



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIA LUIZA FERRAZ DOS SANTOS

**PERÍODO DE PRÉ-OVIPOSIÇÃO ESTÁ RELACIONADO COM MATURAÇÃO
OVARIANA EM *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant 1853 (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

Recife
2022

MARIA LUIZA FERRAZ DOS SANTOS

**PERÍODO DE PRÉ-OVIPOSIÇÃO ESTÁ RELACIONADO COM MATURAÇÃO
OVARIANA EM *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant 1853 (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à coordenação do curso de
Ciências Biológicas Bacharelado da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Dr. Wendel José Teles Pontes

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Ferraz dos Santos, Maria Luiza.

PERÍODO DE PRÉ-OVIPOSIÇÃO ESTÁ RELACIONADO COM
MATURAÇÃO OVARIANA EM *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant 1853
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) / Maria Luiza Ferraz dos Santos. -
Recife, 2022.

34 : il., tab.

Orientador(a): Wendel José Teles Pontes
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2022.
Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Desenvolvimento Ovariano. 2. Período de pré-oviposição. 3.
Coccinelídeos. 4. Coleopteras. 5. *Cryptolaemus Montrouzieri*. I. Teles Pontes,
Wendel José. (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

MARIA LUIZA FERRAZ DOS SANTOS

**PERÍODO DE PRÉ-OVIPOSIÇÃO ESTÁ RELACIONADO COM MATURAÇÃO
OVARIANA EM *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant 1853 (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à coordenação do curso de
Ciências Biológicas Bacharelado da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 04 / 10 / 2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wendel José Teles Pontes / UFPE

Dr. Fábio Correia Costa / SEE-PE

Ma. Carla Helena Maciel De lima / UFRPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Wendel Teles Pontes, por aceitar ser meu orientador, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual conduziram o meu aprendizado.

As meninas, Carla Helena, Erica Souza, Rafaella Lucena e Virginia Martins que me acolheram assim que entrei no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) e sempre estiveram ao meu lado, nos cafezinhos na sala de estudos, conversas maravilhosas durante a manutenção dos bichos e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Aos docentes do curso de Ciências Biológicas Bacharelado da UFPE, pelas correções, ensinamentos e exemplos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Aos meus pais Luciana Ferraz e João Batista dos Santos, por todo o apoio a minha escolha pelo curso de biológicas. Aos meus avós Maria Jesuína Machado e Fernando Ferraz, por todo incentivo e pela ajuda, que foram fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional que muito contribuíram para a realização deste trabalho. As minhas tias Cristiane Ferraz, Fernanda Ferraz e Viviane Ferraz que me apoiam e me incentivam em todas as escolhas.

Ao meu noivo, Damião Matheus que sempre esteve presente e me apoiando mesmo quando eu duvidava que seria capaz de terminar esse projeto. Gratidão a você, que me motiva a ter força para ser sempre uma pessoa melhor em todos os âmbitos da minha vida. Agradeço todo o carinho e o companheirismo mesmo quando a gente tá longe, por todas as conversas que a gente passou horas pendurados no telefone falando sobre nossos projetos acadêmicos.

As minhas meninas, Ana Carolina, Ana Karina Marques, Cristiana Soares, Ítala Lima, Jeferson Rodrigues, Kiko Watanabe, Lais Bandeira, Luiz Paulo Rocha, Raquel Caldas, Rayssa Valentin e Sofia de Albuquerque por estarem juntinhas a mim em todos os processos da graduação. Por todo carinho e companheirismo nas sextas feiras pós

aula e pelos puxões de orelhas. Gratidão por todas as vivencias e aprendizados da vida adulta. Obrigada por tudo, foi incrível.

RESUMO

O comportamento sexual em algumas espécies de coccinelídeos pode ser influenciado por estresses ambientais, os quais podem acarretar em mudanças morfológicas das estruturas reprodutivas, alterações nos períodos reprodutivos e retardar a maturação sexual. O período de pré-oviposição é o tempo entre a emergência do adulto até a oviposição dos primeiros ovos, no qual pode ocorrer a maturação sexual. Neste estudo, investigamos se o período de pré-oviposição está intimamente relacionado ao desenvolvimento ovariano na joaninha predadora *Cryptolaemus montrouzieri*, uma vez que é desconhecido se o período de pré-oviposição influencia no desenvolvimento ovariano e conseqüentemente na maturação dos oócitos. Ainda observamos o número médio de ovariolos por ovário, as variações entre a quantidade de ovariolos dos ovários e a taxa de maturação dos oócitos de cada ovário. Para avaliar estes parâmetros, selecionamos um N=10 para cada tratamento e submetemos a um controle alimentar dividido em seis tratamentos: (i) não alimentadas; e os tratamentos de alimentação *ad libitum* por (ii) 24 horas; (iii) 48 horas; (iv) 72 horas; (v) 96 horas e (vi) 120 horas. Observamos em nossos resultados que as fêmeas recém-emergidas não possuem ovário desenvolvido. Em média, foram encontrados 10 ovariolos para cada ovário, sem diferença significativa entre o lado esquerdo e direito. A média do tempo de maturação dos óvulos entre os ovários direito e esquerdo também não apresentou diferenças significativas. Essa pesquisa indica que a alimentação no período de pré-oviposição induz a maturação ovariana em fêmeas do coccinelídeo predador *C. montrouzieri* utilizado para controle biológico de pragas agrícolas.

Palavras-chave: Desenvolvimento ovariano; Joaninha predadora; Maturação sexual; Controle Alimentar.

ABSTRACT

Sexual behavior in some coccinellid species can be influenced by environmental stresses, which can lead to morphological changes in reproductive structures, changes in reproductive periods, and delayed sexual maturation. The pre-oviposition period is the time between adult emergence until oviposition of the first eggs, during which sexual maturation can occur. In this study, we investigated whether the pre-oviposition period is closely related to ovarian development in the predatory ladybug *Cryptolaemus montrouzieri*, since it is unknown whether the pre-oviposition period influences ovarian development and consequently oocyte maturation. We also observed the average number of ovaries per ovary, the variations between the number of ovaries in the ovaries, and the maturation rate of oocytes from each ovary. To evaluate these parameters, we selected an N=10 for each treatment and subjected them to a feeding control divided into six treatments: (i) not fed; and the ad libitum feeding treatments for (ii) 24 hours; (iii) 48 hours; (iv) 72 hours; (v) 96 hours and (vi) 120 hours. We observed in our results that the newly emerged females do not have a developed ovary. On average, 10 ovarioles were found for each ovary, with no significant difference between the left and right side. The average ovarian maturation time between the right and left ovaries also showed no significant differences. This research indicates that feeding in the pre-oviposition period induces ovarian maturation in females of the predatory coccinellid *C. montrouzieri* used for biological control of agricultural pests.

Keywords: Ovarian development; Ladybird predator; Sexual maturation; Feeding control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Sistema reprodutor feminino em insetos (Gullan & Cranston, 2014). 15
- Figura 2 – Ilustração dos três tipos básicos de ovariolos. (A) Ovariolo Panoístico, (B) Ovariolo meroístico telotrófico, (C) Ovariolo Meroístico Politrófico. Nation (2008). 17
- Figura 3 – Representação das estruturas do sistema reprodutor feminino de *Cryptolaemus montrouzieri*. Adaptada de Kaufmann (1996). 18
- Figura 4 -- Os estágios de maturação dos ovários propostos por Obata (1988). 22
- Figura 5 – Frequência em (%) dos estágios de desenvolvimento de oócitos nos ovários em fêmeas de *C. montrouzieri* após diferentes períodos de alimentação com *Planococcus citri*. 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Número médio de ovariolo / fêmea (\pm S.E.) e número médio de oócitos maduros/fêmea (\pm S.E.) de <i>C. montrouzieri</i> em diferentes tempos após o adulto emergir.	24
------------	--	----

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 FORMAS DE MATURAÇÃO OVARIANA.....	12
2.2 REPRODUÇÃO DE COCCINELÍDEOS	13
2.3 DESENVOLVIMENTO OVARIANO EM COCCINELÍDEOS	15
2.4 BIOLOGIA REPRODUTIVA DE <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> Mulsant, 1853.....	17
3. OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
5. RESULTADOS	23
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

Insetos holometábolos, durante o estágio larval, seus tecidos adiposos concentram uma grande quantidade de energia a partir da ingestão de alimentos até a metamorfose (BOGGS, 1981). Esses recursos nutricionais, na fase adulta serão alocados para sua manutenção e reprodução somática (BOGGS, 2009).

O intervalo de tempo entre a emergência do adulto e a oviposição dos primeiros ovos é chamado de período de pré-oviposição (GULLAN & CRANSTON, 2014). Em coccinelídeos, há uma grande variação neste período (NEDVEK & HONEK, 2012), variando entre espécies e fatores ecológicos, como a temperatura (UYGUN & ATLIHAN, 2000) e qualidade do alimento (SUGIURA & TAKADA, 1998).

Na espécie predadora *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant 1853 (Coleoptera: Coccinellidae), a pré-oviposição apresenta variações. Kairo, (2013) revisou a literatura e relatou um intervalo entre 10 a 16 dias de pré-oviposição. Essa variação, do período de pré-oviposição, com base nas espécies de presas sugere que há um aspecto nutricional da ingestão alimentar que deve afetar a maturação dos ovários logo após a emergência dos adultos.

Com base nisso, hipotetizamos que o período de pré-oviposição em *C. montrouzieri* é por causa da ausência de ovos maduros no ovário de adultos recém-emergidos e que este período é o mínimo necessário para o desenvolvimento do ovário e maturação dos ovos após o início da alimentação do adulto. Assim, se as fêmeas se alimentam de adultos de *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) têm um período de pré-oviposição de cinco dias (MAES *et al.*, 2014), supomos que somente após cinco dias o ovário de *C. montrouzieri* estará maduro, se alimentando desta espécie de cochonilha.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FORMAS DE MATURAÇÃO OVARIANA

A ordem Insecta possui diversas estratégias reprodutivas, que influenciam na alocação de nutrientes e a forma como eles serão utilizados nas fases larvais e adulta (HUFFAKER & GUTIERREZ, 1999; BOGGS, 2009). Portanto, os nutrientes obtidos nas fases larvais podem ser usados para seu crescimento e alocação de reservas nutritivas, necessitando adquirir nutrientes na fase adulta para maturação sexual (BOGGS, 2009). Essas reservas nutritivas adquiridas na fase larval também podem ser utilizadas para o amadurecimento do aparelho reprodutor, fazendo com que emergem adultos aptos para a reprodução (DOSSI & CÔNSSOLI, 2010).

Fêmeas que precisam se alimentar na fase adulta para maturar seus oócitos podem ser beneficiadas com nutrientes como proteínas e peptídeos presentes no líquido seminal, que são transferidos durante a cópula, como um presente nupcial, fornecido pelo macho. Esses nutrientes podem ter a função de sustentar as atividades metabólicas e/ou para induzir o desenvolvimento ovariano e a maturação dos oócitos (ADAMS, 2000; LIU & KUBLI, 2003; JERVIS *et al.*, 2005). Podendo desta forma aumentar consideravelmente a receptividade ao acasalamento, o armazenamento de esperma, a largura dos ovários, o número de folículos, a carga de ovos e o número de ovos maduros (PERRY & ROWE, 2008; SHAHID *et al.*, 2016).

As diferentes formas de maturação ovariana, atua diretamente no sucesso reprodutivo da espécie (DOSSI & CÔNSSOLI, 2010). Portanto, fêmeas que possuem grande capacidade reprodutiva após emergência, depositam o maior número de ovos no início da sua vida adulta, mas tem poucas estratégias para responder a estresses do ambiente, como a disponibilidade de alimento e hospedeiro adequado. Em contrapartida, fêmeas que precisam amadurecer seus oócitos após a emergência consequentemente não conseguem ovipositar tudo de uma vez, podendo escolher a época e o local mais adequado para atingir sua melhor capacidade reprodutiva (JERVIS *et al.*, 2001; ELLERS & JERVIS, 2003).

2.2 REPRODUÇÃO DE COCCINELÍDEOS

Os coccinelídeos são predominantemente poligâmicos, fêmeas geralmente escolhem múltiplas cópulas para ter uma maior variabilidade genética em sua prole, aumentando o período de oviposição, a fecundidade e a fertilidade dos ovos (OMKAR *et al.*, 2010; OMKAR & MISHRA, 2010). A compreensão sobre os processos reprodutivos e ecológicos contribui na otimização da criação em massa dessa ordem, para o uso de controle biológico de pragas agrícolas. Yadav & Pervez (2022) em sua revisão investigou as eventualidades que envolvem o comportamento reprodutivo dos coccinelídeos e mostrou que esse comportamento se divide em três grandes fases: Pré-cópula, cópula e pós-cópula.

O comportamento pré-cópula compõe-se desde o período da maturação sexual, reconhecimento e escolha do parceiro e o comportamento de corte (YADAV & PERVEZ, 2022). Entende-se como maturação sexual o período em que os machos possuam espermatozoides maduros e as fêmeas oócitos prontos para serem fecundados. Alguns fatores bióticos como a alimentação pode induzir o desenvolvimento das gônadas influenciando na produção de oócitos maduros e na oviposição (OSAWA, 2005; HODEK *et al.*, 2012), assim como fatores abióticos como a temperatura ambiente também pode interferir no desenvolvimento ovariano, já que quanto maior a temperatura maior o consumo de presas (WANG *et al.*, 2013). A cópula pode estimular o processo de amadurecimento ovariano, como é visto em *Propylea dissecta* (Mulsant), na qual fêmeas copuladas amadureceram seus ovos dias antes do que fêmeas virgens (SHAHID *et al.*, 2016).

O reconhecimento e a escolha do parceiro ocorrem através de sinais físicos, feromônios sexuais e pela visão (OMKAR & PERVEZ, 2016). Um dos sinais físicos para o reconhecimento e escolha do parceiro são as pigmentações do élitro, como é visto em *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (AWAD *et al.*, 2015), e o tamanho do corpo. Fêmeas tem preferência por machos maiores por parecerem mais saudáveis e bem alimentados (XIE *et al.*, 2015). Os feromônios sexuais são liberados pelas fêmeas por hidrocarbonetos de cutícula (HC) que aumentam com a proximidade do macho, por ser um sinal forte, há casos de machos que tentaram copular com fêmeas mortas de *P. dissecta* apenas pela presença desses hidrocarbonetos (OMKAR & PERVEZ, 2005).

O comportamento de corte compreende várias estratégias onde os machos jovens tentam atrair as fêmeas para aumentar sua probabilidade de acasalamento (PERVEZ, 2022). Como por exemplo, Machos de *P. dissecta* abraçam as fêmeas antes de montar para copular (OMKAR & PERVEZ, 2005), machos e fêmeas de *Anegleis cardoni* (Weise, 1892), por sua vez, fazem movimentos rítmicos de giros em direção ao seu parceiro antes da tentativa de cópula (OMKAR *et al.*, 2013), já machos de *Tenuisvalvae notata* (Mulsant) segura com sua mandíbula e seus palpos o dorso da fêmea fazendo movimentos de torção (dos SANTOS *et al.*, 2017). Presentes nupciais também podem ser dados nessa fase, como um pouco de sua hemolinfa que é secretada pelas articulações como forma de alimentação em *Harmonia dimidiata* (Fabricius) (MONALISA *et al.*, 2020).

O comportamento de cópula consiste em três momentos: o ato da cópula, sua duração, seus custos e consequências (YADAY & PERVEZ, 2022). O ato da cópula começa a partir do contato do edéago com a vagina, esse processo garante que o macho deposite seu esperma na fêmea (YADAY & PERVEZ, 2022). A duração da cópula está relacionada com a transferência completa do ejaculado e, se interrompido, pode comprometer a fecundidade e fertilidade como ocorre em *C. montrouzieri* (De LIMA *et al.*, 2022), esse tempo pode variar de acordo com a espécie, idade, parentesco com o parceiro, temperatura ambiente, fotoperíodo e disponibilidade de alimento (SEIEDY & FAGHIHI, 2022). Os custos e consequências ocorrem geralmente nos machos, porque para possuírem espermatozoides maduros o mais rápido possível, o seu tamanho corporal e sua longevidade são comprometidos para alocar suas reservas nutricionais na produção de esperma, tendo como consequência o encurtamento do tempo de sua vida adulta (YASUDA & DIXON, 2002; MISHRA & OMKAR 2006).

O comportamento pós-cópula muda de acordo com o sexo e é dividida em duas fases: o comportamento de guarda e sua saída reprodutiva (YADAV & PERVEZ, 2022). A guarda, é uma forma do macho garantir que a fêmea recebeu espermatozoides para assegurar sua paternidade e para evitar que ela copule com outros machos como é visto em *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius, 1781) (CHAUDHARY *et al.*, 2017, 2018), a disponibilidade de alimento interfere bastante nesse comportamento uma vez que os machos bem alimentados possuem guardas mais eficazes (CHAUDHARY *et*

al., 2018). A saída reprodutiva é o termo usado para observar se a cópula foi efetiva em relação a fecundidade, período de oviposição e fertilidade dos ovos (YADAV & PERVEZ, 2022). A fecundidade pode variar de acordo com a escolha do parceiro e da disponibilidade de alimento, e de acordo com cada espécie, como por exemplo, *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) que possui a maior fecundidade, já registrada, tendo em média a oviposição de 2.497 ovos (AWAD *et al.*, 2015).

2.3 DESENVOLVIMENTO OVARIANO EM COCCINELÍDEOS

O sistema reprodutor feminino dos coccinelídeos é formado por um par de ovários, que se conectam com ovidutos laterais fundindo-se em um oviduto comum, que se estende até uma câmara genital onde estão conectados as glândulas acessórias e o receptáculo seminal (SILVA, 2020) (Fig.1). Os ovários são de origem endodérmica e são formados por um conjunto de túbulos cilíndricos com os filamentos terminais afilados, chamados de ovaríolos, onde os oócitos são desenvolvidos em sequência (NATION, 2022). Cada ovaríolo é protegido por uma membrana chamada túnica, que é segmentada em regiões que possuem funções diferentes, são elas: o filamento terminal; o germário; o vitelário; e o pedicelo (KLOWDEN, 2013).

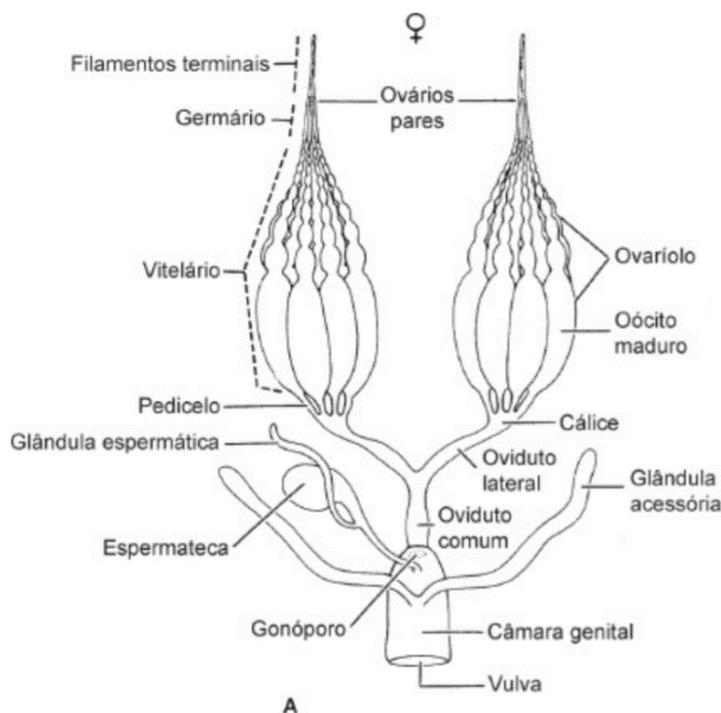


Figura 1. Sistema reprodutor feminino em insetos (Gullan & Cranston, 2014).

O filamento terminal, é a extremidade superior do ovaríolo, formado por um cordão de células que constituem um ligamento suspensório que tem a função de manter os ovários em posição (KOVAR, 2013). Esse ligamento pode ficar preso ao corpo pela camada de lipídeos ou soltas pela cavidade peritoneal (KOVAR, 2013). Abaixo do filamento terminal, está o germário, que é a região onde estão as células germinativas (oogônios) em estado de divisão (MAFFEI *et al.*, 2001). Em seguida é apresentada a zona de crescimento, que é chamada de vitelário, onde os oogônios se transformam em oócitos, através das células nutrizas (MAFFEI *et al.*, 2001). Por fim, vem o pedicelo, extremidade anterior dos ovaríolos, com anatomia dilatada conectando-se com o cálice (KOVAR, 2013).

Dependendo da presença ou ausência das células nutrizas e sua localização quando presente, os ovaríolos podem ser classificados em: Panoístico e meroístico, que se subdivide em politrófico e telotrófico (PRASTISSOLI *et al.* 2010) (Fig. 2). Os ovaríolos panoísticos não contém as células nutrizas, possuindo sua nutrição através do epitélio folicular que é diretamente absorvida pelos oócitos. Já os ovaríolos meroísticos, apresentam células nutrizas, sendo classificado em politróficos e telotróficos, pela posição dos trofócitos (células que envolvem os oócitos, que geram nutrientes para seu desenvolvimento) (NATION, 2002). Os ovaríolos politróficos, contém uma alternância entre os oócitos e as células trofócitos. Já os ovaríolos telotrófico as células trofócitos localizam-se acima dos oócitos no vitelário e nutrem os oócitos através de um cordão citoplasmático (KLOWDEN, 2013).

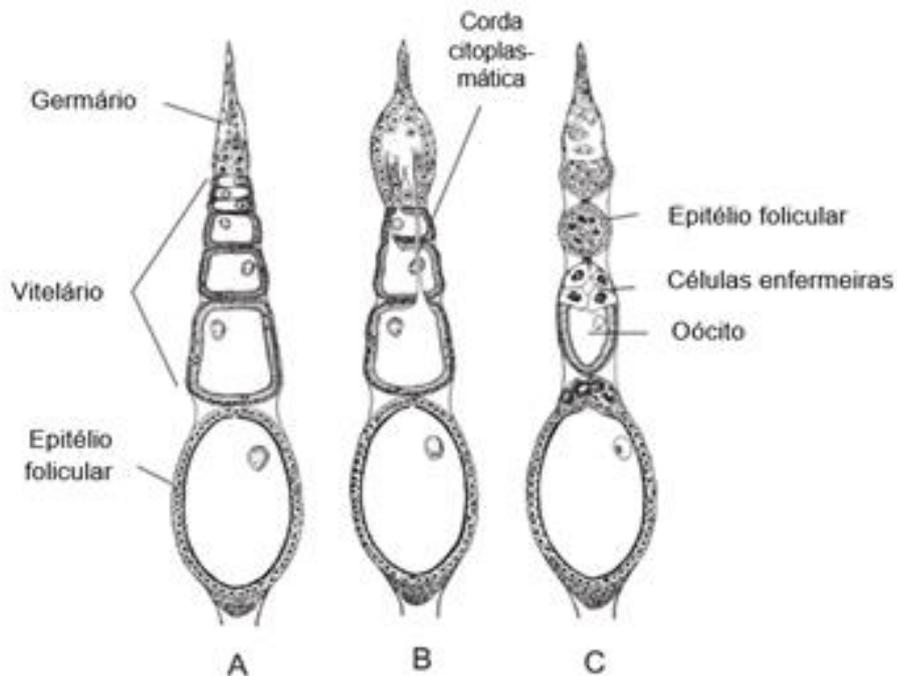


Figura 2: Ilustração dos três tipos básicos de ovariolos. (A) Ovariolo Panoístico, (B) Ovariolo meroístico telotrófico, (C) Ovariolo Meroístico Politrófico (NATION, 2008).

Os ovariolos dos coccinelídeos são classificados como meroísticos telotróficos, através do cordão citoplasmático as células nutrízes vão preencher os oócitos de nutrientes e principalmente de proteínas (KLOWDEN, 2013). O desenvolvimento ovariano por ser altamente dinâmico pode enfrentar variações como a reabsorção ovariana por falta de recursos alimentares (PAPAJ, 2000). A reabsorção dos oócitos ocorre pelas células nutrízes como resposta a falta de recursos alimentares, aumentando a sobrevivência da fêmea para que ela tenha tempo hábil de encontrar uma nova fonte de nutrientes (OSAWA, 2005).

2.4 BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853

A espécie *Cryptolaemus montrouzieri* foi um dos primeiros predadores utilizado no controle de diferentes insetos-praga (SOLANGI *et al.*, 2012) como alternativa ao uso de defensivos químicos (SANCHES *et al.*, 2011). Proveniente da Austrália, a joaninha predadora, foi introduzida em vários países como América do Norte, Central e do Sul, Caribe, Europa, África, Ásia e Oceania (KAIRO *et al.*, 2013) em plantações

de importância econômica como os pomares de frutas, citros, vinhedos, plantações (KAIRO *et al*, 2013) de café e tabaco (MAES *et al.*, 2014) além de plantas ornamentais (ATTIA & EL-ARNAOUTY, 2007) e medicinais (MANI & KRISHNAMOORTHY, 2016).

Kaufmann (1996) descreve minuciosamente o sistema reprodutor feminino de *C. montrouzieri* (Fig. 3) e demonstra que ele é formado por um par de ovários, que se conectam com ovidutos laterais. Estes se convergem formando o oviduto comum, que se estende até a vagina que é conectada ao receptáculo seminal. O receptáculo seminal por sua vez, é o local no qual o edéago é introduzido durante a cópula, ele possui um formato de saco e em seu ápice possui uma espermateca em formato de feijão quitinizada de cor amarelo-dourado, onde os espermatozoides ficam armazenados após a cópula, para garantir a fecundação dos oócitos por dias. A espermateca possui uma glândula de formato tubular, com função de bombear o líquido seminal e o esperma que é transportado da espermateca até o óvulo acoplado no receptáculo para sua fertilização.

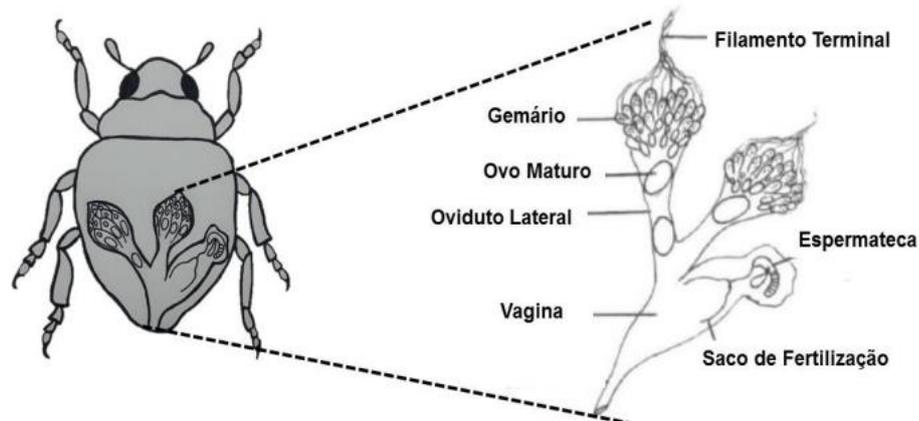


Figura 3. Representação das estruturas do sistema reprodutor feminino do coccinélídeo *C. montrouzieri*. Ilustração adaptada de Kaufman 1996.

O dimorfismo sexual da espécie é observado através da coloração do fêmur no primeiro par de pernas localizado no protórax, onde os machos podem variar entre o amarelo âmbar e alaranjado e nas fêmeas é totalmente preto (PANG & GORDON, 1986). Atingem a maturidade sexual de dois a sete dias após emergir o adulto (SANCHES & CARVALHO, 2010). É considerada uma espécie promíscua, pois as fêmeas copulam frequentemente após a maturidade sexual podendo estocar espermatozoides de três a quatro machos em sua bolsa espermática (KAIRO, 2013).

Esse comportamento que leva a ter cópulas múltiplas e frequentes, favorece e mantém a população de *C. montrouzieri* geneticamente diversificada (KAUFMANN, 1996).

A fecundidade média de uma fêmea pode variar de 211 a 811 ovos por fêmea com viabilidade de 62%, (KAIRO, 2013). Essa variação ocorre por que a quantidade e o tempo de cópulas em *C. montrouzieri* é um fator determinante para a fecundidade e fertilidade, fêmeas que tiveram cópulas interrompidas entre 8 e 16 minutos ovipositaram ovos inférteis porque só há liberação de espermatozoides com cerca de 30 minutos de cópula, sendo assim uma cópula para ser fértil e completa tem que durar em média 30 minutos nesta espécie (De LIMA *et al.*, 2022). Com uma única cópula a fêmea pode ovipositar diariamente em um ritmo lento em até 30 dias, mas quando pareada com um macho, as oportunidades de cópulas e a frequência aumentam, conseqüentemente o número da carga de ovos na oviposição é significativamente maior (JAYANTHI *et al.*, 2013).

O período de pré-oviposição é a fase após a emergência do adulto onde vai haver maturação sexual, em *C. montrouzieri* tem em média 5,3 dias, mas esse período de maturação pode variar de acordo com o tipo de alimentação (Rocha *et al.*, 2010). Marques *et al.*, 2015 investigaram a sobrevivência, o ciclo biológico e a reprodução de *C. montrouzieri* com quatro formas de alimentação: Apenas a cochonilha *Ferrisia dasyliirii* (Cockerell, 1896); *F. dasyliirii* e mel; *F. dasyliirii* e pólen; apenas pólen e por último em jejum. Com a finalidade de saber se o mel e o pólen podem servir como fonte de carboidratos e proteínas em períodos de escassez de cochonilhas.

Fêmeas alimentadas com cochonilhas tiveram longevidade maior, já fêmeas que tiveram uma alimentação mista com cochonilha e mel, tiveram a longevidade média muito próxima as alimentadas apenas com *F. dasyliirii*. No entanto, fêmeas alimentadas com cochonilha e pólen tiveram longevidade menor que apenas cochonilha e cochonilha e mel, mas foi superior as fêmeas alimentadas apenas com pólen e em jejum (MARQUES *et al.*, 2015). Também foi observado que a fecundidade, a taxa de oviposição e a fertilidade de *C. montrouzieri* foi maior em fêmeas alimentadas apenas da cochonilha e complementada com mel do que o tratamento com cochonilha e pólen. Concluindo que o consumo de pólen junto a cochonilha pode prejudicar a fecundidade de *C. montrouzieri*.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o tempo de maturação ovariana em *Cryptolaemus montrouzieri* alimentadas com a cochonilha *Planococcus citri*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Investigar o número médio de ovariolos por ovário.
- b) Verificar a quantidade de ovariolos do lado esquerdo e direito do ovário.
- c) Observar se há assimetria na maturação dos oócitos do ovário direito e esquerdo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com espécimes de *C. montrouzieri* criados no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA), do departamento de Zoologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sob as condições de temperatura e umidade controladas ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$, U.R $70\% \pm 5$) e fotofase de 12 horas, que também foram as condições durante o experimento. A colônia da *C. montrouzieri* foi mantida em uma gaiola de criação (30 x 40 x 50 cm) telada com voil, para facilitar as trocas gasosas e como alimento principal foi oferecido a cochonilha *Planococcus citri* criadas em abóboras da variedade “jacarezinho” (*Cucubita moschata*) obtidas comercialmente.

Foram coletadas, da criação do LEA, pupas e individualizadas em placas de petri (6,0 cm x 1,5 cm) de poliestireno cristal (PC) forradas com papel filtro e tampadas com papel filme vazado para permitir as trocas gasosas. Após a emergência, os adultos foram sexados e todas as fêmeas foram alocadas em placas de petri contendo um algodão embebido em água mineral para a realização dos bioensaios com N=10 para cada tratamento.

Para analisar se a alimentação na fase adulta é importante para a maturação dos ovários em *C. montrouzieri*. Fêmeas foram expostas aos seguintes tratamentos: 1) não alimentadas, 2) alimentação *Ad libitum* por 24 horas, 3) alimentação *Ad libitum* por 48 horas, 4) alimentação *Ad libitum* por 72 horas, 5) alimentação *Ad libitum* por 96 horas, 6) alimentação *Ad libitum* por 120 horas.

Em seguida, os indivíduos foram congelados e dissecados, seus ovários foram removidos e os ovaríolos foram classificados de acordo com a descrição dos cinco estágios de maturação do desenvolvimento ovariano proposta por Obata (1988) e de acordo com a metodologia de forma e cor proposta por Osawa (2005).

Os estágios de maturação dos ovários propostos por Obata (1988) e Osawa (2005) (fig. 4) utilizam a seguinte descrição: Estágio 0: ausência de oócitos nos ovaríolos; Estágio 1: um oócito no ovaríolo; Estágio 2: dois oócitos esbranquiçados no ovaríolo; Estágio 3: dois oócitos em um ovaríolo, com o basal preenchido com gema; Estágio 4: o oócito basal com tamanho máximo; Estágio 5: ovaríolos com oócitos maduros.

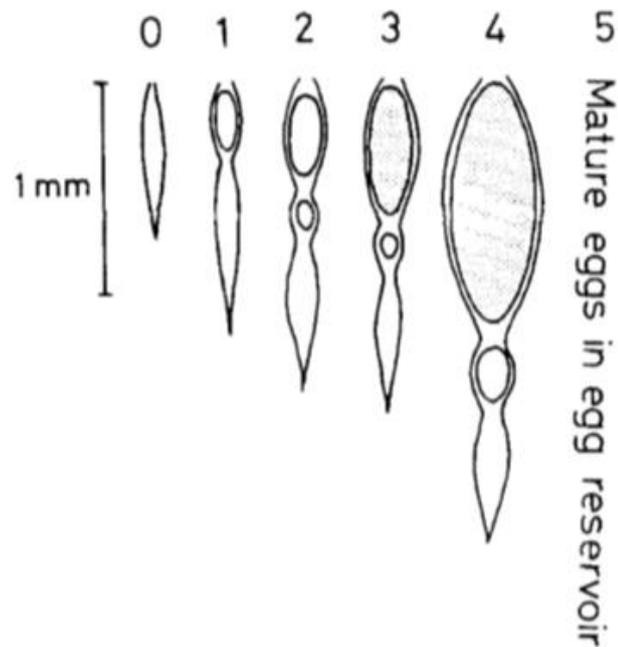


Figura 4: Os estágios de maturação dos ovários propostos por Obata (1988).

Para analisar se há assimetria na quantidade e desenvolvimento dos ovários direito e esquerdo, os dados foram primeiramente testados para normalidade com teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variâncias com teste de Bartlett. O número de ovários esquerdo e direito foi comparado em cada fêmea, diariamente, a fim de verificar se há diferença significativa em números ao longo dos dias. Para isso foram utilizados Modelos Lineares Generalizados (GLM), com distribuição de Poisson, para dados de contagem. Para avaliar a assimetria na maturação dos ovários, comparamos o número de óvulos maduros encontrados nos ovários esquerdo e direito em cada fêmea dia após dia. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico R (Versão 4.1.3)

5. RESULTADOS

Fêmeas recém-emergidas de *C. montrouzieri* não possuem ovário desenvolvido (Fig. 5). Os primeiros ovos maduros foram encontrados apenas no terceiro dia após a emergência dos adultos, em pequenas quantidades. No entanto, apenas no quinto dia temos um grande número de ovos maduros, permanecendo constante no sexto dia seguinte, confirmando nossa hipótese de que o período de pré-oviposição está intimamente relacionado com o tempo necessário para a maturação ovariana, quando alimentadas com fêmeas adultas de *P. citri*.

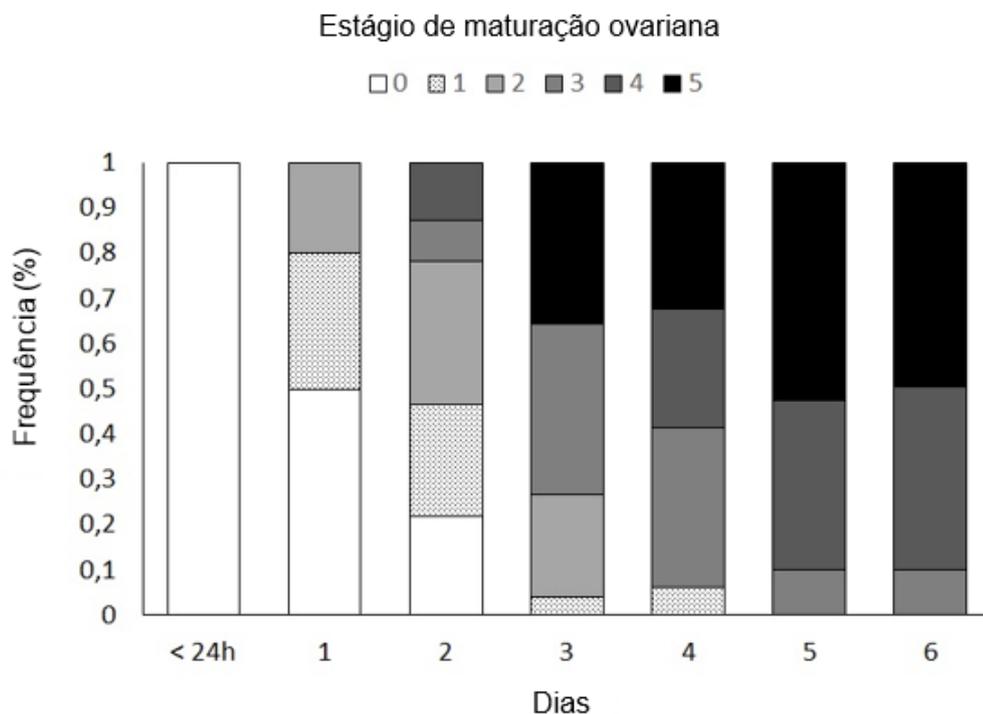


Figura 5. Frequência em (%) dos estágios de desenvolvimento de oócitos nos ovários em fêmeas de *C. montrouzieri* após diferentes períodos de alimentação com *P. citri*.

O número médio de ovariolos de *C. montrouzieri* é em torno de 10 em cada lado do ovário, sem diferença significativa entre o lado esquerdo e direito ($F=1,107$, $df=1$, $p=0,294$) (Tabela1). Esse número permanece constante ao longo do tempo, de forma que não há diferenças quando comparado ao número de ovariolos direito e esquerdo ao longo dos dias ($F=3,293$, $df=1$, $p=0,071$). Ao comparar a taxa de maturação dos oócitos em cada lado do ovário, não há diferença significativa entre o lado esquerdo e direito em cada dia ($\chi^2=530,24$, $df=1$, $p=0,96$).

Tabela 1. Número médio de ovariolos/fêmea (\pm S.E.) e número médio de oócitos maduros/fêmea (\pm S.E.) de *C. montrouzieri* em diferentes tempos após o adulto emergir.

Tempo após adulto emergir (dias)	Número médio de ovariolos/fêmea (\pm S.E.)		Número médio de oócitos maduros/fêmea (\pm S.E.)	
	Esquerda	Direita	Esquerda	Direita
< 24h	10,0 \pm 0,44 aA	9,8 \pm 0,51 aA	0	0
1	8,9 \pm 0,48 aA	9,0 \pm 0,51 aA	0	0
2	9,2 \pm 0,66 aA	9,2 \pm 0,66 aA	0	0
3	10,5 \pm 0,63 aA	9,9 \pm 0,45 aA	3,0 \pm 1,52 A	3,0 \pm 1,52 A
4	10,5 \pm 0,45 aA	10,0 \pm 0,39 aA	3,0 \pm 1,52 A	3,0 \pm 1,52 A
5	10,7 \pm 0,59 aA	9,9 \pm 0,34 aA	7,2 \pm 1,58 A	7,2 \pm 1,56 A
6	9,8 \pm 0,35 aA	9,8 \pm 0,35 aA	8,8 \pm 1,08 A	9,7 \pm 0,52 A

^aMédia \pm S.E com as mesmas letras minúsculas na linha e letras maiúsculas na coluna não indicam diferença significativa ($p > 0,05$)

6. DISCUSSÃO

Fêmeas recém-emergidas de *C. montrouzieri* não apresentam ovário desenvolvido, sugerindo que os recursos nutricionais para o desenvolvimento ovariano só serão alocados na idade adulta. Normalmente existem duas fontes de energia que contribuem para o desenvolvimento de órgãos reprodutivos em insetos adultos. A primeira é a realocação de nutrientes dos tecidos de armazenamento, como o corpo gorduroso, obtidos durante a fase larval e alocados apenas para os órgãos reprodutivos após a o estágio de pupa (BOGGS, 1992). A segunda é que o recurso para reprodução precisa ser obtido de uma alimentação na fase adulta (BOGGS, 2009).

Sabe-se que a maturação do ovo é desencadeada pelo hormônio e peptídeos juvenis a medida que a fêmea envelhece (BOGGS, 1981). No entanto, ainda não foi estudado se o desencadeamento dos hormônios que estimulam o desenvolvimento ovariano e a maturação dos óvulos é dependente ou independente da qualidade dos alimentos. Nossos resultados sugerem que a alimentação e em conjunto com a qualidade desse alimento é um passo fundamental que pode iniciar a cadeia hormonal responsável pela maturação dos ovos.

O número de ovariolos em coccinelídeos geralmente está relacionado ao tamanho do corpo (NEDVEK & HONEK, 2012) e em várias espécies de *Scymnus* como *Scymnus frontalis* (Fabricius, 1787), gênero intimamente relacionado ao *Cryptolaemus*, o número de ovariolos é em torno de 10 a 12 (GIBSON *et al.*, 1992) muito semelhante do número encontrado em *C. montrouzieri* em nossos resultados.

Em nosso estudo, não ocorreu assimetria no desenvolvimento ovariano de *C. montrouzieri*. As assimetrias no desenvolvimento ovariano foram encontradas em coccinelídeos, como *E. viginti octa maculata* (Kurihara 1975) e *Harmonia axyridis* (OSAWA, 2005). O desenvolvimento ovariano assimétrico tem sido sugerido como uma resposta à intermitência da disponibilidade de presas para joaninhas predadoras (OSAWA, 2005). Fêmeas de *H. axyridis* quando submetidas a condições de fome apresentaram maior taxa de assimetria na reabsorção ovariana em comparação com os bem alimentados (OSAWA, 2005). No entanto, para *H. axyridis* mesmo as fêmeas

totalmente alimentadas também apresentaram algum grau de assimetria, o que não ocorre com *C. montrouzieri* alimentando-se de *P. citri*.

A presença de machos é um fator que afeta o desenvolvimento ovariano em coccinelídeos. Fêmeas de *P. dissecta* amadureceram os ovos mais rapidamente após o acasalamento do que as virgens porque os machos são capazes de transferir substâncias que estimulam o desenvolvimento ovariano (MISHRA *et al.*, 2016). Em *C. montrouzieri*, as fêmeas aumentam a fecundidade após múltiplas cópulas (JAYANTHI *et al.*, 2014), o que explica o aumento da fecundidade de fêmeas pareadas com machos em comparação com fêmeas com uma única oportunidade de acasalamento (De Lima, 2022), apoiando a hipótese de que os machos podem influenciar a fecundidade feminina através da cópula. O papel dos machos e da qualidade alimentar no desenvolvimento ovariano são duas hipóteses não mutuamente exclusivas que devem ser testadas.

Embora haja uma grande quantidade de dados sobre a duração do período de pré-oviposição em coccinelídeos. Uma hipótese é que o período de pré-oviposição é um tempo necessário para a ingestão de alimentos e alocação de recursos para a maturação dos órgãos reprodutivos após a idade adulta. Por exemplo, em *Brumoides foudrasii* (Mulsant), fêmeas alimentadas apenas com alimentação alternativa pós emergência não evoluíram ovos maduros em comparação com fêmeas alimentadas com cochonilhas (de LIMA *et al.*, 2020). Em *Propylea dissecta* (Mulsant), a experiência de acasalamento da fêmea afeta fortemente a maturação do ovário, apesar da idade também desempenhar um papel importante, de forma que mesmo as fêmeas sendo virgens vão desenvolver ovos maduros à medida que envelhecem (SHAID *et al.*, 2016).

Nossos resultados dão suporte à hipótese de que o desenvolvimento ovariano é dependente da qualidade da alimentação dos adultos, e o fato de que a alimentação dos adultos é necessária para o desenvolvimento ovariano caracteriza esta espécie como *income breeder*, ou seja, durante o estágio de pupa não há alocação de recursos para o amadurecimento do sistema reprodutivo, fazendo com que os adultos precisem se alimentar para amadurecer seus oócitos (TAMMARU *et al.*, 1996).

A qualidade dos alimentos é bem conhecida por afetar a reprodução em coccinelídeos (GIORGI, 2009). Para *C. montrouzieri*, há uma grande variedade de presas que não dão suporte à reprodução (Kairo et al 2013), e alimentos alternativa pois mel ou pólen não aumentam sua produção reprodutiva (Marques *et al.*, 2015). Embora o alimento sem presas seja uma fonte usada para uma dieta artificial que pode apoiar a manutenção somática e a reprodução de *C. montrouzieri* em pelo menos duas gerações (XIE *et al.*, 2015) quando adicionados com alguma proteína derivada de presas, como ovos de *Ephestia kuehniella* a maturação dos órgãos reprodutivos parece estar comprometida, com atraso no período de pré-oviposição (XIE *et al* 2015).

7. CONCLUSÃO

Fêmeas recém-emergidas de *C. montrouzieri* não têm ovários desenvolvidos, o período de pré-oviposição de cinco dias após a emergência é o tempo necessário para o desenvolvimento completo dos ovários e maturação dos ovos quando alimentadas com fêmeas adultas de *P. citri* e na ausência de machos. O número de ovariolos nesta espécie é de 10 em cada lado do ovário, e o desenvolvimento desse ovário não é assimétrico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, T. S. Effect of diet and mating status on ovarian development in a predaceous stink bug *Perillus bioculatus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 93(3), 529-535, 2000.
- ATTIA, A. R., & El-Arnaouty, S. A. Use of the coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant against the striped mealybug, *Ferrisia virgata* (Ckll.) on the ornamental plant, *Agalypha macrophylla* in Egypt. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, 17(1/2), 71-76, 2007.
- AWAD, M., LAUGIER, G. J., LOISEAU, A., & NEDVĚD, O. Unbalanced polyandry in wild-caught ladybirds *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Appl Entomol Zool** 50:427–434, 2015.
- BALAKRISHNAN, M. M., Kumar, P. V., & Govindarajan, T. S. *Cryptolaemus montrouzieri*: comparison of life cycle on *Chloropulvinaria psidi* and *Planococcus citri*. **Journal of Coffee Research**, 17(1), 59-61, 1987.
- BOGGS, C. L. Nutritional and life-history determinants of resource allocation in holometabolous insects. **The American Naturalist**, 117(5), 692-709, 1981.
- BOGGS, C. L. Resource allocation: exploring connections between foraging and life history. **Functional Ecology**, 6(5), 508-518, 1992.
- BOGGS, C. L. Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. **Functional Ecology**, 23(1), 27-37, 2009.
- BRANDT, D. M., JOHNSON, P., HESLER, L., & LOSEY, J. Diet based fitness variability of *coccinella novemnotata* (coleoptera: coccinellidae). **In Proceedings of the South Dakota Academy of Science** (Vol. 90).
- CHAUDHARY. D. D., MISHRA. G., OMKAR, S. K. S., Influence of food availability on mate-guarding behaviour of ladybirds. **Bull Ent Res** 108:800– 806, 2018.
- DE LIMA, C. H., NOBREGA, R. L., FERRAZ, M. L., & PONTES, W. J. Mating duration and spermatophore transfer in *Cryptolaemus montrouzieri* (Coccinellidae). **Biologia**, v. 77, n. 1, p. 149-155, 2022.

DE LIMA, MAURICIO SILVA; PONTES, WENDEL JOSÉ TELES; DE LUCENA NÓBREGA, RAFAELLA. Pollen did not provide suitable nutrients for ovary development in a ladybird *Brumoides foudrasii* (Coleoptera: Coccinellidae). **Diversitas Journal**, 5(3), 1486-1494, 2020.

DOS SANTOS, E. A., SILVA-TORRES, C. S., BARBOSA, P. R., TORRES, J. B., & BLASSIOLI-MORAES, M. C. Sexual behavior in ladybird beetles: Sex with lights on and a twist for *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Behav Process** 144:93–99, 2017.

DOSSI, F. C., & CÔNSOLI, F. L. Desenvolvimento ovariano e influência da cópula na maturação dos ovários de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Neotropical Entomology**, 39, 414-419, 2010.

ELLERS, J., & JERVIS, M. Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps. **Oikos**, 102(1), 164-172, 2003.

EVANS, E. W., & DIXON, A. F. G. Cues for oviposition by ladybird beetles (Coccinellidae): response to aphids. **The Journal of Animal Ecology**, 1027-1034, 1986.

GHORBANIAN, S., AGHDAM, H. R., GHAJARIEH, H., & MALKESHI, H. Life cycle and population growth parameters of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col.: Coccinellidae) reared on *Planococcus citri* (Risso)(Hem.: Pseudococcidae) on coleus. **Journal of the Entomological Research Society**, 13(2), 53-53, 2011.

GIBSON, ROBERTA L.; ELLIOTT, NORMAN C.; SCHAEFER, PAUL. Life history and development of *Scymnus frontalis* (Fabricius)(Coleoptera: Coccinellidae) on four species of aphid. **Journal of the Kansas Entomological Society**, p. 410-415, 1992.

GIORGI, J. A., VANDENBERG, N. J., MCHUGH, J. V., FORRESTER, J. A., ŚLIPIŃSKI, S. A., MILLER, K. B. & WHITING, M. F. The evolution of food preferences in Coccinellidae. **Biological control**, v. 51, n. 2, p. 215-231, 2009.

GOSALWAD, S. S., BHOSLE, B. B., WADNERKAR, D. W., ILYAS, M., & KHAN, F. S. Biology and feeding potential of *Cryptolaemus montrouzieri* mulsant (Coccinellidae:

Coleoptera) on *Maconellicoccus hirsutus* and *Phenacoccus solenopsis*. ***Journal of Plant Protection and Environment***, 6(2), 73-77, 2009.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P.S. ***Insetos: Fundamentos da Entomologia***. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora ROCA, 2014. p. 1-436.

HODEK, I., HONEK, A., & VAN EMDEN, H. F. (Eds.). (2012). Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae). **John Wiley & Sons**.

HODEK, I., HONEK, A., & VAN EMDEN, H. F. Ecology and behavior of the ladybird beetles (Coccinellidae). Wiley-Blackwell, **West Sussex, U.K**, p 531, 2012.

HUFFAKER, C. B., & GUTIERREZ, A. Ecological Entomology, **Jhon Wiley & Sons. Inc., USA**, 1999.

JAYARAMAN, V., CHANDRAMOHAN, N., GOPALAN, M., & BALASUBRAMANIAN, G. Predatory potential of coccinellid beetles on mealybugs of citrus and grapevine. **Madras Agricultural Journal**, 75(1-2), 77-78, 1988.

JERVIS, M. A., BOGGS, C. L., & FERNS, P. N. Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. ***Ecological Entomology***, 30(4), 359-375, 2005.

JERVIS, M. A., HEIMPEL, G. E., FERNS, P. N., HARVEY, J. A., & KIDD, N. A. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. ***Journal of Animal Ecology***, 70(3), 442-458, 2001.

JIAQIN, X., YUHONG, Z., HONGSHENG, W., PING, L., CONGSHUANG, D., & HONG, P. Effects of mating patterns on reproductive performance and offspring fitness in *Cryptolaemus montrouzieri*. ***Entomologia Experimentalis et Applicata***, 153(1), 20-23, 2014.

KAIRO, M. T. K., PARAISO, O., GAUTAM, R. D., & PETERKIN, D. D. *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant)(Coccinellidae: Scymninae): a review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. **CAB Rev**, 8(005), 1-20, 2013.

KAMALA JAYANTHI, P. D.; SANGEETHA, P.; VERGHESE, Abraham. Study of inheritance of feeding potential in natural populations of predatory coccinellid *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant using isofemale strains. **Journal of genetics**, v. 93, n. 1, p. 113-122, 2014.

KAMALA, P. D., SANGEETHA, P., & VERGHESE, A. Study of inheritance of feeding potential in natural populations of predatory coccinellid *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant using isofemale strains. **Journal of genetics**, 93(1), 113-122, 2014.

KAUFMANN, T. Dynamics of sperm transfer, mixing, and fertilization in *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) in Kenya. **Annals of the Entomological Society of America**, 89(2), 238-242, 1996.

KLOWDEN, MARC J. Physiological systems in insects. **Academic press**, 2013.

KOVAR, HODEK, I., & HONĚK, A. Ecology of coccinellidae (Vol. 54). **Springer Science & Business Media**. Cap. 1, 2013.

LIU, H., & KUBLI, E. Sex-peptide is the molecular basis of the sperm effect in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 100(17), 9929-9933, 2003.

MAES, S., GRÉGOIRE, J. C., & DE CLERCQ, P. Prey range of the predatory ladybird *Cryptolaemus montrouzieri*. **BioControl**, 59(6), 729-738, 2014.

MAFFEI, E., FRAGOSO, D., POMPOLO, S. & Serrão, J. Morphological and Cytogenetical Studies On the Female and Male Reproductive Organs of *Eriopis connexa* Mulsant (Coleoptera, Polyphaga, Coccinellidae). **Netherlands Journal of Zoology**, 5, 483-496, 2001.

MALI, A. K., & JEEVAN, S. K. Biological studies on coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. of grapevine mealy bug, *Maconellicoccus hirsutus* green. **Asian Journal of Bio Science**, 3(1), 152-158, 2008.

MANI, M., & KRISHNAMOORTHY, A. Evaluation of Australian ladybird beetle *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant against green shield scale *Chloropulvinaria psidii*

(Maskell) on some medicinal plants. **Journal of horticultural sciences**, 3(2), 176-179, 2016.

MANI, M., & THONTADARYA, T. S. Development and feeding potential of coccinellid predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. on the grape mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green). **Journal of Biological Control**, 1(1), 19-22, 1987.

MARQUES, C. E., LIMA, M. S., MELO, J. W., BARROS, R., & PARANHOS, B. A. Evaluation of *Ferrisia dasyllirii* (Cockerell)(Hemiptera: Pseudococcidae) and non-prey foods on the development, reproduction, and survival of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). **The Coleopterists Bulletin**, 69(2), 343-348, 2015.

MISHRA. G., OMKAR, S. K. S. Phenotype-dependent mate choice in *Propylea dissecta* and its fitness consequences. **J Ethol** 32:165–172, 2014.

MONALISA, PERVEZ. A., JAHAN. M. Mating behaviour of the predaceous ladybird *Harmonia dimidiata*. **Eur J Env Sci** 10(1):5–8, 2020.

NATION, J. L. Insect physiology and biochemistry. **CRC press**. 2002

NEDVED O., & HONĚK, A. Ecology and behavior of the ladybird beetles (Coccinellidae). Wiley-Blackwell, **West Sussex, U.K**, p 531, cap. 3, 2012.

OMKAR, S. K. S. Age specific mating incidence and reproductive behavior of the ladybird beetle, *Anegleis cardoni* (Weise) (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal Asia Pac Entomol** 16(3):263–268, 2013.

OMKAR, S. K. S., & MISHRA, G. Parental age at mating affects reproductive attributes of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). **Eur. J. Entomol**, 107, 341-347, 2010.

OMKAR, S. K. S., PERVEZ. A. Ladybird Beetles. In: Omkar (ed) Ecofriendly Pest Management for Food Security. **Academic Press. London, UK**, Chap. 9, pp 281–310, 2016.

OMKAR, S. K. S., PERVEZ. A. Mating behavior of an aphidophagous ladybird beetle, *Propylea dissecta* (Mulsant). **Insect Sci** 12(1):37–44, 2005.

OMKAR, S. K. S., SINGH K. Mating behaviour of the aphidophagous ladybird beetle *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). **Int J Trop Insect Sci** 30(1):3–10, 2010.

OMKAR, S. K. S., SINGH SK & MISHRA G. Multiple matings affect the reproductive performance of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). **Eur J Entomol** 107:177–182, 2010.

OMKAR, S. S., & MISHRA, G. Multiple matings affect the reproductive performance of the aphidophagous ladybird beetle, *Coelophora saucia* (Coleoptera: Coccinellidae). **Eur. J. Entomol**, 107, 177-182, 2010.

ONCUER, C., & BAYHAN, N. An investigation into the feeding capacity and diet of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant.). **Turkiye Bitki Koruma Dergisi**, 6(2), 85-90, 1982.

OSAWA. N. The effect of prey availability on ovarian development and oosorption in the ladybird beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Eur J Entomol** 102:503–511, 2005.

PANG, X. & R.D. GORDON. The Scyminini Coleoptera: *Coccinellidae of China*. *Coleopera Bulletin*, v. 40, p. 157-199.1986

PERRY, J. C., & ROWE, L. Ingested spermatophores accelerate reproduction and increase mating resistance but are not a source of sexual conflict. *Animal Behaviour*, 76(3), 993-1000, 2008.

PERVEZ, A., & JAHAN, M. Courtship behaviour and mating refusals in an aphidophagous ladybird, *Coccinella transversalis*. **Int J Trop Insect Sci** 42:227–233, 2022.

PRATISSOLI, Dirceu. Tópicos direcionados à entomologia. Primeira edição. Recife. **Editora universitária da UFRPE**, 2010.

ROSAS-GARCÍA, N. M., DURAN-MARTINEZ, E. P., LUNA-SANTILLANA, E. D. J., & VILLEGAS-MENDOZA, J. M. Predatory potential of *Cryptolaemus montrouzieri*

Mulsant towards *Planococcus citri* Risso. **Southwestern Entomologist**, 34(2), 179-188, 2009.

SANCHES, N. F., & CARVALHO, R. D. S. Procedimentos para manejo da criação e multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri*. 2010

SANCHES, N. F., & DA SILVA CARVALHO, R. (2011). 11816-Multiplicação do do predador exotico *Cryptolaemus montrouzieri* como alternativa de controle biológico clássico para o controle da cochonilha exótica *Maconellicoccus hirsutus*. **Cadernos de Agroecologia**, 6(2).

SEIEDY. M., FAGHIHI.MR. Effect of starvation on the mating behavior of an aphidophagous ladybird beetle, *Hippodamia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae) in laboratory conditions. **J Entomol Soc Iran**, 2022.

SHAHID, M., SIDDIQUI, A., & MISHRA, G. Mating alters the rate of development of ovarioles in the ladybird, *Propylea dissecta* (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology**, 113, 44, 2016.

SHAHID, M., SIDDIQUI, A., & MISHRA, G. Mating alters the rate of development of ovarioles in the ladybird, *Propylea dissecta* (Coleoptera: Coccinellidae). **Eur J Entomol** 113:44–50, 2016.

SIGIURA, K., & TAKADA, H. Suitability of seven aphid species as prey of *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius)(Coleoptera: Coccinellidae). **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology (Japan)**, 1998.

SILVA, D. A. B. Biologia reprodutiva de joaninha (Coleoptera: Coccinellidae): comportamento e morfologia do sistema reprodutor. 2020

SOLANGI, G. S., LOHAR, M. K., ABRO, G. H., & BURIRO, A. S. Biology and release of exotic predator *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant on mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley at Tandojam. **Sarhad J. Agric**, 28(3), 429-435, 2012.

TAMMARU, TOOMAS; HAUKIOJA, ERKKI. Capital breeders and income breeders among Lepidoptera: consequences to population dynamics. **Oikos**, p. 561-564, 1996.

- UYGUN, N., & ATLIHAN, R. The effect of temperature on development and fecundity of *Scymnus levaillanti*. **BioControl**,45(4), 453-462, 2000.
- WANG, S., TAN, X. L., GUO, X. J., & ZHANG, F. Effect of temperature and photoperiod on the development, reproduction, and predation of the predatory ladybird *Cheilomenes sexmaculata* (Coleoptera: Coccinellidae). **J Econ Ento** 106(6):2621–2629, 2013.
- XIE, J., DE CLERCQ, P., ZHANG, Y., WU, H., PAN, C., & PANG, H. Nutritiondependent phenotypes affect sexual selection in a ladybird. **Sci Rep** 5:13111, 2015.
- YADAY, M., & PERVEZ, A. Reproductive behaviour of predaceous ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae): **A review. International Journal of Tropical Insect Science**, 1-13, 2022.
- YASUDA. H., DIXON. A. F. G. Sexual size dimorphism in the two spot ladybird beetle *Adalia bipunctata*: developmental mechanism and its consequences for mating. **Ecol Entomol** 27:493–498, 2002.