros. Coloração Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.). A - tratamento controle 28°C, B e C – tratamento 18°C e 32°C respectivamente. Es, espermatozoides; Seta, cobertura peritoneal; Asterisco, cistos. D - Quantidade média de pixels (média ± EP). Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CAPÍTULO 4

Considerações finais

A temperatura, fora da faixa ótima, afeta negativamente a fertilidade e fecundidade de *T. notata*. Ao submeter essa espécie a temperaturas extremas foi visto que sua fisiologia é afetada, pois houve realocação de recursos nutricionais que são essenciais para processos da taxa reprodutiva e amadurecimento das gônadas masculinas. O estudo trouxe respostas sobre a realocação dos recursos e sobre o amadurecimento dos testículos. Foi visto que o *fitness* diminuiu e consequentemente a quantidade de indivíduos adultos.

A temperatura pode estar causando danos no intestino médio, que pode dificultar a absorção nutricional, ocasionando, consequentemente, redução de proteínas e carboidratos, nas gônadas. Assim, experimentos bioquímicos com o intestino médio, que quantifiquem possíveis alterações nutricionais, são indicados. Embora, é de conhecimento que insetos submetidos a temperaturas baixas consomem menos alimentos o que pode estar causando a redução da reserva energética.

Concluimos que a mudança de temperatura é capaz de alterar a condição bioquímica e histológica dos adultos de *T. notata*, principalmente machos, resultando em mudanças no sistema reprodutivo. Portanto pode causar falha reprodutiva.