

COMPORTAMENTO SEXUAL E SEMIOQUÍMICOS DE *Tenuisvalvae notata* (MULSANT)

(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

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

RESUMO

A reprodução de joaninhas no local da liberação tem papel fundamental na sua dinâmica populacional, bem como de suas presas. A joaninha *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) apresenta múltiplas cópulas e depositam seus ovos espaçados. Investigou-se o comportamento sexual desta com ênfase na maturidade sexual, horário, duração e frequência de cópula ao longo do dia, e também os eventos envolvidos na cópula. Investigou-se a liberação de semioquímicos por *T. notata* e seu efeito no comportamento dos adultos. Resultados mostram que *T. notata* só acasala durante o dia, com maior frequência das 10h da manhã até às 16h da tarde. O macho precisa de 4 dias em média para alcançar a maturidade sexual, enquanto a fêmea esta apta a copular logo após emergência. O número médio de cópulas por dia variou de 1,17 a 1,91, com duração média de 84 segundos por cópula. O comportamento sexual de *T. notata* resume-se a: macho sobe na fêmea, insere o edeago, toca em seu dorso com os palpos e mandíbulas e tenta apreende-la com as pernas; a fêmea pode caminhar enquanto acasala, o macho retira o edeago e gira sobre a fêmea, por fim o macho desce e ambos se afastam. Essas informações comportamentais dão suporte para estudos subsequentes de criação massal desta joaninha predadora.

PALAVRAS-CHAVE: Reprodução, atração, controle biológico, predador.

SEXUAL BEHAVIOR AND SEMIOCHEMICALS BY *Tenuisvalvae notata* (MULSANT)

(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

(Under the Direction of Professora Christian Sherley Araújo da Silva Torres - UFRPE)

ABSTRACT

The reproduction of lady beetles in release sites has a fundamental role in its population dynamic as well as in its preys. The lady beetle *Tenuisvalvae notata* (Mulsant), which adults can mate multiple times and lay eggs sparsely. Thus, we investigated the sexual behavior of *T. notata*, emphasizing sexual maturity, time, duration and mating frequency along the day, as well as the steps involved in mating behavior. We investigated the semiochemicals released by *T. notata* and they effect on adult behavior. Results show that *T. notata* only mates during the day, with higher frequency from 11 am to 4 pm. Males need an average of 4 days to mature sexually and mate, whereas females can mate right after emergency. The mean number of mates per day varied from 1.17 to 1.91, each mate lasting an average of 84 seconds. The sexual behavior of *T. notata* was reduced to: the male mounts the females, inserts the edeagus, touch her back with palps and mandibles and tries to hold her with its legs; the female can walk while mating, the male retracts the edeagus and spin on her back, finally he climbs down from her back and they separate. This behavioral information supports subsequent studies concerning mass rearing of this predatory ladybug.

KEY WORDS: Reproduction, attraction, biological control, predator.

COMPORTAMENTO SEXUAL E SEMIOQUÍMICOS DE *Tenuisvalvae notata* (MULSANT)

(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

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

RECIFE - PE

Fevereiro - 2016

COMPORTAMENTO SEXUAL E SEMIOQUÍMICOS DE *Tenuisvalvae notata* (MULSANT)

(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

Comitê de Orientação:

Christian Sherley Araújo da Silva Torres - UFRPE

Maria Carolina Blassioli Moraes - EMBRAPA

Wendel José Teles Pontes - UFPE

COMPORTAMENTO SEXUAL E SEMIOQUÍMICOS DE *Tenuisvalvae notata* (MULSANT)

(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

Orientador: _____
Christian Sherley Araújo da Silva Torres - UFRPE

Examinadores: _____
Maria Carolina Blassioli Moraes - EMBRAPA

Wendel José Teles Pontes - UFPE

DEDICATÓRIA

A Deus, por Seu infinito amor e cuidado comigo, tornando real mais uma promessa em minha vida. E aos meus pais, Josué Francisco dos Santos e Cleonice Pereira de Albuquerque do Nascimento, que me ensinaram como mestres, a amar e respeitar o próximo, fazendo de mim quem hoje sou.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, por sempre terem iluminado os meus caminhos e guiado os meus passos, sendo a minha força, auxílio e amparo. És o meu alicerce e refúgio Senhor.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola pela realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida e pelo suporte para a realização deste trabalho.

Aos meus pais que acreditaram em mim e me ajudaram durante todo tempo. Por terem me apoiado e motivado, sem medirem esforços nem desanimarem diante dos obstáculos. Amo eternamente vocês!

Aos meus irmãos Edjane, Elizângela, Eduardo e Elinaldo, e meus sobrinhos Gaby e Deivid que sempre estiveram comigo, me motivando e amando. Vocês são meus maiores tesouros!

A todos os familiares e amigos que torceram por mim e sonharam comigo. Muito obrigada!

Aos meus orientadores Christian Sherley Araújo da Silva Torres e Wendel José Teles Pontes pelos ensinamentos, paciência, amizade, prestatividade, e pelos exemplos de dedicação e profissionalismo. Serei sempre muito grata!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE pelos conhecimentos transmitidos. Em especial ao Prof^o Jorge Braz Torres por toda ajuda durante todo o curso, elaboração dos experimentos e conhecimentos transmitidos.

A Pesquisadora, Maria Carolina Blassioli Moraes (Embrapa/ Cenargen- DF), pela paciência, prestatividade, confiança, dedicação e todo conhecimento que me passou de maneira tão solícita. Muito obrigada, você é um dos exemplos mais fortes que já tive de profissionalismo e dedicação.

A equipe de Pesquisadores da Embrapa/Cenargen: Miguel Borges e Raúl Lauman, pela amizade e pelo apoio durante a execução do trabalho.

Aos funcionários do PPGEA, Darcy, Romildo, Marcelo, Wânia e o “Irmão” pela dedicação nos serviços prestados.

Aos amigos do laboratório de Semioquímicos da Embrapa/Cenargen: Mirian, Diego Magalhães, Michele, Marla, Pedro, Dolores, Aline, Samuel, Vivi, Paula, Márcio, Lucas e Diego Júnior. Foi maravilhoso conhecê-los e conviver com vocês, obrigada por toda ajuda, experiências trocadas e alegrias vividas. Vocês são inesquecíveis pra mim.

As amigas Carla e Marla por me receberem de coração em Brasília. Foi maravilhoso dividir apartamento com vocês. Saudades!

Aos amigos dos laboratórios de Controle Biológico, Acarologia e Comportamento de Insetos, Paulo, Guilherme, Aline, Amanda, Rossana, Lucas, Luziane, Eduardo, Felipe, Rogério, Priscila, Rebeca, Vaneska, Wagner, Débora, Gigi, Aleuni, Vanessa e Kelly pela companhia durante todo o curso e em especial a Guilherme, Paulo, Wagner, Aline e Débora, pelo companheirismo, auxílio na condução dos experimentos e todos conhecimentos que me passaram.

Aos demais amigos do PPGEA, Paulo Duarte, Almeida, Cleane, Mayara, Hilton e Ingrid, por todos os momentos de descontração e amizade. Vocês são feras!

Aos amigos desde a época da graduação dos quais não me esqueço, Péricles, Jocelane, Juliet, Hidelblande, Prof^a Izabel e Drielle.

Aos amigos Dr^a Deise, Demócrito, Vanda e Dr Rodrigo, do Instituto Agronômico de Pernambuco- IPA, que sempre estiveram comigo. Os levarei sempre em meu coração.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada! Vocês sobem comigo mais esse degrau. Pois o mais importante da vida são aqueles que vão conosco.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
Inimigos naturais no controle biológicos	1
Coccinelídeos como agentes de controle biológico	2
Joaninha predadora <i>Tenuisvalvae notata</i>	5
Comportamento sexual de Coccinellidae	6
LITERATURA CITADA.....	8
2 COMPORTAMENTO SEXUAL DA JOANINHA PREDADORA <i>Tenuisvalvae notata</i> (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO.....	26
LITERATURA CITADA.....	30
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Inimigos naturais no controle biológico

O controle biológico é um dos componentes bases do manejo integrado de pragas, fundamentando-se no princípio da autorregulação dos agroecossistemas, por intermédio da maximização dos benefícios trazidos pela interação entre inimigos naturais e pragas. (Rabb *et al.*, 1976; Barbosa, 1998; Aguiar-Menezes, 2003; Altieri *et al.*, 2003; Altieri & Nicholls, 2007; Venzon *et al.*, 2005; Aguiar-Menezes, 2006). Utiliza-se de parasitóides, predadores e entomopatógenos para manter o equilíbrio populacional de pragas. Sendo classificado como controle biológico natural, clássico ou aplicado, de acordo com o procedimento adotado na sua implementação que correspondem, respectivamente, à conservação, introdução ou multiplicação de inimigos naturais (Ann 2004).

Para uso no controle biológico é necessário o reconhecimento dos inimigos naturais da praga que habitam a cultura, com o objetivo de preservá-los e favorecer a sua multiplicação na área. A conservação de inimigos naturais envolve modificações no ambiente para beneficiá-los ou minimizar o impacto sobre eles (De Bach & Rosen 1991). Esse benefício pode se dar por redução no uso de inseticidas, utilizando fontes de alimentos não presa tais como pólen e néctar, ou ainda modificando práticas culturais que incluem a manutenção de áreas de refúgio e o plantio consorciado (Barbosa 1998, Obrycki & Kring 1998).

A introdução de qualquer inimigo natural em determinado ambiente requer a adoção de medidas quarentenárias para gerar informações relacionadas à sua especificidade alimentar,

capacidade de colonização e dispersão e os efeitos desses inimigos naturais exóticos sobre populações nativas de organismos alvo e não alvo (Obrycki & Kring 1998).

O controle biológico aplicado, que consiste na multiplicação de inimigos naturais nativos ou exóticos para posteriores liberações periódicas e inundativas, tem sido realizado há mais de 90 anos com mais de 150 espécies de inimigos naturais disponíveis para controle de pelo menos 100 espécies de pragas (van Lenteren 2003).

Diversos inimigos naturais já foram estudados em espécies de cochonilhas farinhentas, sendo empregados como agentes de controle biológico. Segundo, Barlet (1939), que constatou que a cochonilha *Dismicocus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera; Pseudococcidae) era parasitada por *Anagyrus coccidivorus* Dozier (Hymenoptera; Encyrtidae) e *Hambletonia pseudococcina* Compere, 1936 (Hymenoptera; Encyrtidae). Assim como, MENESES (1973), constatou que a cochonilha *D. brevipes* é parasitada por *Anagyrus sp.* (Hymenoptera; Encyrtidae) e *Baeoplatycerus viriosus* De Santis. O autor faz ainda referência a esta praga como sendo predada por larvas de *Pseudiastata brasiliensis* Lima, 1937 (Diptera; Drosophilidae) e larvas e adultos de *Cryptolaemus montrouzieri*, Mulsant.

Coccinelídeos como agentes de controle biológico

Dentre os inimigos naturais, os predadores são considerados a primeira linha de defesa das plantas contra insetos fitófagos (Whitcomb 1981). Nesse grupo destaca-se a família Coccinellidae, que compreende os insetos popularmente conhecidos como joaninhas, cuja grande maioria apresenta hábito predador e são amplamente empregadas no controle biológico de pragas como pulgões, moscas-brancas, psilídeos, tripses, ácaros e cochonilhas (Hodek & Honek 2009, Obrycki *et al.* 2009). Acredita-se que originalmente as joaninhas predadoras se alimentavam da fumagina que cresce sobre as deposições de *honeydew* excretado por diversos Sternorrhyncha e que a

transição para o hábito predatório decorreu desta interação (Leschen 2000). Essa hipótese constitui interessante explicação para o fato de os Sternorrhyncha constituírem praticamente a totalidade das presas consumidas pelas joaninhas. As cochonilhas, por exemplo, são consideradas como alimento essencial para cerca de 36% das espécies de Coccinellidae nas regiões Tropicais e Subtropicais, enquanto que aproximadamente 20% predam preferencialmente pulgões (Hodek & Honek 2009).

Historicamente, o primeiro caso de sucesso de controle biológico aplicado no mundo sucedeu-se com a introdução na Califórnia, EUA, de uma joaninha, a *Rodolia cardinalis* (Mulsant). Ela foi trazida da Austrália em 1888 para o controle da cochonilha *Icerya purchasi* (Maskell), conhecida como o pulgão-branco-dos-citros. Este caso foi concluído, de maneira efetiva, dois anos após a liberação da *R. cardinalis*, sendo considerado até hoje um marco na história do controle biológico clássico no mundo (Van den Bosch *et al.* 1982, Caltagirone & Doutt 1989, Parra *et al.* 2002). A partir daí, outras espécies de joaninhas têm sido subsequentemente aclimatadas, num esforço de controlar insetos-praga introduzidos em novas áreas (Obrycki & Kring 1998, Ipertí 1999). No Brasil, por exemplo, cita-se o caso da joaninha *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, que foi importada do Chile para o controle de *Planococcus citri* Risso, conhecida como cochonilha branca dos citros (Gravena 2008).

De acordo com Hodek (1973), Hagen (1962, 1976) e Obrycki & Kring (1998), por apresentarem grande capacidade de busca, elevado potencial biótico, polifagia, serem predadores nas fases larval e adulta, ocuparem uma variedade de ambientes e possuírem alta voracidade os coccinélídeos são caracterizados como eficientes predadores de pulgões, cochonilhas, psilídeos, ácaros fitófagos, ovos de lepidópteros, lagartas neonatas e ovos de coleópteros, tendo sido utilizados no controle biológico de insetos-pragas em diversos cultivos.

As joaninhas coccidófagas são pouco estudadas (Lundgren 2009), no entanto, muitas delas têm sido empregadas com sucesso em programas de controle biológico clássico, provavelmente devido à sua voracidade e especificidade em determinados grupos ou mesmo espécies de cochonilhas. O marco inicial desse sucesso se deu com a introdução de *Rodolia cardinalis* (Mulsant) na Califórnia em 1888 para controlar a cochonilha *Icerya purchasi* Maskell em pomares de citrus (De Bach & Schlinger 1964, Caltagirone & Doult 1989). Outro exemplo ocorreu na província de Dhofar, região sul de Oman, onde a cochonilha do coqueiro *Aspidiotus destructor* Signoret foi controlada com sucesso em apenas 24 meses após a liberação de 683 adultos de *Chilocorus nigritus* (Fabricius) (Kinawy 1991). No estado de Michigan, as joaninhas *Chilocorus stigma* (Say) e *Microweisea misella* (Le Conte) reduziram em média 70% a população de cochonilhas do pinheiro de natal, *Chionaspis pinifoliae* (Fitch) e *Chionaspis heterophyllae* Cooley (Fondren & McCullough 2005).

Entre os predadores de cochonilhas farinhentas, destaca-se a joaninha *C. montrouzieri*, esta é uma espécie nativa da Austrália e tem sido empregada em várias partes do mundo (Mani & Krishnamoorthy 2012). Esta espécie foi eficiente no controle de *F. virgata* em plantas ornamentais no Egito (Attia *et al.* 2007) e, também, no controle de *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) na Índia (Mani & Krishnamoorthy 2008). A joaninha *Scymnus syriacus* Marseul (Coleoptera: Coccinellidae) também obteve resultados satisfatórios na redução de *F. virgata*, até mesmo quando associado com os parasitóides *Blepyrus insularis* Cameron e *Leptomastidae abnormis* Girault (Hymenoptera: Encyrtidae) em amoreira no Egito (Attia & Angel 2006).

Joaninha predadora *Tenuisvalvae notata*

Esta espécie de joaninha é nativa da América do Sul (Dreyer *et al.* 1997). Tendo sido introduzida na África na década de 1980 para, junto ao parasitóide *Apoanagyrus lopezi* (DeSantis), controlar a cochonilha da mandioca, *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Herren & Neuenschwabder 1991; Chakupurakal *et al.* 1994). Nos planaltos colombianos *T. notata* preda preferencialmente *Phenacoccus herreni* Cox & Williams, enquanto no sul do Brasil e Paraguai ela tem como presa preferencial *P. manihoti* (Loehr *et al.* 1990, Sullivan *et al.* 1991). Adultos de *T. notata* têm sido encontrados no Semiárido de Pernambuco sobre plantas de algodão infestadas com as cochonilhas *F. dasyrillii* e *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). Estudos recentes mostram que uma fêmea adulta desta joaninha consome, em média, 157,9 ninfas neonatas, ou 3,6 ninfas de terceiro instar ou ainda 2,2 fêmeas de *F. dasyrillii* por dia (Barbosa *et al.* 2014), mostrando-se como potencial controle desta cochonilha.

T. notata apresenta 5,8 dias em período embrionário e cerca de 30 dias de larva a adulto, onde possui uma longevidade de mais de 450 dias (Barbosa *et al.* 2014). Além de apresentar longa fase adulta, tem preferência alimentar por cochonilhas farinhentas (Pseudococcidae) atuando de maneira específica no controle desta praga. Assim, uma vez estabelecidos em campo e com disponibilidade de presa esta joaninha poderá contribuir para a manutenção de populações de cochonilhas farinhentas abaixo do nível de dano econômico. Outro aspecto importante desta espécie é que pode ser facilmente multiplicada em laboratório, o que viabiliza os estudos biológicos e comportamentais, além da produção de massal desta espécie para liberação.

Tratando-se da liberação de joaninhas em áreas alvo para controle de pragas, uma das dificuldades encontradas refere-se à possível dispersão destas da área, fato que levaria a perda do investimento na sua produção e fracasso no controle da praga alvo. Uma alternativa para sanar esta problemática seria a utilização de suplemento alimentar, tal como pulverizações de *honeydew*,

recomendadas para joaninhas e crisopídeos predadores em campos de algodão (Evans & Richards 1997), além da seleção de populações de predadores com características comportamentais específicas, tal como para a joaninha *Harmonia axyridis* (Pallas) com baixo interesse em voo com o intuito de favorecer a permanência destes insetos na área alvo (Tourniaire *et al.* 2000). Ou ainda, a utilização de semioquímicos para a manipulação comportamental de joaninhas, que é uma prática bastante viável e vem sendo utilizada para espécies de percevejos e crisopídeos predadores para atração e manutenção destes insetos na área onde se deseja efetuar o controle biológico (Chauhan *et al.* 2007, Rodriguez-Saona *et al.* 2012).

Comportamento sexual de Coccinellidae

Reprodução refere-se a um dos mais relevantes aspectos da vida de um organismo. Apesar disso, o estudo da reprodução de joaninhas com aplicabilidade como agente de controle biológico tem sido bastante ignorado (Hodek & Ceryngier 2000). Os esforços envolvidos e os recursos gastos na produção da progênie são diretamente relacionados ao destino de um organismo, que em longo prazo levam a processos de evolução e extinção. No entanto, fatores como predação e efeito de parâmetros abióticos e bióticos, têm recebido muita atenção, devido à sua relevância direta para o sucesso do controle biológico. Existe assim, uma necessidade de ampliar os estudos sobre a biologia reprodutiva de joaninhas, particularmente os parâmetros relativos ao comportamento sexual e reprodutivo, que incluem o reconhecimento imediato do parceiro sexual, corte, cópula, terminação, e preferência para oviposição. Algumas espécies de joaninhas já tiveram alguns de seus aspectos reprodutivos bastante estudados, como a joaninha *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae) espécie oriental comumente encontrada em Lucknow, Índia (Agarwala e Yasuda, 2000; Omkar e Pervez, 2002) que foi avaliada segundo seus aspectos comportamentais de acasalamento e transferência de esperma propriamente dita (Obata & Johki

1991), e estudos recentes sobre sua reprodução tem discutido o papel do envelhecimento na reprodução da mesma (Dixon & Agarwala 2002). Em contrapartida, pouco se conhece sobre os aspectos reprodutivos de *T. notata*, sendo essas informações essenciais para melhorar seu desempenho reprodutivo e estimular a sua permanência em áreas infestadas por cochonilhas farinhentas.

A função primária do acasalamento é a transferência de esperma para as fêmeas (Arnqvist & Nilsson 2000) e na maioria dos organismos o sistema de acasalamento é monogâmico ou poliândrico, sendo a poligamia o sistema de acasalamento prevalente em Coccinellidae (Arnqvist & Nilsson 2000, Omkar *et al.* 2010). Muitos estudos tem sido realizados comparando a aptidão de machos e fêmeas poliândricos com a de machos e fêmeas acasalados isoladamente (Thornhill & Alcock, 1983, Torres & Zanuncio 2001, Omkar 2012, Bayoumy & Michaud 2014). Os benefícios de múltiplas cópulas têm sido apresentados baseados principalmente no ganho de material genético e no ganho em material nutricional. O ganho em material genético ocorre através da manipulação da paternidade dos descendentes, aumentando a diversidade entre progênies e diminuindo a incompatibilidade de genótipos (Michaud *et al.* 2013).

Em outros estudos que tratam da poligamia em coccinellidae, verificou-se que fêmeas podem escolher parceiros que trazem maiores benefícios para o seu desempenho como proporcionar aumento da taxa reprodutiva da fêmea, longevidade e fecundidade (Berrigan & Locke 1991, Parker & Simmons 1994). A maioria dos estudos referentes à atividade sexual de joaninhas foram realizados com *Adalia bipunctata* (Linnaeus), com ênfase na escolha do parceiro sexual (Muggleton 1979, Majerus *et al.* 1982, Kearns *et al.* 1992, Tomlinson 1996), ou aqueles relacionados a poligamia um fato bastante comum entre as espécies de coccinélídeos (Arnqvist & Nilsson 2000, Omkar *et al.* 2010, Colares *et al.* 2015, Michaud *et al.* 2013).

Por tudo isto, a determinação do comportamento sexual de *T. notata* facilitará a manipulação da sua reprodução o que viabilizará a sua produção massal, bem como facilitará a identificação de possíveis semioquímicos envolvidos na atração sexual que possam ser futuramente testados para uso em campo com o intuito de atração e agregação de adultos de *T. notata* nas áreas alvo. Sendo assim, no presente estudo, os experimentos foram realizados para investigar certos aspectos do comportamento reprodutivo de *T. notata*, verificando assim sua maturidade sexual, comportamentos de pré-acasalamento, acasalamento e pós-acasalamento, assim como reconhecimento do companheiro (pistas envolvidas).

Literatura Citada

- Agarwala, B.K. & H. Yasuda. 2000.** Competitive ability of ladybird predators of aphids: A review of *Cheilomenes sexmaculata* (Fabr.) (Coleoptera: Coccinellidae) with a worldwide checklist of preys. *J. Aphidol.* 14: 1-20.
- Aheer, G.M., Z. Shah & M. Saeed. 2009.** Seasonal history and biology of cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley. *J. Agric. Res.* 47: 423-431.
- Arnqvist, G. & T. Nilsson. 2000.** The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Anim. Behav.* 60: 145-164.
- Attia, R.A. & S.A. El-Arnouty. 2007.** Use of the coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant against the striped mealybug, *Ferrisia virgata* (Ckll.) on the Ornamental Plant, *Agalypha macrophylla* in Egypt. *Egypt J. Biol. Pest Control* 17: 71-76.
- Barbosa, P.R.R., M.D. Oliveira, J.A. Giorgi, C.S.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2014.** Predatory behavior and life history of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae) under variable prey availability conditions. *Fl. Entomol.* 97: 1026-1034.
- Barlet, K.A. 1939.** Introduction and colonization of two parasites of the pineapple mealy bug. *J. Agric.* 23: 67-72.
- Bayoumy, M.H. & J.P. Michaud. 2014.** Female fertility in *Hippodamia convergens*. *Bull. Entomol. Res.* 103: 570-577.
- Chakupurakal, J., R.H. Markham, P. Neuenschwander, M. Sakala, C. Malambo, D. Mulwanda, E. Banda, A. Chalabesa, T. Bird & T. Haug. 1994.** Biological control of the

- cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae), in Zambia. Biol. Control 4: 254-262.
- Culik, M.P., D.S Martins & P.J. Gullan. 2006.** First records of two mealybug species in Brazil and new potential pests of papaya and coffee. J. Insect Sci. 6(23): 1-6.
- De Bach, P. 1964.** Biological control of insect pests and weeds. New York, Reinhold, 844p.
- Dixon, A.F.G. & B.K. Agarwala. 2002.** Triangular fecundity function and ageing in ladybird beetles. Ecol. Entomol. 27, 433-440.
- Dreyer, B.S., P. Neuenschwander, J. Baumgärtner & S. Dorn. 1997.** Trophic influences on survival, development and reproduction of *Hyperaspis notata* (Col., Coccinellidae). J. Appl. Entomol. 121: 249-256.
- Evans, E.W. & D.R. Richards. 1997.** Managing the dispersal of ladybird beetles (Col.: Coccinellidae): use of artificial honeydew to manipulate spatial distributions. Entomophaga 42: 93-102.
- Gravena, S. 2003.** Manejo ecológico da cochonilha-branca dos citros, com ênfase no controle biológico pela joaninha *Cryptolaemus montrouzieri*. Laranja 24: 71–82.
- Guerreiro, J.C., R.A. Silva, A.C. Busoli & E. Berti Filho. 2002.** Coccinelídeos predadores que ocorrem no estágio inicial da cultura do algodoeiro em Jaboticabal, SP, Brasil. Rev. Agric. 77: 161–168.
- Gullan, P.J. & M.B. Kaydan. 2012.** A taxonomic revision of the mealybug genus *Ferrisia* Fullaway (Hemiptera: Pseudococcidae) with descriptions of eight new species and a new genus. Zootaxa 3543: 1-65.
- Gullan, P.J.; P. S. Cranston. 2008.** Os insetos: um resumo de entomologia. 3ª ed. São Paulo, Roca, 440p.
- Gyeltshen, J. & A. Hodges. 2006.** Field key to identification of scale insects on holly (*Llex* spp.). University of Florida, IFAS Extension, 7p.
- Hardy, N.B., P.J. Gullan & C.J. Hodgson. 2008.** A subfamily level classification of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) based on integrated molecular and morphological data. Syst. Entomol. 33: 51-71.
- Herren, H.R. & P. Neuenschawander. 1991.** Biological control of cassava pests in Africa. Annu. Rev. Entomol. 36: 257-283.
- Highland, H.A. 1956.** The biology of *Ferrisiana virgata*, a pest of azaléias. J. Econ. Entomol. 49: 276-277.

- Hodek, I. & P. Ceryngier. 2000.** Sexual activity in Coccinellidae (Coleoptera): A review. *Eur. J. Entomol.* 97: 449-456.
- Jahn, G.C., J.W. Beardsley & H. González-Hernández. 2003.** A review of the association of ants with mealybug wilt disease of pineapple. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 36: 9-28.
- Jervis, M.A., C.L. Boggs, P.N. Ferns. 2005.** Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. *Ecol. Entomol.* 30: 359-375
- Knoke, J.K., R. Louie, R.J. Anderson & D.T. Gordon. 1974.** Distribution of maize dwarf mosaic and aphid vectors in Ohio. *Phytopathology* 64: 639-645.
- Lloyd, D.C. 1952.** Parthenogenesis in the mealybug, *Phenacoccus solani* Ferris. *Can. Entomol.* 84: 308-310.
- Loehr, B., A.M. Varela & B. Santos. 1990.** Explorations for natural enemies of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae), in South America for the biological control of this pest introduced in Africa. *Bull. Entomol. Res.* 80: 417-425.
- Malleshaiah, B., K. Rajagopal & K.N.M. Gowda. 2000.** Biology of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). *Crop Res.* 20: 130-133.
- Mani, M. & A. Krishnamoorthy. 2008.** Biological suppression of the mealybugs *Planococcus citri* (Risso), *Ferrisia virgata* (Cockerell) and *Nipaecoccus viridis* (Newstead) on pummel with *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant in India. *J. Biol. Control* 22: 169-172.
- Mani, M. & A. Krishnamoorthy. 2012.** Determination of release time of the Australian ladybird beetle, *Cryptolaemus montrouzieri* for the suppression of the Pink hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) on grapes. *Pest Manag. Hortic. Ecosys.* 18: 98-99.
- McKenzie, H.L. 1967.** Mealybugs of California with Taxonomy, Biology, and Control of North American Species (Homoptera: Cooccoidea: Pseudococcidae). Berkeley, Univ. Calif. Press, 526p.
- Michaud, J.P., M. Bista, G. Mishra & O. Singh. 2013.** Sexual activity diminishes male virility in two *Coccinella* species: Consequences for female fertility and progeny development. Cambridge University Press. *Bull. Entomol. Res.* 103: 570-577.
- Miller, D.R. Ben-Dov & G. Gibson. 2012.** ScaleNet, Pseudococcidae catalogue. Disponível em <<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>>. Acesso em 17/09/2015.
- Miller, D.R., G.L. Miller & G.W. Watson. 2002.** Invasive species of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) and their threat to U.S. agriculture. *Proc. Entomol Soc. Wash.* 104: 825-836.
- Nagrare, V.S., S. Kranthi, R. Kumar, B. Dhara Jothi, M. Amutha, A.J. Deshmukh, K.D. Bisane & K.R. Kranthi. 2011.** Compendium of cotton mealybugs. Central Institute for Cotton

Reserarch. Disponível em <[http://www.cicr.org.in/pdf/compendium of cotton mealybugs.pdf](http://www.cicr.org.in/pdf/compendium_of_cotton_mealybugs.pdf)>. Acesso em 14/08/2015.

- Obata, S. & Y. Johki. 1991.** Comparative study on copulatory behaviour in four species of aphidophagous ladybird beetles, p. 207–212. In L. Polgar (ed.), Behaviour and impact of aphidophaga. The Hague, The Netherlands, SPB Academic Publishing BV, 198p.
- Oliveira, M.D. 2013.** Interações cochonilha-de-listra *Ferrisia virgata* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) e algodão. Tese de doutorado, UFRPE, Recife, 103p.
- Oliveira, M.D., P.R.R. Barbosa, C.S.A. Silva-torres, J.B. Torres. 2014a.** Performance of the Striped Mealybug *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae) under Variable Conditions of Temperature and Mating. Neotrop. Entomol. 43: 1-8.
- Oliveira, M.D., C.S.A. Silva-Torres, J.B. Torres, J.E.M. Oliveira. 2014b.** Population growth and within-plant distribution of the striped mealybug *Ferrisia virgata* (Cockerell) (Hemiptera, Pseudococcidae) on cotton. Rev. Bras. Entomol. 58: 71-76.
- Oliveira, M.D., P.R.R. Barbosa, C.S.A. Silva-Torres, R.R. Silva, E.M. Barros, J.B. Torres. 2014c.** Reproductive performance of striped mealybug *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae) on water-stressed cotton plants subjected to nitrogen fertilization. Arthrop. Pl. Interac. 8: 461-468.
- Omkar, S.K. & A. Pervez. 2002.** Predaceous coccinellids in India: Predator-prey catalogue. Orient. Insects 38: 27-61.
- Omkar, S.K. 2012.** Costs and benefits of reproduction in a predaceous ladybird: Effect of multiple matings on reproduction and offspring development. J. Asia-Pac. Entomol. 15: 219-224.
- Omkar, S.K. Singh, & G. Mishra. 2010.** Multiple matings affect the reproductive performance of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). Eur. J. Entomol. 2: 177-182.
- Padi, B. 1997.** Parthenogenesis in mealybugs occurring in cocoa, p. 242-248. In G.K. Owusu, B. Padi, L.A.A. Ollennu & E. Owusu Manu (eds.), Proceedings of the First International Cocoa Pests and Diseases Seminar. Accra, Ghana, 312p.
- Portilla, A.A.R. & F.J.S. Cardona. 2004.** Coccoidea de Colômbia, com ênfasis em lãs cochonilhas harinosas (Hemiptera: Pseudococcidae). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 57: 25p.
- Rawat, R.R. & B.N. Modi. 1968.** Studies on biology of *Ferrisia virgata* Ckll. (Pseudococcidae: Homoptera) in Madhya Pradesh. Indian J. Agric. Sci. 6: 274-281.
- Santa-cecília, L.V.C., B. Souza, J.C. Souza, E. Prado, A. Moino Junior, M.J. Fornazier & G.A. Carvalho. 2007.** Cochonilhas-farinhas em cafeeiros: bioecologia, danos e métodos de controle. Belo Horizonte: CTSM-Epamig, 40p. (Boletim técnico, 79).

- Santos, O.D., V.H.P. Bueno & E. Berti Filho. 1990.** Coccinelídeos predadores que ocorrem em diversas culturas na região de Lavras, MG. *Rev. Agric.* 65: 233-238.
- Silva-Torres, C.S.A, M.D. Oliveira, J.B. Torres. 2013.** Host selection and establishment of striped mealybug, *Ferrisia virgata*, on cotton cultivars. *Phytoparasitica* 41: 31-40.
- Sousa, A.L.V., B. Souza, L.V.C. Santa-Cecília, F.R. Nascimento, L.R.B. Correa & E.C. Pedroso. 2007.** Desenvolvimento da fase ninfal da cochonilha *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) cv. Catuaí Amarelo. In V Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, Águas de Lindóia, 3p.
- Sullivan, D.J., J.A. Castillo & A.C. Bellotti. 1991.** Comparative biology of six species of coccinellid beetles (Coleoptera: Coccinellidae) predaceous on the mealybug, *Phenacoccus herreni* (Homoptera: Pseudococcidae), a pest on cassava in Colombia, South America. *Environ. Entomol.* 20: 685-689.
- Torres, J.B. & J.C. Zanuncio. 2001.** Effects of sequential mating by males on reproductive output of the stinkbug predator, *Podisus nigrispinus*. *Biol. Control* 46: 469-480.
- Tourniaire, R., A. Ferran, L. Giuge, C. Piotte & J. Gambier. 2000.** A natural flightless mutation in the ladybird, *Harmonia axyridis*. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 33-38.
- Waterworth, R.A. & J.G. Millar. 2012.** Reproductive biology of *Pseudococcus maritimus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Hortic. Entomol.* 5: 949-956.
- Whitcomb, W.H. 1981.** The use of predators in insect control, p. 105-123. In D. Pimentel (ed.), *CRC Handbook of pest management in agriculture*. V.1, Boca Raton, CRC Press, 754p.

CAPÍTULO 2

COMPORTAMENTO SEXUAL DA JOANINHA PREDADORA *Tenuisvalvae notata* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

ELISABETE A. SANTOS¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil.

¹Santos, E.A. Comportamento sexual da joaninha predadora *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae). A ser submetido.

RESUMO - A joaninha predadora *Tenuisvalvae notata* foi encontrada no Semiárido Pernambucano (Brasil) sobre plantas infestadas com cochonilhas farinhentas (Pseudococcidae). Seu comportamento reprodutivo ainda não foi pesquisado, então este trabalho investigou o horário de acasalamento, maturidade sexual, número médio de cópulas em 24h, produção de descendentes por 30 dias e o repertório comportamental de acasalamento. Resultados mostram que *T. notata* só acasala durante o dia, que a maior frequência de acasalamentos ocorre a partir das 9h da manhã até às 16h da tarde, e que adultos passam a escotofase inativos. Em relação a maturidade sexual, 50% dos adultos mostraram-se aptos a copularem a partir de 4 dias de idade. O macho precisa de 4 dias em média para alcançar a maturidade sexual, e a fêmea é apta a copular no primeiro dia de emergência. Múltiplas cópulas podem ocorrer durante o dia e ao longo da vida adulta. O número médio de cópulas em 12h de fotofase variou de 1,17 a 1,91, com duração média de 84 segundos por cópula e média de 54-64 ovos por fêmea em 30 dias decorridos após a primeira cópula. O repertório comportamental de acasalamento de *T. notana* é composto pelos seguintes comportamentos: macho sobe na fêmea, insere o edeago, toca em seu dorso com os palpos e mandíbulas e apreende-a com as pernas simultaneamente, o macho retira o edeago e realiza giro sobre a fêmea.

PALAVRAS-CHAVE: Maturidade sexual, Pseudococcidae, acasalamento, controle biológico

SEXUAL BEHAVIOR OF THE PREDATORY LADY BEETLE *Tenuisvalvae notata*

(MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

ABSTRACT – The predatory lady beetle *Tenuisvalvae notata* feeds preferentially on mealybugs (Pseudococcidae) and it was found on infested plants in the Semiarid region of Pernambuco State, Brasil. Reproductive behavior has not yet been studied, so this work investigated the mating time, sexual maturity, average number of copulations in 24 hours, producing offspring for 30 days and the behavioral repertoire of mating. Results show that *T. notata* only mate during the day, the highest frequency of mating occurs from morning 9 am to 16 pm, and that adults are inactive in scotophase. About respect to sexual maturity, 50% of adults have able to copulate from 4 days old emergency. Males need an average of 4 days to mature sexually, whereas the females are ready to mate in the same day after emergency. Adults mate several times during the day and throughout life. When mating occurred, the number of mates during the 12h of photophase varied from 1.17 to 1.91, with mean duration of 84 seconds per mate. There was production of decedents with an average of 54-64 decedents per female along 30 days after first mate. The sexual behavior repertory of *T. notata* is composed by the following steps: the male climbs on the female, inserts the edeagus, touches the back of the female with palps and mandibles, and tries to hold her with its legs simultaneously; the female can walk while mating; the male retracts its edeagus and rotates on the back of the female.

KEY WORDS: Sexual maturity, Pseudococcidae, mating, biological control

Introdução

Estudos sobre comportamento reprodutivo de insetos são de extrema relevância para auxílio às interpretações biológicas e evolutivas das espécies envolvidas. Em joaninhas, que são potenciais agentes de controle biológico de numerosas espécies pragas, tais como moscas-brancas (Liu & Stansly 1996, Crowder 2006, Hodek & Honek 2009) pulgões (Vieira *et al.* 1997, Omkar 2005, Sabaghi *et al.* 2011) e cochonilhas (Franco *et al.* 2004, Giorgi *et al.* 2009, Ghafoor *et al.* 2011, Kaur & Virk 2012), estudos voltados ao comportamento sexual ainda são pouco abordados. Em particular, os estudos voltados a descrição do repertório comportamental envolvido na cópula (Obata & Johki 1991, Haddrill *et al.* 2007, Omkar & Singh 2010), quando comparados a estudos relacionados com ação predatória e os efeitos dos agentes bióticos e abióticos nos parâmetros de história de vida de joaninhas (Omkar & Pathak 2006, Pathak 2008, Omkar & Mishra 2005, Srivastava & Omkar 2005, Hodek & Honek 1996, Dixon 2000).

Um aspecto interessante no comportamento de joaninhas predadoras é a tendência de dispersão da área alvo após saciação, o que muitas vezes dificulta sua adoção no controle de pragas em campo, justamente por que os adultos poderão evadir-se do local onde foram liberados (Obrycki & Kring 1998, Berec *et al.* 2001, South & Kenward 2001), não se reproduzindo nestes locais e reduzindo sua ação no controle biológico.

Recentemente, a joaninha predadora *Tenuisvalvae notata* (Mulsant), foi citada como um potencial agente de controle de cochonilhas Pseudococcidae (Barbosa *et al.* 2014, Silva-Torres *et al.* 2012). Estas cochonilhas compõem um complexo de espécies praga que vem se tornando problema em vários agroecossistemas como citros, uva, mamão, algodão, café, tomate dentre outras (Jahn *et al.* 2003, Gravena 2003, Miller *et al.* 2012). Particularmente, a cochonilha-de-listras *Ferrisia dasyrillii* (=virgata) (Cockrell) (Torres *et al.* 2011, Silva-Torres *et al.* 2012, Oliveira 2013) uma praga que vem causando problemas sérios para a cultura do algodão no Brasil

e no mundo (Ben-Dov 2001, Final IRA 2004, Gullan & Kaydan 2012), mas que pode ser controlada pela ação de predadores tais como *T. notata* (Barbosa *et al.* 2014).

Tenuisvalvae notata (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) é uma joaninha predadora, natural da América do Sul (Dreyer *et al.* 1997), com sua distribuição ocorrendo desde os planaltos colombianos (onde tem como presa preferencial *Phenacoccus herreni* Cox & Williams) até ao sul do Brasil e Paraguai (predando preferencialmente *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero) (Loehr *et al.* 1990, Sullivan *et al.* 1991). Esta espécie foi recentemente observada no Semiárido de Pernambuco em plantas de algodão infestadas com a cochonilha do algodão, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley e a cochonilha de listra, *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae), e também em palma forrageira infestada com a falsa cochonilha do carmin, *Dactylopius opuntiae* Cockerell (Hemiptera: Dactylopiidae) (Barbosa *et al.* 2014). Apresenta comprimento variável entre 3 a 3,4 mm, coloração amarela com manchas pretas no pronoto e élitros, e notável dimorfismo sexual: as fêmeas geralmente são maiores que os machos, apresentando uma mancha preta em forma de triângulo sobre cada um dos olhos enquanto os machos na porção lateral do mesoesterno; a porção final do abdômem da fêmea é afunilada e nos machos arredondada. (Gordon & Canepari 2008). Entretanto, pouco se conhece sobre o comportamento sexual de *T. notata*, o que dificulta sua criação massal em laboratório, bem como a sua reprodução e permanência em áreas infestadas por cochonilhas.

Apresentam múltiplas cópulas durante a vida adulta, e isto pode ser um fator determinante no comportamento sexual desta espécie, pois uma fêmea copulada apenas uma vez poderá sofrer uma redução na produção de descendentes viáveis em relação àquelas que tiverem acesso a mais de uma cópula durante a vida adulta (Bayoumy & Michaud 2014). Poucos aspectos biológicos de *T. notata* já foram estudados, entre eles capacidade de predação; sobrevivência e oviposição quando submetida a diferentes intervalos de oferta de presa (Barbosa *et al.* 2014). Estas

completam todo seu ciclo em um período de aproximadamente 36 dias, considerando que o tempo de desenvolvimento embrionário é de 5.8 ± 0.1 dias, e o período de larva-adulto é em média 30 dias quando alimentadas com *F. virgata* (Barbosa *et al.* 2014).

Aspectos relativos à reprodução continuam inexplorados. Assim, este estudo teve por objetivo estudar como a idade e o fotoperíodo pode influenciar o seu acasalamento e reprodução. Para isso, foram investigados: (i) O período de maior atividade sexual de *T. notata*, determinando qual o horário de maior frequência de cópula entre os adultos; (ii) A influência da idade no início da atividade sexual; (iii) Qual o tempo médio de duração da cópula; e (iv) o repertório comportamental de corte e cópula de *T. notata*. Espera-se que a atividade sexual de *T. notata* ocorra durante o dia. E que os adultos necessitem de um período de maturação sexual para que passem a responder aos estímulos do sexo oposto. Em relação ao repertório comportamental e sua duração, pode-se esperar um comportamento simples com um tempo relativamente curto de duração de cópula, no entanto com múltiplas cópulas para assim assegurar a fertilidade dos ovos, como relatado para outras espécies de joaninhas (Omkar *et al.* 2006, Bind 2007, Mirhoseein 2014).

Material e Métodos

Presença. A cochonilha *F. dasyrillii* foi coletada em plantas de algodão na área experimental do Departamento de Agronomia da UFRPE ($8^{\circ}01'05''$ S, $34^{\circ}56'42''$ O), sendo multiplicada em laboratório sobre abóboras da variedade “Jacarezinho” adquiridas periodicamente no Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco (CEASA-PE) seguindo metodologia adaptada de Sanches & Carvalho (2010). Resumidamente, no laboratório as abóboras são lavadas e após secagem são dispostas em bandejas plásticas forradas com papel toalha, onde são infestadas na

região do pedúnculo com fêmeas da cochonilha ativamente reprodutivas. A criação é mantida em sala climatizada sob condições controladas de temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12:12h (Luz: Escuro)

Predador. Foram coletados adultos de *T. notata* em setembro de 2010 sobre plantas de algodão infestadas por cochonilhas *Phenacoccus solenopsis* e *F. dasyrillii* no município de Surubim, PE (07°49'59" S, 35°45'17" O), e em março de 2011 sobre plantas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill infestada por *D. opuntiae* no Sítio Boa Vista, município de Dormentes, PE (09°04'15" S, 40°19'5,4" O).

Adultos do predador foram mantidos sob as mesmas condições da criação das cochonilhas em laboratório e confinados em caixas de acrílico de 40x25x20cm (comprimento x altura x largura) contendo aberturas circulares nas laterais, fechadas com tecido organza para permitir o arejamento interno. As caixas foram forradas internamente com papel toalha, onde sobre este foi ofertada uma abóbora infestada com a cochonilha *F. dasyrillii* servindo como presa para as joaninhas. A criação estoque do predador vem sendo mantida a mais de 50 gerações, sem a inserção periódica de insetos coletados em campo

Efeito do Fotoperíodo e da Maturidade Sexual na Frequência de Acasalamento de *Tenuisvalvae notata*. Este estudo avaliou qual a idade inicial de cópula após a emergência, qual o período de acasalamento, e horário de maior atividade sexual (frequência de cópulas) de adultos de *T. notata*.

Teste 1. Pupas de *T. notata* foram individualizadas em placas de Petri (9 cm diam.) e acompanhadas diariamente para verificação da emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos foram sexados e alimentados com ninfas de *F. dasyrillii* em abundância. Dez casais foram formados em placas de Petri de mesmo tamanho de acordo com a idade dos adultos, sendo um macho e uma fêmea virgens e de mesma idade, seguindo a sequência de um a nove dias após

emergência, respectivamente. Os casais foram observados continuamente em laboratório durante a fotofase, 12h de luz artificial (das 7:00h até as 19:00h), e durante a escotofase, 12h de escuro (das 19:00 até as 7:00h), sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. As observações durante a escotofase, foram conduzidas sob luz vermelha. Cada casal foi considerado uma repetição e o experimento constou de 10 repetições em cada tratamento, tratamentos estes referentes a cada idade na fotofase e escotofase. Durante a avaliação foram registrados a idade do casal que copulou, o horário de acasalamento (fotofase ou escotofase), e o número de cópulas a cada hora de avaliação.

Teste 2. Este foi conduzido para identificar diferença na maturidade sexual entre machos e fêmeas de *T. notata*. Foram formados 20 casais virgens de acordo com os seguintes tratamentos: T1 = fêmeas recém emergidas com menos de 24h de idade e machos com mais de 10 dias de idade; T2 = machos recém emergidos com menos de 24h e fêmeas com mais de 10 dias de idade. Os testes preliminares indicaram que adultos com mais de 10 dias de idade já estão sexualmente maduros e produzem descendentes. Os casais de ambos os tratamentos foram acompanhados durante a fotofase, das 9:00h até às 17:00 horas, ou até que ocorresse a primeira cópula, quando então os adultos foram separados. Casais que não copularam no primeiro dia foram separados durante a noite e reunidos no dia seguinte (os mesmos indivíduos), sendo observados até que a primeira cópula ocorresse. Para ambos os casos avaliou-se a sobrevivência das fêmeas adultas e a oviposição e viabilidade dos ovos por um período de 30 dias após a cópula. Cada casal foi considerado uma repetição e o experimento constou de 20 repetições em cada um dos dois tratamentos. Os machos utilizados foram aproveitados na criação estoque do laboratório.

Análises Estatísticas. A frequência de cópulas durante a fotofase e escotofase, e diferentes idades dos adultos foi analisada pelo teste de qui-quadrado utilizando o PROC FREQ do SAS (SAS Institute, 2001). A partir dos resultados destes experimentos, os testes subsequentes foram

conduzidos no período de maior atividade sexual de acordo com o comportamento de acasalamento dos adultos. No teste 1 a proporção de acasalamentos foi correlacionada com a idade das joaninhas e a provável idade de maturação sexual. No teste 2 a média de idade dos adultos jovens que aceitaram a primeira cópula com um adulto mais velho indicou a idade de maturação sexual de cada sexo separadamente. A diferença na maturação sexual entre machos e fêmeas foi comparada pelo teste de T, utilizando o PROC T TEST do SAS. Para oviposição ao longo dos 30 dias observados, a análise foi realizada considerando medidas repetidas no tempo (oviposição média por período de avaliação, definido em intervalos de 5 dias) usando o PROC GLM do SAS.

Comportamento de Corte e Acasalamento de *Tenuisvalvae notata*. Para finalidade de avaliar os comportamentos que precedem imediatamente a cópula. Adultos recém-emergidos foram alimentados com ninfas de *F. dasyliirii* em abundância e água oferecida em chumaços de algodão, e mantidos em BOD a 25 °C até atingirem a idade de maior atividade sexual previamente determinada no bioensaio anterior. Então, 20 casais/repetições virgens de mesma idade foram formados em placas de acrílico (2 cm diam.), obedecendo o intervalo do fotoperíodo também de maior atividade sexual, como antes determinado. Em seguida, cada casal foi observado continuamente até que ocorresse a primeira cópula e todos os comportamentos desempenhados por ambos os sexos, separadamente foram registrados através do método *Ad Libitum Sampling*, o qual trata da realização de uma amostragem de comportamento onde se observa todos os comportamentos realizados pelo inseto, em um período contínuo de tempo, registrando todos eles (Altmann 1974, Martin & Bateson 1993).

Para descrição dos comportamentos envolvidos na cópula propriamente dita, casais foram observados continuamente sob estereomicroscópio (OPTON–NTB 3A), até a ocorrência e término

da primeira cópula. Foram avaliados a ocorrência e duração da cópula, com auxílio de um cronômetro, sendo realizadas 20 repetições.

Análises Estatísticas. Os valores relativos às proporções médias de ocorrência dos diferentes comportamentos envolvidos na corte de machos e fêmeas de *T. notata* foram submetidos inicialmente a um teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade de variância (Bartlett) através do PROC UNIVARIATE do SAS, sendo que necessitaram transformação em raiz ($x + 0,5$) para atender os pré-requisitos da ANOVA. Em seguida, os dados foram submetidos à ANOVA fatorial considerando como fatores principais os oito comportamentos realizados (Tabela 1), sendo estes comparados quanto a sua ocorrência em cada sexo isoladamente e também entre os sexos. A análise entre os sexos foi submetida ao Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001). Por fim, os resultados foram submetidos ao teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade para avaliar diferenças significativas entre as médias. Em relação à cópula, os dados de todas as sequências de comportamentos envolvidos na cópula foram usados para criar uma matriz de transição Markoviana de primeira ordem, a partir do total da frequência de transições (ex. correlacionando a mudança de um comportamento para outro em sequência). A repetição de um mesmo evento comportamental (auto-transição) não foi incluída para evitar a possível influência no peso relativo das transições entre comportamentos. As probabilidades de transição foram calculadas a partir da frequência observada de uma transição entre dois eventos, dividido pelo número total de ocorrências do primeiro evento (Haccou & Meelis 1992). Os valores esperados da matriz foram encontrados utilizando o método iterativo proporcional (Goodman 1968) e a significância estatística das transições individuais foi avaliada pelo teste de razão (log-likelihood) (G-teste) usando o Excel (Microsoft Office Windows 7). Os comportamentos de cópula também estão discriminados por siglas específicas (Tabela 1) e foram usados para construção gráfica de um etograma.

Resultados

Efeito do Fotoperíodo e da Maturidade Sexual na Frequência de Acasalamento de *Tenuisvalvae notata*. *Teste 1* - A atividade sexual de *T. notata* ocorre exclusivamente durante a fotofase, com nenhum casal copulando durante a escotofase. Além disso, a maior frequência de acasalamentos ocorreu entre as 8h da manhã e 18h da tarde ($\chi^2 = 43,82$; $P = 0,0001$) (Fig. 1), tendo o pico de 10 às 16h. Adultos com um e dois dias de idade apresentaram uma média baixa de acasalamentos (30%). Entretanto, apesar de não significativa, a porcentagem de adultos que copularam dobrou a partir do quinto dia de idade, onde 60% dos casais já havia realizado a primeira cópula ($\chi^2 = 6,85$; $P = 0,5524$) (Fig. 2).

Houve uma grande variação na frequência de cópulas entre os casais testados, com 38 casais que copularam apenas uma vez e 52 casais que copularam até oito vezes em um período de 12h de fotofase. Entretanto, o número médio de cópulas entre os casais variou de 1,17 a 1,9 cópulas/12h de fotofase, não apresentando diferença significativa entre as idades testadas, que foram de 1 a 9 dias de idade ($F = 0,87$; $P = 5449$) (Fig. 3). Em relação a duração da cópula, esta variou de um até dois minutos com duração média de 84 segundos, tendo seu início desde a monta do macho sobre a fêmea até o término da cópula, onde ambos se afastavam.

Teste 2 – Macho e fêmea de *T. notata* possuem diferença quanto a maturação sexual, segundo a ANOVA ($F = 12,09$; $P = 0,0013$); levando o macho cerca de 4 dias em média para alcançar esta maturidade, e em contrapartida a fêmea copula dentro das primeiras 24h de emergência. Para oviposição a análise de variância foi realizada considerando medidas repetidas no tempo (oviposição média por período de avaliação, definido em intervalos de 5 dias). Obteve-se então o efeito significativo do tempo na oviposição: (MANOVA: Wilks' lambda = 0,287; $F_{GL} = 5, 14 = 6,94$; $P = 0,0019$) com diferença estatística nos períodos de 1-5 dias ($F = 8,85$; $P = 0,0081$), 6-10

dias ($F = 8,67$; $P = 0,0087$) e 16-20 dias ($F = 8,22$; $P = 0,0103$) (Fig. 4). A sobrevivência das fêmeas adultas durante o período de avaliação não apresentou diferença significativa (Log-Rank $GL= 1$, $P= 0,0900$).

A viabilidade do total de ovos depositados no período de 30 dias por fêmeas do T1 e T2, ($F= 2.02$; $P=0.1638$), apresentou mais de 50% de viabilidade e não diferenciou entre os tratamentos. Também foi observado que não houve diferença no tempo para realização da primeira postura entre os dois tratamentos, após a primeira cópula, os quais foram respectivamente; 3.4 e 3.6 dias em média para fêmeas que acasalaram no primeiro dia de emergência e fêmeas com >10 dias de emergidas.

Comportamento de Corte e Acasalamento de *Tenuisvalvae notata*. Os adultos de *T. notata* apresentavam grande mobilidade dentro das placas, com repetição constante de alguns comportamentos, e com prolongado tempo antes da primeira cópula, dificultando assim o acompanhamento e ajuste do foco em um estereomicroscópio, sendo portanto observados a olho nu.

Os dados referentes aos comportamentos de corte estão apresentados de forma descritiva e discriminados por siglas específicas na Tabela 1. Dos comportamentos observados imediatamente antes da cópula, e aqui considerados de pré-cópula/corte, tanto machos quanto fêmeas apresentam oito comportamentos: caminhada aleatório (CAI), autolimpeza (AutL), parada (Par), movimento do abdômen (MAb), toque no sexo oposto (TSO), sobe no dorso do sexo oposto (SD), move asas (MA), afastamento (Afast) (Tabela 1).

Quando os comportamentos foram avaliados entre macho e fêmea, apenas o comportamento MA apresentou diferença estatística ($F = 6,94$; $P= 0,0118$) apresentando uma média de ocorrência de 1,1 vezes nas fêmeas em comparação a 0,8 vezes nos machos. Em relação aos outros comportamentos desempenhados por ambos os sexos durante a corte, não houve

diferença significativa entre os sexos, sendo CAI ($F = 1,42$; $P = 0,2403$), AutL ($F = 0,99$; $P = 0,3266$), Par ($F = 1,03$; $P = 0,3156$), MAb ($F = 1,63$; $P = 0,2094$), TSO ($F = 1,81$; $P = 0,1856$), SD ($F = 0,35$; $P = 0,5558$) e Afast ($F = 2,31$; $P = 0,1358$),

Comparando-se os diferentes comportamentos dentro do mesmo sexo, observa-se diferença estatística entre os mesmos. Revelando que nos machos o comportamento CAI diferiu significativamente dos demais, ANOVA ($F = 10,85$; $P < 0,0001$) (Fig. 5). Similarmente aos machos, no período pré-cópula as fêmeas também passaram mais tempo executando CAI ($F = 7,51$; $P < 0,0001$) (Fig. 5) em comparação aos outros comportamentos observados. Observou-se atos comportamentais de “corte” da fêmea em relação ao macho. Neste caso, mesmo que passando grande parte do tempo em um caminhar aparentemente aleatório, as fêmeas constantemente buscavam tocar o macho, assim como por vezes realizava o comportamento de subir no seu dorso.

Durante o acasalamento de *T. notata* foram observados dezoito atos comportamentais envolvidos (Tabela 1), um número relativamente grande de comportamentos, com alguns bastante peculiares, como os giros que os machos podem dar sobre o dorso da fêmea após a retirada do edeago. Na maioria dos casos, antes que a cópula se inicie a fêmea é o sexo ativo do casal, realizando várias investidas sobre o macho, tocando-o com as mandíbulas e subindo em seu dorso. Quando a fêmea cessa o caminhar, o macho caminha em sua direção, sobe em seu dorso, insere o edeago e simultaneamente, toca o dorso da fêmea com as mandíbulas e apreende-a com o segundo e terceiro par de pernas. Neste momento a fêmea pode ficar parada ou caminhando (Fig. 7). O macho utilizava-se das pernas para segurar à fêmea (Hodek 1967, 1973), a qual o carregava para onde quer que vá ou ainda move as pernas. Outra resposta da fêmea que também foi observada é a de imobilidade e submissão durante a investida do macho e inserção do edeago, aceitando passivamente a cópula, acompanhada da elevação do abdômen.

Durante a cópula 80% dos machos subiram na fêmea (n=38), em resposta a esse comportamento, 30% das fêmeas avaliadas permaneceram caminhando, 3% moveram as pernas, 34% permaneceram paradas, e 33% das fêmeas elevaram o abdômen. Por sua vez, 35% dos machos realizaram o comportamento de giro sobre a fêmea assim que subiu na mesma, 60% dos machos inseriram o edeago logo que montaram a fêmea, e 5% se afastaram descendo da fêmea pela lateral. Com o edeago já introduzido na fêmea, 53% dos machos tocaram o dorso da fêmea com os palpos, enquanto 48% apreenderam a fêmea com os dois últimos pares de pernas. Após este comportamento de apreensão, 75% dos machos retiraram o edeago, 3% se afastaram da fêmea, e 22% tocaram novamente do dorso da fêmea. Finalizada a cópula, 78% dos machos realizam de um a dois giros sobre a fêmea, passando a genitália sobre o dorso da mesma; 1% realizaram autolimpeza, e 21% se afastaram rapidamente da fêmea sem realizar nenhum giro. Posteriormente ao comportamento de giro do macho sobre a fêmea, 100% dos machos avaliados finalizaram a sequência de comportamentos afastando-se rapidamente da fêmea. As várias transições comportamentais relacionadas com a cópula de *T. notata* estão representadas na Figura 6.

Discussão

De acordo com a nossa hipótese, adultos de *T. notata* necessitam de um período de maturação sexual para acasalarem e produzirem descendentes. Isto justifica o resultado do teste 1, onde 60% dos casais acasalaram a partir do quinto dia de idade. Os adultos iniciam a atividade sexual em diferentes idades de acordo com cada sexo. O macho desta joaninha precisa de em média 4 dias para atingir sua maturidade sexual, já que 70% dos machos avaliados desde a sua emergência só acasalaram após este período, mesmo sendo-lhes ofertada uma fêmea com mais de 10 dias de idade. Por sua vez, 90% das fêmeas com <24 horas de emergidas, quando ofertadas a machos com mais de 10 dias de idade copularam a partir do primeiro dia de emergência.

O número reduzido de cópulas antes dos 4 dias de idade no macho pode ser atribuído ao provável estado de imaturidade das gônadas, sendo observado também em outras espécies de joaninhas, como *Coccinella septempunctata*, *Propylea dissecta*, *Cryptolaemus montrouzieri*, esta última levando cerca de 15 dias para maturação sexual (Kaufmann 1996, Omkar & Srivastava 2002, Omkar & Pervez 2005). O aumento da ocorrência de acasalamentos após os 4 dias de idade pode ser ocasionado pelo aumento da liberação de feromônios e o estímulo resultante por fêmeas mais velhas. Um padrão semelhante na incidência de acasalamento foi observada em *Propylea dissecta* (Mulsant) (Pervez *et al.* 2004), *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Srivastava & Omkar 2004), *A. bipunctata* (Hemptinne *et al.* 2001), e *Cheilomenes sexmaculata* Fab. (Bind 2007).

O pico de acasalamento de *T. notata* se deu das 10h da manhã às 16h da tarde, confirmando a nossa hipótese que a atividade sexual da mesma seria coincidente com a sua atividade predatória, a qual ocorre unicamente na fotofase. Durante a escotofase os insetos se encontram totalmente inativos. Diante deste resultado verifica-se a atividade sexual diurna da espécie, a qual pode ser justificada pelas condições favoráveis dos fatores abióticos, como temperatura e fotoperíodo. Berkvens *et al.* (2008) estudaram o efeito do fotoperíodo sobre o desenvolvimento e reprodução da joaninha asiática *Harmonia axyridis*, verificaram que esta joaninha ao ser submetida à fotoperíodo de 16 horas apresentou desenvolvimento de dois a três dias mais rápido, do que quando mantidas sob 12 horas de fotoperíodo e que o início do período de oviposição sofreu um atraso de um a três meses, quando os insetos foram criados sob 12 horas de luz e $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $65\pm 5\%$ umidade relativa. Dissecções indicaram que as fêmeas estavam em diapausa reprodutiva, mostrando que o fotoperíodo influencia na atividade reprodutiva da espécie.

Após atingir a maturidade sexual, os casais de *T. notata* apresentaram múltiplas cópulas diárias com cerca de 2 cópulas por dia e o tempo médio que um casal leva para iniciar a cópula

após o pareamento é de 01 hora e 54 minutos. Ou seja, *T. notata* é uma espécie poligâmica assim como outras espécies de joaninhas, condizendo com o fato descrito por outros autores (Arnqvist & Nilsson 2000, Omkar *et al.* 2010) de que a poligamia é o sistema de acasalamento prevalente em Coccinellidae, influenciando na história de vida dos mesmos, e atuando em fatores como produção de ovos, fertilidade e longevidade. Por exemplo, Colares *et al.* (2015) observaram que fêmeas de *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) acasaladas com vários machos virgens iniciam mais rápido a oviposição. Adicionalmente, esse efeito de aptidão paterna sobre a descendência dos coccinellídeos pode estar funcionalmente ligado à estimulação de fecundidade e também pode variar com o estado de acasalamento dos machos (Michaud *et al.* 2013, Colares *et al.* 2015). Dos diferentes tipos de sistemas de acasalamento em insetos, se destaca a poligamia em Coccinellidae (Arnqvist & Nilsson 2000, Omkar *et al.* 2010), sendo considerada uma estratégia usada para manter a alta fertilidade (Bayoumy & Michaud 2014), mas também para obter benefícios secundários como nutrientes transferidos junto ao material seminal durante a cópula e aumentar a heterogeneidade dos descendentes (Thornhill & Alcock 1983).

A duração da cópula foi considerada curta, possuindo uma média de 84 segundos, e podendo possivelmente não ser eficiente para transferência total de material seminal ou preenchimento da espermateca, já que *T. notata* realiza múltiplas cópulas por dia. O curto tempo de cópula não interfere na fecundidade e na fertilidade dos ovos, uma vez que a viabilidade e sobrevivência das fêmeas foram mantidas em torno de $\pm 50\%$ em T1 e T2 .

Diferente do esperado discriminou-se atos comportamentais de “corte” da fêmea em relação ao macho. As diversas tentativas da fêmea em induzir o macho a cópular, leva-nos a sugerir que os comportamentos pré-copulatórios tratam-se de corte, e que a fêmea tem maior interesse na cópula do que os machos.

Os resultados também sugerem que a transferência de material seminal em *T. notata* é eficiente, pois as fêmeas podem acasalar no mesmo dia que emergem e mesmo assim produzir descendente, desde que o parceiro que acasalou esteja pronto sexualmente. No entanto, as fêmeas acasaladas com mais de 10 dias de idade, apresentaram fecundidade relativamente maior, quando comparadas às fêmeas copuladas no primeiro dia de emergência; mostrando que a fecundidade de *T. notata*, pode ser influenciada pela idade da fêmea. Já a fertilidade não é influenciada pela idade da fêmea, pois tanto fêmeas com mais de 10 dias de idade quanto fêmeas com 24h de emergência, apresentaram mais de 50% de viabilidade de seus ovos.

O comportamento de giro sobre o dorso da fêmea ao final da cópula foi realizado por 78% dos machos avaliados, indicativo de algum tipo de marcação na fêmea após a cópula. Neste caso é possível que o macho deposite semioquímicos sobre a fêmea, podendo se tratar de feromônio de marcação ou sexual.

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, foi possível entender aspectos biológicos e comportamentais de *T. notata*, sobretudo em relação ao desempenho reprodutivo, e demonstrar que a criação massal em laboratório é viável haja vista que a espécie inicia relativamente cedo a sua atividade sexual (fêmeas recém emergidas) e essa pode se estender durante um longo período após emergência, com múltiplas cópulas o que facilita bastante a sua multiplicação. Além disso, *T. notata* possui uma atividade diurna de acasalamento e predação, o que facilita o manejo na criação. Há um comportamento específico de machos sobre as fêmeas após a cópula, este sugere a existência de um feromônio sexual ou de marcação em *T. notata*, algo que pode ser explorado com o intuito de aumentar a atratividade e permanência destes indivíduos em áreas alvo de controle no campo, evitando a sua dispersão. Esse estudo contribui para facilitar a manutenção de uma criação massal destes predadores, e também oferece a caracterização detalhada do repertório comportamental do acasalamento da espécie, o qual pode ser utilizado em estratégias de controle,

como por exemplo, favorecendo a multiplicação do predador em criação massal, para posteriores liberações em campo e lhe permitindo vantagens em relação à praga quando liberados.

Entretanto experimentos futuros deverão ser realizados para avaliar a influência da duração de cópula em características reprodutivas da espécie, como fecundidade e fertilidade dos ovos. Assim como é importante a verificação da ocorrência de competição por espermatozóides, através das múltiplas cópulas, comportamento realizado por machos de *T. notata*.

Literatura Citada

- Altmann, J. 1974.** Observational study of behaviour: sampling methods. *Behavior* 49: 227-267.
- Arnqvist, G. & T. Nilsson. 2000.** The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Anim. Behav.* 60: 145-164.
- Barbosa, P.R.R., M.D. Oliveira, J.A. Giorgi, C.S.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2014.** Predatory behavior and life history of the lady beetle *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae) under variable prey availability conditions. *Fl. Entomol.* 97: 1026-1034.
- Bayoumy, M.H. & J.P. Michaud. 2014.** Female fertility in *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) is maximized by polyandry, but reduced by continued male presence. *Eur. J. Entomol.* 4: 513-520.
- Ben-Dov, Y., D.R. Miller & G.A.P. Gibson. 2004.** ScaleNet Scales on host natural enemies and associates of a scale query results. <<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>>. Acesso em 24/09/2015.
- Berec, L., D.S. Boukal & M. Berec. 2001.** Linking the Allee effect, sexual reproduction, and temperature-dependent sex determination via spatial dynamics. *Am. Nat.* 157: 217-230.
- Berkvens, N., J. Bonte, D. Berkvens, L. Tirry, P. De Clerq. 2008.** Influence of diet and photoperiod on development and reproduction of European populations of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), p. 211-221. In H.E. Roy, E. Wajnberg (eds.), *From Biological control to invasion: the ladybird Harmonia axyridis as a model species*. 1. ed. Springer, 579p.
- Berrigan, D. & S.H. Locke. 1991.** Body size and male reproductive performance in the flesh fly, *Neobellieria bullata*. *Insect Physiol.* 37: 575-581.
- Bind, R.B. 2007.** Reproductive behaviour of a generalist aphidophagous ladybird beetle *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 27: 78-84.

- Borges M., S. Colazza, P. Ramirez-Lucas, K.R. Chauhan, M.C.B. Moraes, J.R. Aldrich. 2003.** Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). *Physiol. Entomol.* 28: 349-355.
- Colares, F., J.P. Michaud, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2015.** Polyandry and male mating history affect the reproductive performance of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108: 736-742.
- Colazza S., M. Lo Bue, D. Lo Giudice & E. Peri. 2009.** The response of *Trissolcus basal* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. *Naturwissenschaften* 96: 975-981.
- Crowder, D.W. 2006.** Impact of release rates on the effectiveness of augmentative biological control agents. *J. Insect Sci.* 7: 1-11.
- Dixon, A.F.G. 2000.** Insect predator-prey dynamics, ladybird beetles and biological control. Cambridge, Cambridge University Press, 257.
- Dreyer, B.S., P. Neuenschwander, J. Baumgartner & S. Dorn. 1997.** Trophic influences on survival, development and reproduction of *Hyperaspis notata* (Col., Coccinellidae). *J. Appl. Entomol.* 121: 249-256.
- Final IRA. 2004.** Mealybugs: *Ferrisia virgata* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae), 115–121. In Longan and lychee fruit from the People’s Republic of China and Thailand - Final Import Risk Analysis Report: Part B. Commonw. Aust. 176.
- Franco, J.C., P. Suma, E.B. Silva, D. Blumberg & Z. Mendel. 2004.** Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. *Phytoparasitica* 32: 507-522.
- Ghafoor, A., I. Saba, M.S. Khan, H.A. Farooq, Zubaida & I. Amjad. 2011.** Predatory potential of *Cryptolaemus montrouzieri* for cotton mealybug under laboratory conditions. *J. Anim. Pl. Sci.* 21: 90-93.
- Giorgi, J.A., N.J. Vandenberg, J.V. McHugh, J.A. Forrester, S.A. Slipinski, K.B. Miller, L.R. Shapiro & M.F. Whiting. 2009.** The evolution of food preferences in Coccinellidae. *Biol. Control* 51: 215-231.
- Goodman, L.A. 1968.** The analysis of cross-classified data: independence, quasiin dependence, and interactions in contingency tables with or without missing entries. *J. Am. Stat. Ass.* 63: 1091-1131.
- Gravena, S. 2003.** Cochonilha branca: descontrolada em 2001. Disponível em <http://www.gravena.com.br/dicas_de_mep.htm>. Acesso em 24/09/2015.

- Gullan, P.J & M.B. Kaydan 2012.** A taxonomic revision of the mealybug genus *Ferrisia* Fullaway (Hemiptera: Pseudococcidae), with descriptions of eight new species and a new genus. *Zootaxa* 3543: 1-65.
- Haccou, P. & E. Meelis. 1992.** Statistical analysis of behavioural data: an approach based on time-structured models. Oxford, Oxford University Press, 396p.
- Haddrill, P.R., D.M. Shuker, S. Mayes & M.E.N. Majerus. 2007.** Temporal effects of multiple mating on components of fitness in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur. J. Entomol.* 104: 393-398.
- Hemptinne, J.L., A.F.G. Dixon & B. Adam. 2001.** Do males and females of the two-spot ladybird beetle, *Adalia bipunctata* (L.) differ in when they mature sexually? *J. Insect Behav.* 14: 411-419.
- Hodek I. & P. Ceryngier. 2000.** Sexual activity in Coccinellidae (Coleoptera): a review. *Eur. J. Entomol.* 97: 449-456.
- Hodek, I. & A. Honek. 2009.** Scale insects, mealybugs, whiteflies and psyllids (Hemiptera, Sternorrhyncha) as prey of ladybirds. *Biol. Control* 51: 232-243.
- Hodek, I. 1967.** Bionomics and ecology of predaceous Coccinellidae. *Annu. Rev. Entomol.* 12: 79-104.
- Hodek, I. 1973.** Biology of Coccinellidae. Prague, Academics of Sciences, 260p.
- Isogai M., H. Sakurai & S. Takeda. 1990.** Relationship between spermatogenesis and diapause in the ladybird beetle, *Coccinella septempunctata* brucki Mulsant. *Res. Bull. Fac. Agric. Gifu Univ.* 55: 93-99.
- Jahn, G.C., J.W. Beardsley & H. González-Hernández. 2003.** A review of the association of ants with mealybug wilt disease of pineapple. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 36: 9-28.
- Kaur, H. & J.S. Virk. 2012.** Feeding potential of *Cryptolaemus montrouzieri* against the mealybug *Phenacoccus solenopsis*. *Phytoparasitica* 40: 131-136.
- Kearns, P.W.E., L.P.M. Tomlinson, C.J. Veltman & P.O. Donald. 1992.** Non-random mating in *Adalia bipunctata* (the two spot ladybird). II . Further tests for female mating preference. *Heredity* 68: 385-389.
- Liu, T.X. & P.A. Stansly. 1996.** Morphology of *Nephaspis oculatus* and *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae), predators of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 98: 292-300.
- Maisin, N., S.T.S. Hassan, M.Y. Hussein & A.S. Sajap. 1997.** Mating behaviour of *Menochilus sexmaculatus* Fabr. (Coleoptera: Coccinellidae). *Malaysian Appl. Biol.* 26: 57-61.

- Majerus, M., P. O_Donald and J. Weir. 1982.** Evidence for preferential mating in *Adalia bipunctata*. *Heredity* 49: 37-49.
- Martin, P. & P. Bateson. 1993.** Measuring behaviour: an introductory Guide. 2^a ed. Cambridge, Cambridge Univ. Press, 186p.
- Michaud, J.P., M. Bista, G. Mishra, & Omkar. 2013.** Sexual activity diminishes male virility in two *Coccinella* species: Consequences for female fertility and progeny development. *Bull. Entomol. Res.* 103: 570-577.
- Miller, D.R. Ben-Dov & G. Gibson. 2012.** ScaleNet, Pseudococcidae catalogue. Disponível em <<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>>. Acesso em 14/06/2014.
- Mirhosseini, M.A, J.P. Michaud, M.A. Jalali, M. Ziaaddini. 2014.** Paternal effects correlate with female reproductive stimulation in the polyandrous ladybird *Cheilomenes sexmaculata*. *Bull. Entomol. Res.* 104: 480-485.
- Muggleton, J. 1979.** Non-random mating in wild populations of polymorphic *Adalia bipunctata*. *Heredity*, 42, 57-65.
- Obata S. & Y. Johki. 1991.** Comparative study on copulatory behaviour in four species of aphidophagous ladybird beetles, p. 207–212. In L. Polgar, R. J. Chambers, A. F. G. Dixon & I. Hodek (eds.), *Ecology of aphidophaga*. Netherlands, SPB Academic Publishing, 356p.
- Obrycki, J. J. & T. J. Kring. 1998.** Predaceous Coccinellidae in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 295-321.
- Omkar and A. Pervez. 2005.** Mating behaviour of an aphidophagous ladybird beetle, *Propylea dissecta* (Mulsant). *Insect Sci.* 12: 37-44.
- Omkar and G. Mishra. 2005.** Mating in aphidophagous ladybirds: Costs and benefits. *J. Appl. Entomol.* 129: 432-436.
- Omkar and S. K. Singh. 2010.** Mating behaviour of the aphidophagous ladybird beetle *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). *Int. J. Trop. Insect. Sci.* 30: 3-10.
- Omkar & S. Pathak. 2006.** Effect of different photoperiods and wavelengths of light on the life-history traits of an aphidophagous ladybird, *Coelophora saucia* (Mulsant). *J. Appl. Entomol.* 130: 45-50.
- Omkar & S. Srivastava. 2002.** Reproductive behaviour of an aphidophagous ladybeetle, *Coccinella septempunctata* Linnaeus. *Eur. J. Entomol.* 99: 465-470.
- Omkar, K. Singh & A. Pervez. 2006.** Influence of mating duration on fecundity and fertility in two aphidophagous ladybirds. *J. Appl. Entomol.* 130: 103-107.

- Omkar, M.G. 2005.** Preference–performance of a generalist predatory ladybird: a laboratory study. *Biol. Control* 34: 187-195.
- Omkar, S.K. Singh & G. Mishra. 2010.** Multiple matings affect the reproductive performance of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur. J. Entomol.* 107: 177-182
- Omkar. 2004.** Reproductive behaviour of two aphidophagous ladybird beetles, *Cheilomenes sexmaculata* and *Coccinella transversalis*. *Entomol. Sinica* 11: 47-60.
- Parker, G.A. & L.W. Simmons. 1994.** Evolution of phenotypic optima and copula duration in dungflies. *Nature* 370: 53-56.
- Pathak, S. 2008.** Life attributes of an aphidophagous ladybird *Coelophora saucia* (Mulsant). Department of Zoology, University of Lucknow, Lucknow. 223.
- Pervez A., Omkar & A.S. Richmond. 2004.** The influence of age on reproductive performance of the predatory ladybird beetle, *Propylea dissecta*. *J. Insect Sci.* 4: 1-8.
- Rostás, M., D. Ruf, V. Zabka & U. Hildebrandt. 2008.** Plant surface wax affects parasitoid's response to host footprints. *Naturwissenschaften.* 10: 997-1002
- Sabaghi, R., A. Sahragard & R. Hosseini. 2011.** Functional and numerical responses of *Scymnus syriacus* Marseul (Coleoptera: Coccinellidae) to the black bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli (Homoptera: Aphididae) under laboratory conditions. *J. Pl. Prot. Res.* 51: 423-428.
- Sanches, N.F. & R.S. Carvalho. 2010.** Procedimentos para manejo da criação e multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri*. Cruz das Almas, EMBRAPA, 5p. (Circular Técnica 99).
- Silva-Torres, C.S.A., M.D. Oliveira, P.R. Barbosa & J.B. Torres. 2013.** Host selection and establishment of striped mealybug, *Ferrisia virgata*, on cotton cultivars. *Phytoparasitica* 41: 31–40.
- South, A.B. & R.E. Kenward. 2001.** Mate finding, dispersal distances and population growth in invading species: a spatially explicit model. *Oikos* 95: 53-58
- Srivastava S. & Omkar. 2004.** Age-specific mating and reproductive senescence in the seven-spotted ladybird, *Coccinella septempunctata*. *J. Appl. Entomol.* 128: 452-458.
- Srivastava, S. & Omkar. 2005.** Short and long term benefits of promiscuity in a seven-spotted ladybird, *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 25: 176-181
- Thornhill, R. & J. Alcock. 1983.** The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 564p.

- Tomlinson, T.P.M. 1996.** A study of non-random mating in a British population of the two-spot ladybird with a high frequency of the melanic morph. *J. Insect Behav.* 9: 549-556.
- Torres, J.B., M.D. Oliveira & M.S. Lima. 2011.** Cochonilhas farinhentas: potenciais problemas para o algodão brasileiro. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 6p. (Informativo REDALGO 2005).
- Vieira, G.F., V.H.P. Bueno & A.M. Auad. 1997.** Resposta funcional de *Scymnus* (Pullus) *argentinicus* (Weise) (Coleoptera: Coccinellide) a diferentes densidades do pulgão verde *Schizaphis graminum* (Rond.) (Homoptera: Aphididae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 26: 495-502.

Tabela 1. Atos comportamentais envolvidos na corte e cópula de *Tenuisvalvae notata*.

Siglas	Descrição do comportamento	Corte/copula
CAI	Caminhamento aleatório	Corte
AutL	Autolimpeza	Corte/copula
Par	Adulto inativo	Corte
MAB	Movimento do abdomen	Corte
TSO	Tocar Sexo Oposto	Corte
SD	Subir no dorso do sexo oposto	Corte
MA	Mover Asas	Corte
Afast	Afastamento entre os sexos	Corte/copula
Fpar	Fêmea parade	Cópula
Fcam	Fêmea caminha	Cópula
FMP	Fêmea Move Pernas	Cópula
FEAb	Fêmea Eleva Abdômen	Cópula
MSF	Macho sobe na fêmea	Cópula
MIEd	Macho Insere o edeago	Cópula
MTD	Macho Toca Dorso da fêmea com mandíbulas	Cópula
MAF	Macho Apreende a Fêmea	Cópula
MREd	Macho Retira o Edeago	Cópula
Giro	Giro do macho sobre a fêmea	Cópula

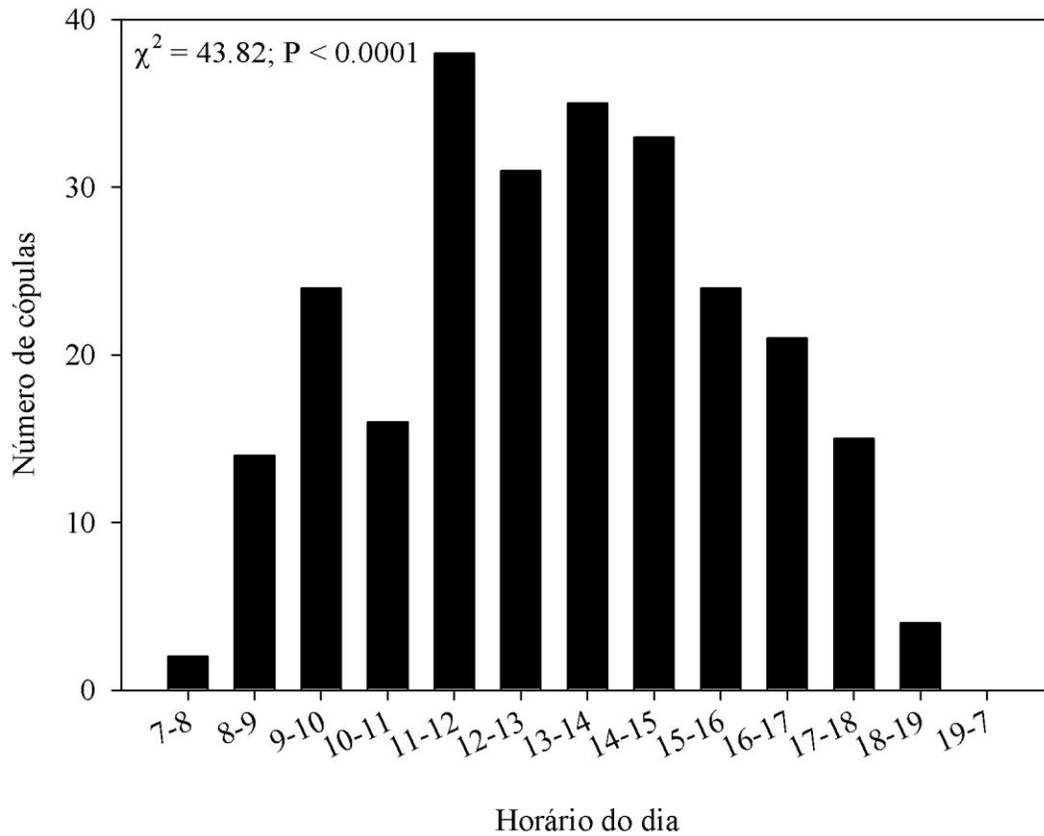


Figura 1. Horário do dia onde o número de cópulas de *Tenuisvalvae notata* ocorre em maior frequência.

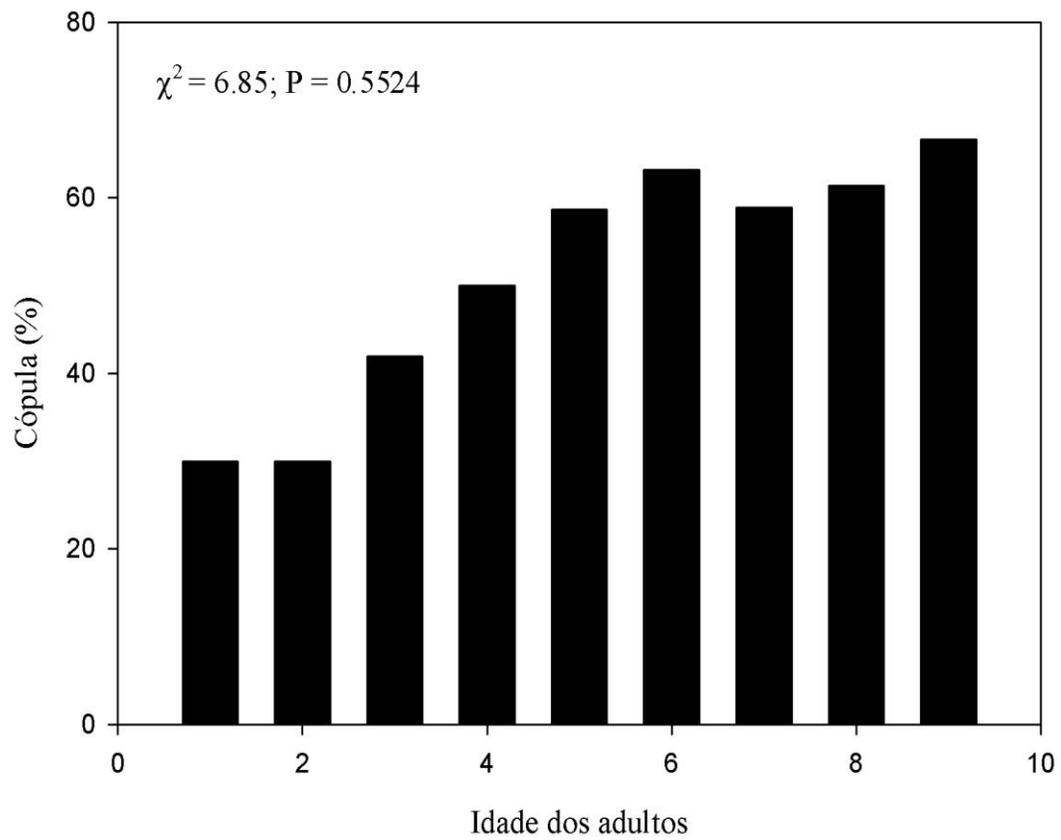


Figura 2. Porcentagem de adultos de *Tenuisvalvae notata* copulando em distintas idades.

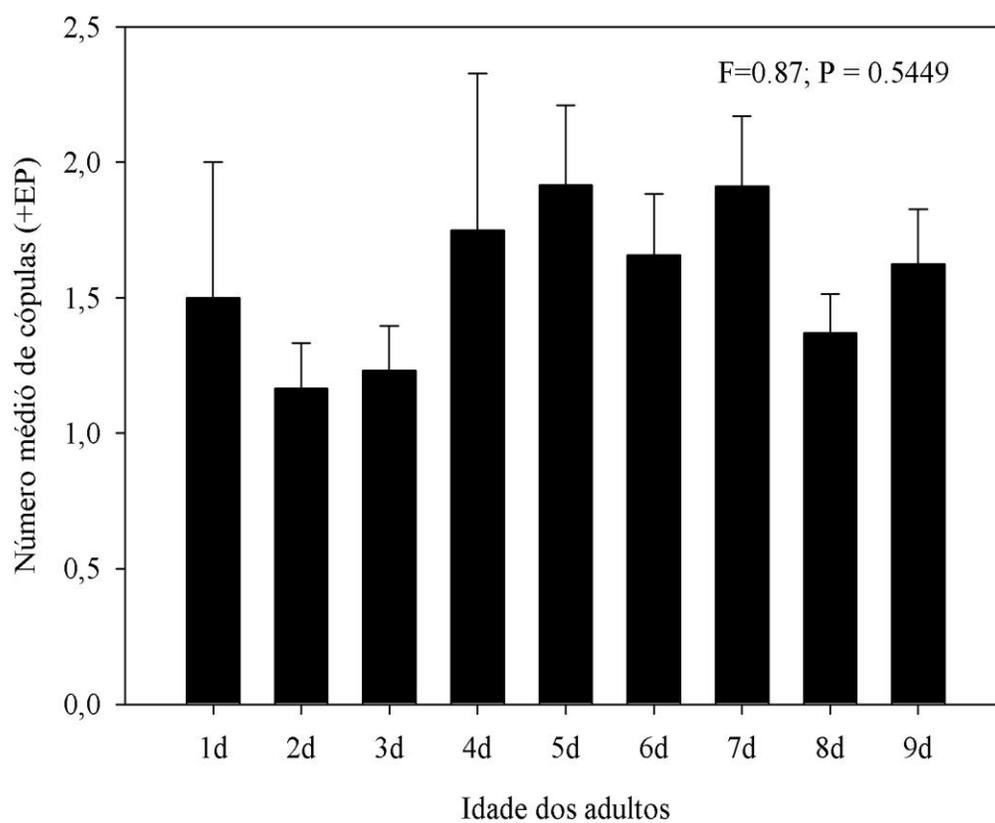


Figura 3. Número médio de cópulas (+EP) entre machos e fêmeas virgens de *Tenuisvalvae notata* em várias idades.

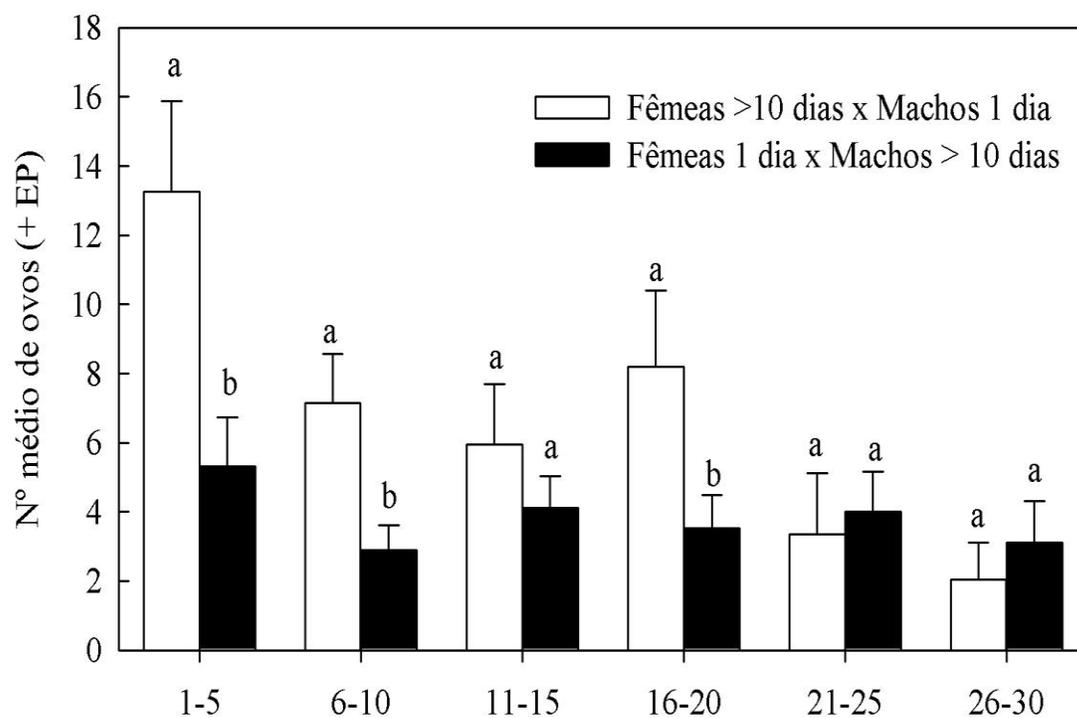


Figura 4. Número médio de ovos a cada de 5 dias. Análise de variância considerando medidas repetidas no tempo MANOVA ($F_{GL = 5, 14} = 6,94$; $P = 0,0019$). Letras distintas entre barras no mesmo intervalo possuem diferença significativa segundo teste de Tukey ($P < 0,005$).

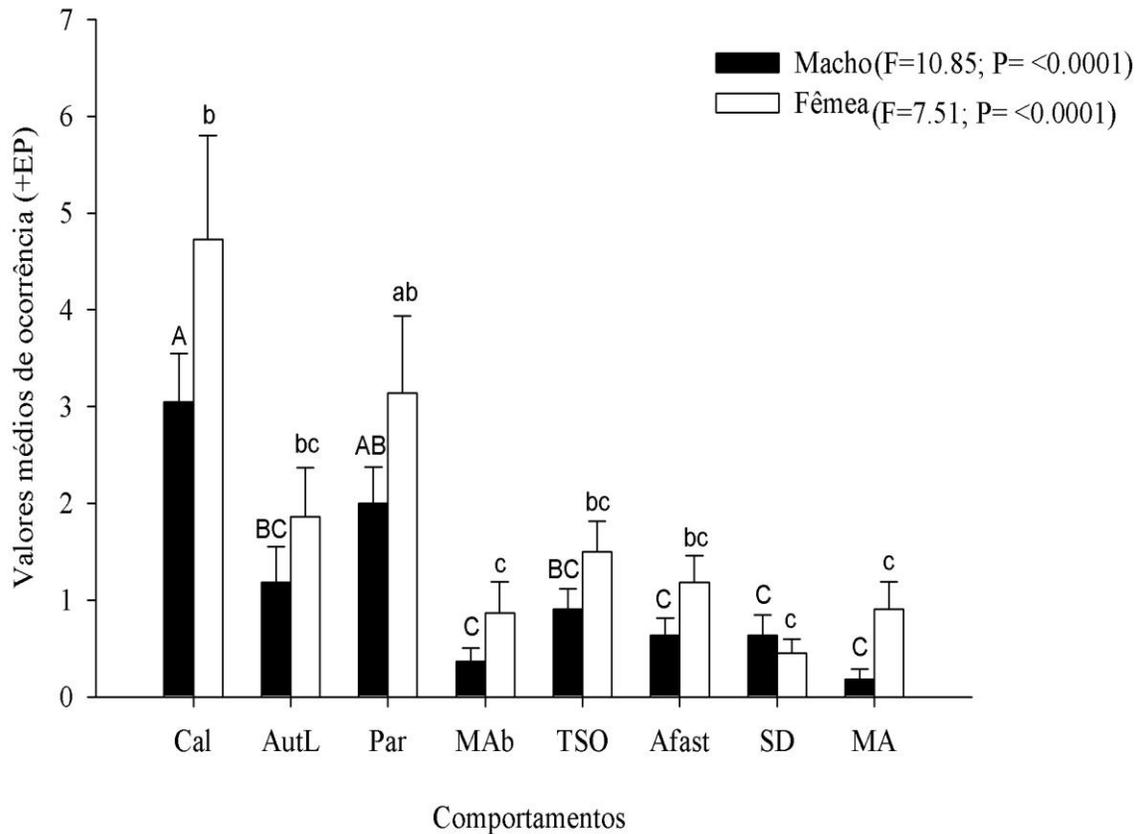


Figura 5. Valores médios de ocorrência dos comportamentos de pré-cópula em adultos de *Tenuisvlavae notata*. As siglas no eixo de X correspondem a: caminhada aleatório (CAI), autolimpeza (AutL), adulto inativo (Par), movimento do abdômen (MAb), toque no sexo oposto (TSO), sobe no dorso do sexo oposto (SD), move asas (MA), afastamento (Afast). Letras maiúsculas referem-se a comparações entre os comportamentos realizados por machos, já as minúsculas entre os comportamentos realizados por fêmeas. Letras distintas diferenciam-se estatisticamente segundo teste de Tukey ($P < 0,05$).

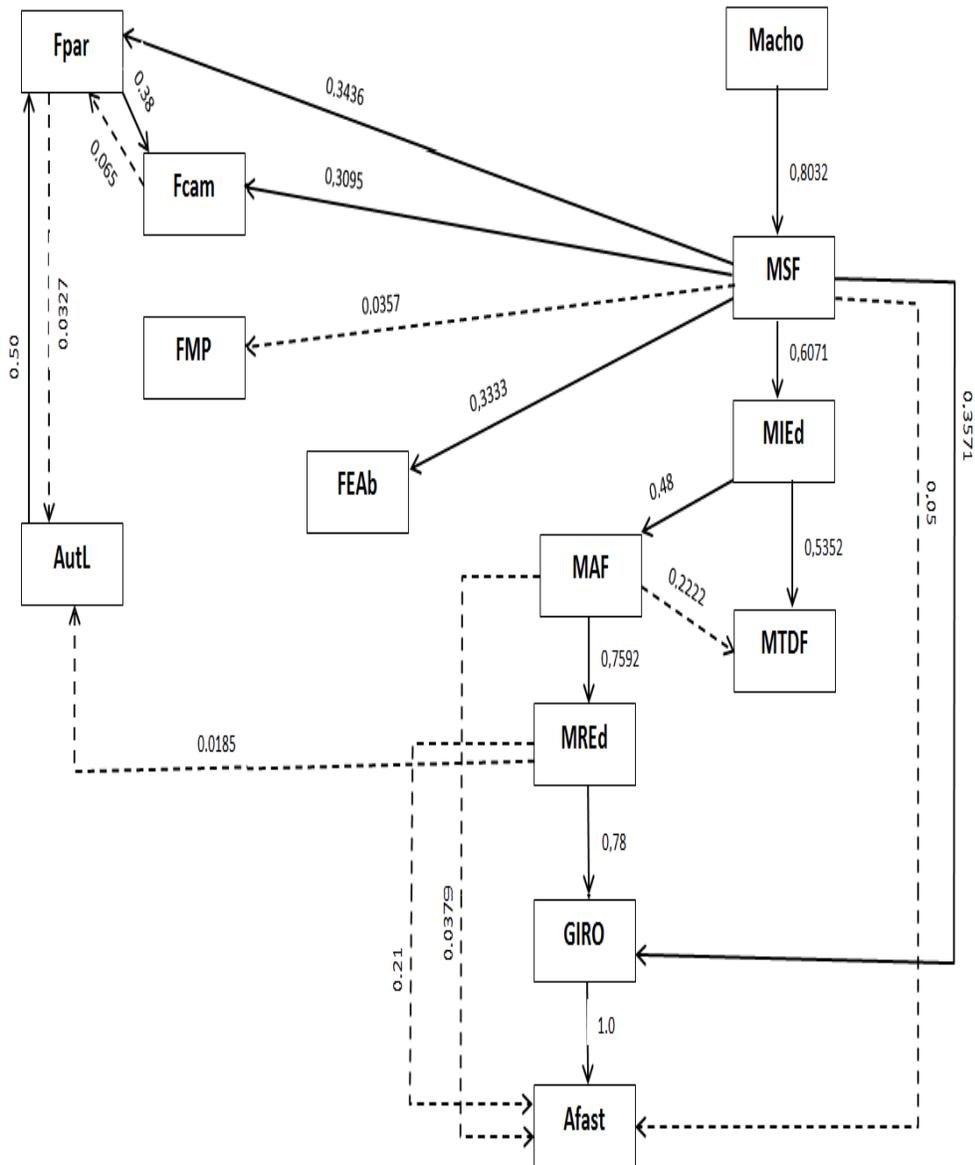


Figura 6. Etograma da sequência de comportamentos de cópula de *Tenuisvalvae notata*. Os valores representam a probabilidade de transições entre comportamentos. Setas sólidas indicam transições significativas ($P < 0,05$) e setas de linhas tracejadas transições não significativas ($P > 0,05$), sendo estas probabilidades calculadas a partir da matriz de transição. Números decimais representam a porcentagem de insetos que realizaram dado comportamento em cada categoria comportamental. Caixas representam categorias comportamentais. FMP fêmea move pernas, MSF macho sobe na fêmea, FEAb fêmea eleva abdômen, AutL indivíduo realiza autolimpeza. Códigos para as categorias comportamentais estão listados na Tabela 1. O período de latência para início da cópula propriamente dita foi de 1 hora e 54 minutos. A duração média de cópula (a partir do comportamento MIEd à MREd) foi de 84 segundos.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir deste estudo, conhecimentos antes inesplorados sobre o comportamento sexual de *T. notata* foram obtidos. Assim, concluímos que *T. notata* possui uma atividade diurna de acasalamento tendo sua maior frequência de ocorrência entre 9h da manhã e 16h da tarde, copulando em média 1,17 a 1,9 vezes por dia, com uma duração média de 84 segundos de cópula. Experimentos futuros deverão ser realizados para avaliar a influência da duração de cópula em características reprodutivas da espécie, como fecundidade e fertilidade dos ovos. E também verificar a ocorrência de competição por espermatozoides, através das múltiplas cópulas.

Após a aproximação do casal, a fêmea demonstra maior interesse em ingressar no ato sexual, apresentando algo semelhante a uma corte e por sua vez o macho uma sequência clara de comportamentos de cópula. Nesta fase, o macho sobe na fêmea, insere o edeago, toca em seu dorso com os palpos e mandíbulas e apreende-a com as pernas simultaneamente, então o macho retira o edeago e realiza giro sobre a fêmea. A caracterização detalhada destes comportamentos pode ser utilizada para facilitar a manutenção de uma criação massal destes predadores e em estratégias de controle, como por exemplo, favorecendo a multiplicação do predador em criação massal, para posteriores liberações em campo e lhe permitindo vantagens em relação à praga quando liberados.

O repertório comportamental dos adultos sugere também a ocorrência de semioquímicos envolvidos na comunicação entre os sexos, já que a fêmea mostra-se atraída pelo macho e o mesmo realiza um giro, como de marcação, após a cópula. Estudos subsequentes precisam ser

realizados para investigação desses compostos químicos influenciando o comportamento sexual de *T. notata*.