

NORMA GIAMBARRESI GANHO



**ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DA REPRODUÇÃO E
ONTOGÊNESE DE *Epilachna paenulata* (Germar, 1824)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).**

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

CURITIBA
1999

NORMA GIAMBARRESI GANHO

**ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DA REPRODUÇÃO E
ONTOGÊNESE DE *Epilachna paenulata* (Germar, 1824)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).**

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

CURITIBA
1999

**ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DA REPRODUÇÃO E
ONTOGÊNESE DE *Epilachna paenulata* (Germar, 1824)
(COLEOPTERA : COCCINELLIDAE).**

NORMA GIAMBARRESI GANHO

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela banca examinadora:



Prof^o Dr. Renato Contin Marinoni



Prof^a. Dr^a. Lúcia Massutti de Almeida



Prof^a. Dr^a Cibele S. Ribeiro -Costa

À
Flávia, Luciano
e Jomário

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao meu orientador, Prof. Renato Contin Marinoni, pela atenção e conhecimentos transmitidos, durante toda a minha formação acadêmica e pelo desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal do Paraná, através do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, pela oportunidade de desenvolver este projeto.

Às bibliotecárias do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio prestado no levantamento bibliográfico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal e Ensino Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

Aos Professores, amigos e colegas, pelos conhecimentos transmitidos e ao agradável convívio.

A amiga Luciana Ianuzzi pelo apoio e incentivo que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais e familiares, pelo carinho e incentivo demonstrados constantemente no decorrer deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	X
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. MATERIAL E MÉTODOS.....	3
COLETA DE <i>Epilachna paenulata</i>.....	3
Exemplares para os experimentos.....	3
ETAPA EXPERIMENTAL.....	4
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
APARELHO REPRODUTOR DA FÊMEA.....	7
Estágios de desenvolvimento dos ovários.....	9
PERÍODOS REPRODUTIVOS.....	12
NÚMERO DE OVOS.....	17
INFLUÊNCIA DA CÓPULA NA REPRODUÇÃO.....	18
LARGURA DOS OVOS E DA FRONTE DA LARVA.....	19
LONGEVIDADE.....	22
VIABILIDADE DOS OVOS.....	22
IV. CONCLUSÕES.....	23
V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Tabela I. <i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 1,2,3 e 4); período de pré-oviposição, de oviposição e pós-oviposição; longevidade; número de posturas, número médio de ovos por postura, intervalo médio entre as posturas, número total de ovos por fêmea.....	14
Tabela II. <i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824). Fêmeas não fecundadas; período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, longevidade, número de posturas, número médio de ovos por postura, intervalo médio entre as posturas, número total de ovos por fêmea.....	15
Tabela III. <i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 4). Número de dias após a postura em que se observou o estágio ovariano e estágio ovariano.....	16
Tabela IV. <i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824). Fêmeas não fecundadas (experimento 4). Número de dias após a postura em que se observou o estágio ovariano e estágio ovariano.....	16
Tabela V. <i>Epilachna paenulata</i> (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 1, 2 e 3). Número total de ovos, viabilidade dos ovos, número total de larvas, largura média dos ovos, largura média da cápsula cefálica da larva de primeiro ínstar.....	21

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Parte do aparelho reprodutor da fêmea de *Epilachna paenulata*. Ovários em estágio 3. Aumento de 200 x, vista dorsal..... 8
- Figura 2.** Ovariolos de *Epilachna paenulata*. **a-** Ovariolo em estágio 1; **b-** Ovariolo em estágio 2; **c-** Ovariolo em estágio 3; **d-** Ovariolo em estágio 4. (**ft**-filamento terminal, **g**- germário, **f1**- folículo primário, **f2**- folículo secundário, **f3**- folículo terciário, **f4**- folículo quaternário)..... 11
- Figura 3.** *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Relação entre a largura média do ovo e a largura média da larva de primeiro ínstar..... 20

RESUMO

Epilachna paenulata (Germar, 1824), foi criada em condições de laboratório a $20\pm 0,5$ °C, umidade relativa de $65\pm 0,5$ % e fotoperíodo de 12/12 h. Como alimento foram utilizadas folhas de abóboreira (*Cucurbita pepo* Lourt.). Foram estudados grupos de fêmeas fecundadas e não fecundadas.

Os ovários de *Epilachna paenulata* passam por quatro estágios de desenvolvimento durante a produção de ovos, sendo morfológicamente semelhantes entre fêmeas fecundadas e não fecundadas, e também semelhante a *Coccinella septempunctata* Linnaeus, 1758. Cada ovário possui em média 24 ovariolos, menos que em *Epilachna pusilanima* Mulsant, 1850, *E. undecimvariolata* Boisduval, 1835 e *E. vigintioctomaculata* Motschulsky, 1857.

As fêmeas fecundadas apresentam menores valores que as não fecundadas para os períodos de pré-oviposição, de oviposição, de pós-oviposição, entre as posturas, de longevidade. As fêmeas fecundadas põem um número maior de ovos.

O período de pré-oviposição, entre as fêmeas fecundadas foi próximo ao de *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 e de *E. varivestis* Mulsant, 1850.

O período de intervalo entre as posturas apresenta um valor próximo ao de *Epilachna cacica* (Guérin, 1844) e menor que a de *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850.

A longevidade das fêmeas fecundadas foi um pouco menor a de *E. clandestina* Mulsant, 1850 e muito maior que a das fêmeas não fecundadas.

O número total de ovos postos por fêmea fecundada foi próximo ao valor

encontrado para *Epilachna varivestis* Mulsant, 1850, e muito menor que o de fêmeas não fecundadas.

O número médio de ovos, por postura, por fêmea fecundada, foi semelhante ao valor encontrado para *Epilachna varivestis* Mulsant, 1850 e superior ao de fêmea não fecundada.

O número de posturas por fêmea fecundada foi superior ao de *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 e muito superior ao de fêmea não fecundada.

A largura dos ovos de fêmea fecundada foi um pouco menor que de *E. clandestina* Mulsant, 1850.

O tamanho da cápsula cefálica da larva de primeiro instar apresentou uma média menor que de *E. spreta* Mulsant, 1824, de *E. cacica* (Guérin, 1844) e *E. clandestina* Mulsant, 1850.

A viabilidade dos ovos foi alta quando comparada a *E. cacica* (Guérin, 1844) é semelhante a de *E. clandestina* Mulsant, 1850.

ABSTRACT

Epilachna paenulata (Germar, 1824), was fed with pumpkin leaves (*Cucurbita pepo* Lourt.) in laboratory conditions at temperatures of $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, relative humidity of $65\pm 0,5\%$ and 12 hour photoperiod. Groups of fecunded and non-fecunded females were studied.

The ovarium went on four developing stages during egg production, morphologically alike for fecunded and non-fecunded females, and also similar to *Coccinella septempunctata* Linnaeus, 1758. Each ovarium have on average 24 ovarioles, less than *Epilachna pusillanima* Mulsant, 1850, *Epilachna undecimvariolata* (Boisduval, 1835) and *Epilachna vigintioctomaculata* (Motschulsky, 1857).

Fecunded females showed shorter pre-oviposition, inter-oviposition, and post-oviposition periods when compared with the non-fecunded females. Also their periods between eggng and their longevity were shorter. Fecunded females laied a larger number of eggs.

Pre-oviposition periods for fecunded females were similar to *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 and *E. varivestis* Mulsant, 1850 periods.

Periods of interval between eggng presented values similar to *Epilachna cacica* (Guérin, 1824) and they were shorter than *E. clandestina* Mulsant, 1850.

Fecunded females longevity was a little shorter than *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 and much larger than non-fecunded females longevity.

The total number of eggs layed by fecunded females was near the values for

Epilachna varivestis Mulsant, 1850, and much less than non-fecundated females.

The mean number of eggs per hatch for fecundated females was similar to values found for *Epilachna varivestis* Mulsant, 1850 and superior to non-fecundated females. The total number of eggings for fecundated females was superior to the *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 values and much superior to non-fecundated females.

The egg width for fecundated females was a little shorter than *E. clandestina* Mulsant, 1850.

The size of the cephalic capsule for the first instar larva presented a smaller average when compared to *E. spreta* Mulsant, 1850, *E. cacica* (Guérin, 1844) and *E. clandestina* Mulsant, 1850.

Egg viability was high when compared to *E. cacica* (Guérin, 1844) and similar to *E. clandestina* Mulsant, 1850.

I. INTRODUÇÃO

Os coccinelídeos são, em sua maior parte, carnívoros, geralmente se alimentando de afídeos e coccídeos, e têm sido utilizados como agentes de controle biológico. Os Psylloborini, da subfamília Coccinellidae, no entanto, têm hábitos micófagos (GORDON, 1975).

Uma outra subfamília, Epilachninae, contém apenas representantes fitófagos, alimentando-se na maioria das vezes de folhas de cucurbitáceas e solanáceas (HODEK & HONEK, 1996), algumas espécies representando uma praga para plantas cultivadas, como batata (NAKAMURA, 1983 e RAJAGOPAL & TRIVEDI, 1989), beringela (RAJAGOPAL & TRIVEDI, 1989 e NAKAMURA *et al.*, 1988) , tomate (NAKAMURA, 1983) e feijão (HOWARD, 1936; AUCLAIR, 1959; KATAIAMA *et al.*, 1979; JONES *et al.*, 1981 e WILSON *et al.*, 1982).

HODEK & HONEK (1996) afirmam que as espécies fitófagas representam uma condição mais primitiva dentro do grupo. A mandíbula apresenta-se multidentada e com dentes inferiores acessórios. Desta mandíbula multidentada devem ter derivado as mandíbulas dos carnívoros com a redução dos dentes acessórios e forte encurtamento do dente apical.

Os Epilachninae estão distribuídos em toda a região tropical do mundo com poucos representantes acima da linha de 30° de latitude e estão divididos em quatro tribos: os Epilachnini, Madaini, Eremochillini e Epivertini (CHAZEAU *et al.*, 1989).

Os Epilachnini tem maior ocorrência na Região Andina, principalmente no centro sul do Peru, centralizados nos arredores de Cuzco, tudo indicando ser lá o centro de especiação do grupo. Observa-se uma correlação entre a distribuição geográfica de cucurbitáceas e solanáceas, também originárias daquela região, e a distribuição geográfica deste grupo de insetos (GORDON, 1975). Algumas espécies, por serem importantes sob o ponto de vista agrônômico, têm seus aspectos biológicos mais estudados para implementação de possíveis ações de controle.

Os trabalhos de biologia dentro do grupo são principalmente sobre *Epilachna varivestis* Mulsant, 1850, espécie que se alimenta de muitas variedades de feijão e ocorre na Região Neártica e *Epilachna vigintioctopunctata* Fabricius, 1775, espécie que se alimenta de cucurbitáceas e solanáceas e é comum na Região Oriental.

Na Região Neotropical as espécies mais estudadas foram *Epilachna cacica* (Guérin, 1844), *E. spreata* Mulsant, 1850; *E. paenulata* (Germar, 1824); *E. clandestina* Mulsant, 1850, que se alimentam de cucurbitáceas.

Há ainda escassez de informações sobre o comportamento reprodutivo de *Epilachna paenulata* e o presente trabalho teve como objetivo estudar a oviposição, ontogenia, longevidade e fertilidade desta espécie.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento dos estudos sobre *Epilachna paenulata* (Germar, 1824), foram realizados os seguintes procedimentos:

COLETA DE *Epilachna paenulata*:

Os adultos, pupas, larvas e ovos foram coletados em folhas de aboboreira (*Cucurbita pepo*), na região urbana de Curitiba e na vizinha região urbana de São José dos Pinhais, Estado do Paraná. Logo após a coleta os exemplares foram acondicionados em recipientes de plástico semitransparentes de 500ml em forma de copo, com tampa perfurada e devidamente identificados. Em laboratório do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, os exemplares coletados foram mantidos em câmara com temperatura constante de $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12/12 h e umidade relativa de $65\pm 15\%$. Foram alimentados diariamente com folhas de aboboreira. Estas condições foram também utilizadas nos trabalhos de ALMEIDA & MARINONI (1986) e MARINONI & RIBEIRO (1987) que estudaram o desenvolvimento desta espécie e, para efeito de comparação, foram repetidas no presente estudo.

Exemplares para os experimentos

Os exemplares utilizados nos experimentos foram obtidos das oviposições das fêmeas coletadas, que foram colocadas em placa de Petri com papel filtro umedecido até a eclosão das larvas. Estas larvas foram transferidas para os frascos plásticos, com folha de aboboreira. Diariamente as larvas eram removidas

com auxílio de um pequeno pincel para um outro recipiente contendo uma nova folha. Este procedimento foi repetido até que as larvas chegassem à fase de pupa. Cada pupa foi isolada em placa de Petri forrada com papel filtro umedecido, para se registrar a emergência e evitar a cópula no estágio adulto.

ETAPA EXPERIMENTAL

Nos quatro experimentos mantivemos as condições de temperatura, umidade e alimentação como anteriormente citadas, assim como os recipientes utilizados. Em caso de morte do macho, este era substituído. Dos quatro experimentos obtivemos informações sobre: número de posturas, período de pré-oviposição, período de pós-oviposição, intervalo entre as posturas, longevidade e número total de ovos por fêmea, além de outros dados especificados em cada experimento.

1º experimento : Neste experimento obtivemos, além dos dados citados acima, informações sobre a viabilidade dos ovos não manuseados.

Este experimento foi iniciado com oito casais, um em cada pote. A troca de alimento e observação foi diária. As posturas foram coletadas anotando-se a ordem e o número de ovos. Cada postura foi mantida em placa de Petri com papel filtro umedecido até a eclosão das larvas, que foram contadas para determinação da viabilidade e em seguida descartadas.

2º experimento: Além das informações inicialmente citadas, obtivemos a largura dos ovos.

Neste experimento foram observados dez casais, um em cada pote. Foram registrados o número de posturas, número de ovos por postura. Os ovos foram medidos na sua maior largura com microscópio estereoscópico com ocular micrométrica, e em seguida descartados.

3º experimento : Além das informações inicialmente citadas, obtivemos a largura dos ovos e distância inter-alveolar das cápsulas cefálicas das larvas de primeiro instar.

Neste experimento foram observados dez casais, um em cada pote. Os ovos foram medidos em sua maior largura de maneira que as posturas não fossem danificadas para obtenção das larvas. Foram medidas as cápsulas cefálicas das larvas de primeiro instar. Utilizou-se a distância entre os alvéolos antenais para comparar o tamanho do ovo com o da larva resultante.

4º experimento: Além das informações inicialmente citadas, obtivemos os estágios ovarianos.

Neste experimento foram montados dois grupos, um deles com dezessete casais para que houvesse fecundação dos ovos, e o outro com nove fêmeas virgens. Nos dois grupos, as fêmeas foram dissecadas com o objetivo de determinar os diferentes estágios de desenvolvimento dos ovários, em intervalos determinados pelo número de seqüência da postura. Entre as fêmeas não fecundadas, dados sobre pós-oviposição, número total de ovos por fêmea e longevidade, tiveram seus resultados obtidos através de quatro exemplares, pois as demais foram dissecadas ou morreram. Pôde-se observar os estágios ovarianos de dez fêmeas fecundadas e de oito fêmeas não fecundadas, pois as demais morreram e as estruturas desintegraram.

As dissecações para análise dos ovários e determinação do seu estágio de desenvolvimento, foram feitas em placa de Petri contendo fundo de parafina e água destilada. Sob o microscópio estereoscópico foi feito um corte longitudinal dos tergos abdominais, no sentido póstero-anterior. Desta maneira foram destacados os tergos e removidas as estruturas que se sobrepõem ao sistema reprodutor.

Com pinça e estilete foram rompidos os ligamentos que unem os filamentos terminais dos ovariolos ao tórax e cortada a base da vagina permitindo a retirada do sistema reprodutor que foi corado com "Sudan Black". Após alguns segundos, o corante permitiu a melhor visualização da membrana que envolve os ovariolos e contorno dos ovos. Após os desenhos o material foi fixado em formol tamponado e armazenado para posterior contagem dos ovariolos.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No decorrer deste capítulo as discussões que envolvem citações sobre espécies do gênero *Epilachna* que foram objeto de publicações de diversos autores, e a eles devem ser creditadas, quando não houver referência expressa a outro(s) autor(es), como segue: *Epilachna varivestis* Mulsant, 1850 por AUCLAIR (1959); *Epilachna cacica* (Guérin, 1844) por PRECETTI *et al.* (1977); *Epilachna chrysomelina* Fabricius, 1775 por ALI & EL SAEADY (1981); *Epilachna clandestina* Mulsant, 1850 por MARINONI & GIAMBARRESI (1992).

APARELHO REPRODUTOR DA FÊMEA (Figura 1)

A fêmea de *Epilachna paenulata* possui, como na maioria das fêmeas de coleoptera, dois ovários localizados dorso-lateralmente no abdômen. Cada um consiste em vários tubos alongados, os ovariolos, que contém os oócitos em desenvolvimento. Na região basal do filamento terminal há um alargamento cilíndrico, o germário. No germário localizam-se as células germinativas jovens, as oogônias, os trófocitos (células que contribuem para nutrição e desenvolvimento do oócito), e as células que farão parte do folículo. Os oócitos estão rodeados por uma camada folicular epitelial cuja função é secretar a casca ou córium ao redor de cada ovo (MAJERUS, 1994; CHAPMAN, 1991), e juntos constituem o folículo. Na região distal do germário há um tubo denominado vitelário, por onde passam os oócitos provenientes do germário de maneira que

estes aproximam-se do oviduto a medida que passam por estágios de amadurecimento (vitelogenese). No ápice de cada ovariolo emerge um delicado filamento chamado de filamento terminal, que se junta ao filamento do ovariolo adjacente para formar o ligamento suspensor, este prende cada ovário no tergo metatorácico. Os ovariolos se unem formando o cálix e este se abre no oviduto lateral. Os ovidutos laterais dos dois ovários se unem formando o oviduto comum. O oviduto comum abre-se numa câmara genital em forma de tubo, a vagina, onde se abrem os ductos da espermateca e das glândulas acessórias (CHAPMAN, 1969) (fig.1).

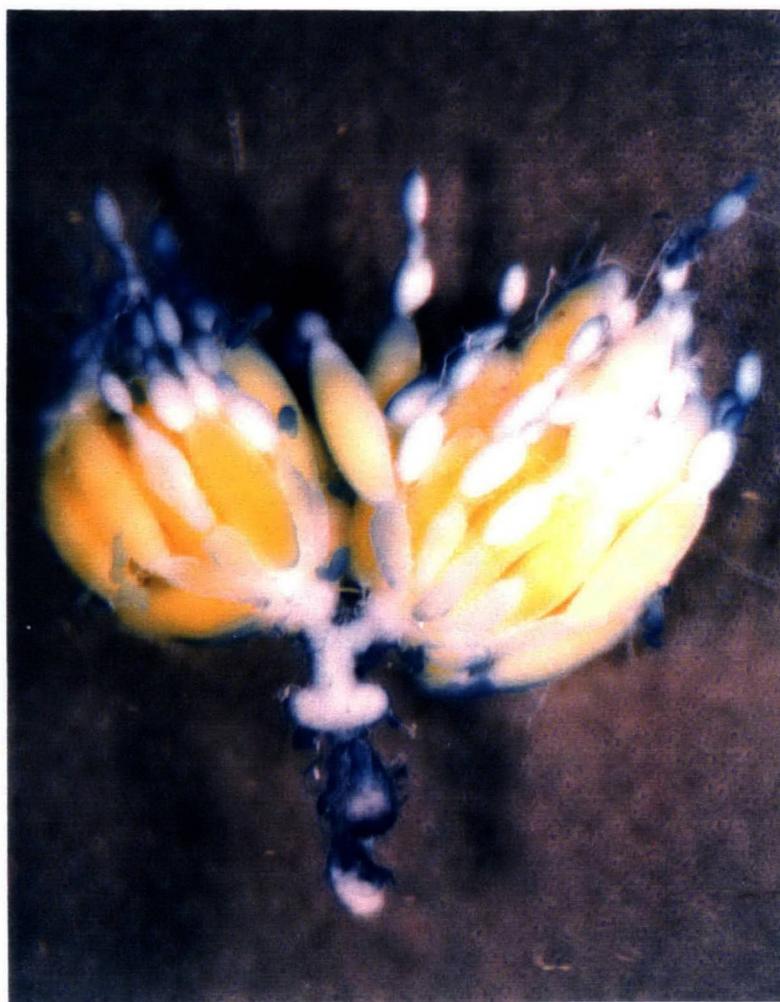


Figura 1. Parte do aparelho reprodutor da fêmea de *Epilachna paenulata*. Ovários em estágio 3. Aumento de 200 x, vista dorsal.

Em *E. paenulata*, como nas demais espécies de coccinelídeos já estudadas, os ovariolos são do tipo telotrófico meroístico. Esta classificação se deve a forma de nutrição do oócito. Quando os trofócitos estão presentes, estes ovariolos são denominados meroísticos (CHAPMAN, 1969). São ainda denominados telotróficos devido a posição dos trofócitos, que se localizam exclusivamente no germário. A nutrição dos oócitos ocorre através de uma estrutura filamentosa, o cordão nutritivo, que liga o trofócito ao oócito em movimento no ovariolo (CHAPMAN, 1969 ; BUNING, 1992). Quando o ovo deixa o ovariolo e move-se dentro do oviduto, processo conhecido como ovulação (CHAPMAN, 1969), apenas o remanescente do epitélio folicular permanece no ovariolo. Portanto, o vestígio folicular não inclui os resíduos dos trofócitos, como nos ovários do tipo politrófico (WEST-EBERHARD, 1986).

Estágios de desenvolvimento dos ovários (Figura 2 a-d)

Para identificar as diferentes fases por que passam os ovários de *E. paenulata*, observamos algumas características como o número, formato e cor dos folículos no vitelário. A intensidade da cor amarela serve para indicar o nível de vitelogênese (crescimento por deposição de vitelo) (PHOOFOLO *et al.*,1995). Desta maneira, os folículos foram classificados como primários (início da diferenciação: esféricos e translúcidos), secundários (início da vitelogênese: ovais e de coloração bege), terciários (vitelogênese quase completa, elipsoidais e coloração amarela) e quaternários (vitelogênese completa e corionização: elipsoidais e de coloração amarela).

Periodicamente as fêmeas dos dois grupos foram dissecadas, na tentativa de determinar as diferentes fases de desenvolvimento dos ovariolos (fig. 2). Foram determinados quatro estágios de desenvolvimento dos ovários de *E. paenulata*,

semelhante a *Coccinella septempunctata* Linnaeus, 1758 (adaptado de PHOOFOLO *et al.*, 1995).

Inicialmente, em fêmeas recém-emergidas, os ovários apresentam-se envoltos por traquéias e os ovariolos mostram-se indiferenciados e translúcidos. Estas condições, segundo PHOOFOLO (*op. cit.*), também são observadas nas fêmeas em diapausa.

Estágio 1 (fig. 2-a) : Em cada ovariolo o folículo primário começa a se diferenciar, apresentando uma forma mais ou menos esférica e translúcida. Observado no período de pré-oviposição.

Estágio 2 (fig. 2-b) : Cada ovariolo apresenta dois folículos no vitelário. O secundário, mais proximal, tem formato oval, seguido pelo primário que é esférico. No folículo secundário inicia-se a vitelogênese; começa a surgir a coloração amarela e a consistência de gel.

Estágio 3 (fig. 2-c) : Neste estágio o vitelário apresenta três folículos, o terciário é maior e mais amarelo, o que indica que está próximo de completar a vitelogênese; o formato é elipsoidal.

Estágio 4 (fig. 2-d) : A vitelogênese completa-se no folículo quaternário e ocorre a corionização. Este estágio é seguido da ovulação/ oviposição.

As fases de desenvolvimento dos ovários mostraram-se morfológicamente semelhantes entre fêmeas fecundadas e não fecundadas, porém com diferenças no tempo de duração de cada estágio ovariano.

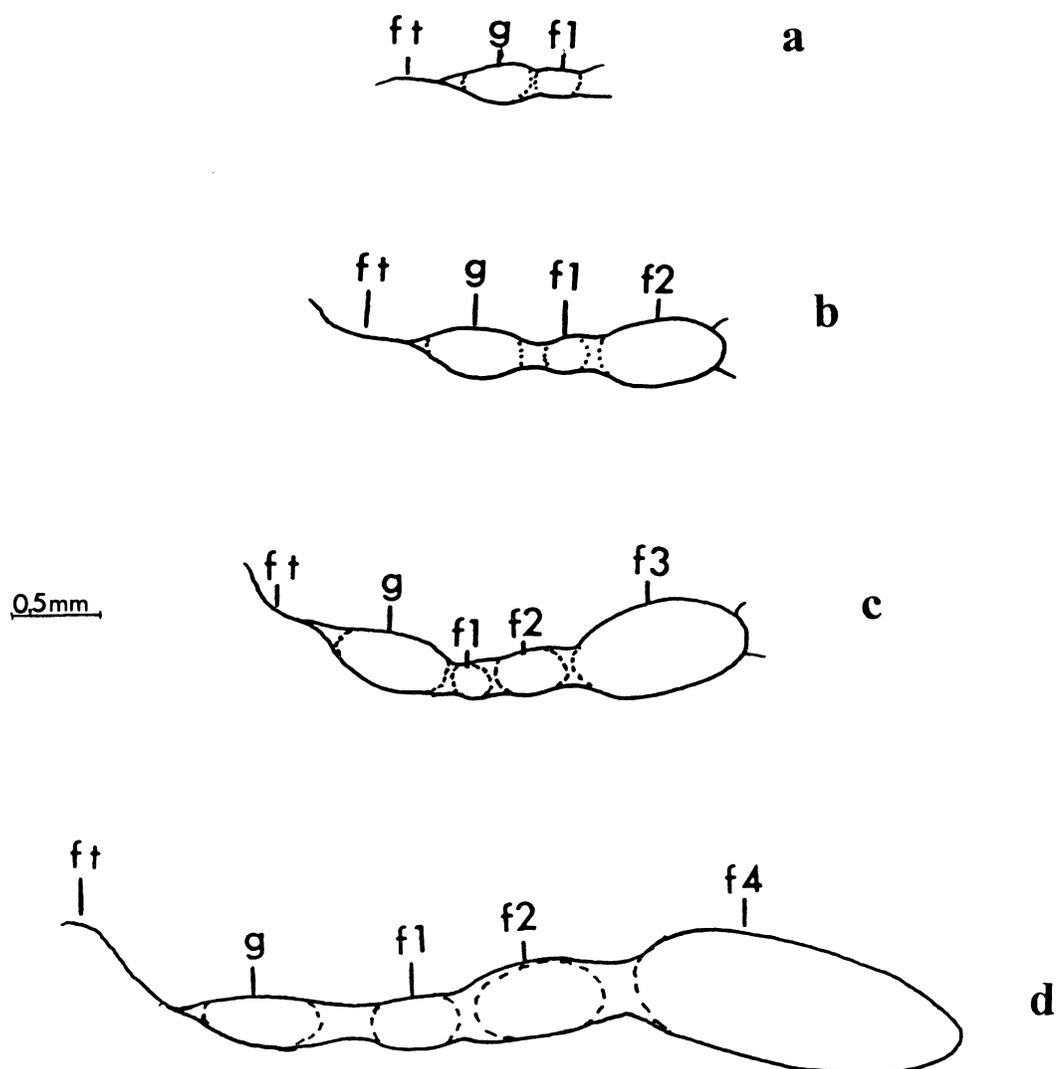


Figura 2. Ovariolos de *Epilachna paenulata*. **a**- Ovariolo em estágio 1; **b**- Ovariolo em estágio 2; **c**- Ovariolo em estágio 3; **d**- Ovariolo em estágio 4. (**ft**-filamento terminal, **g**- germário, **f1**- folículo primário, **f2**- folículo secundário, **f3**- folículo terciário, **f4**- folículo quaternário).

ROBERTSON (1961) estimou que para Epilachninae há, em média, 27 ovariolos por ovário, diferente de Coccinellinae que apresenta, em média, 16 ovariolos por ovário. No presente estudo, a média de ovariolos por ovário, em *E. paenulata*, foi de 24 (19–32). Contagens de ovariolos feitas por Dobzhanski (segundo ROBERTSON, 1961), demonstram que *Epilachna pusillanima* Mulsant, 1850, *Epilachna undecimvariolata* Boisduval, 1835 e *Epilachna vigintioctomaculata* Motschulsky, 1857, possuem de 30 a 33, de 41 a 43 e de 27 a 28 ovariolos por ovário, respectivamente. Dobzhanski observou em *Coccinella septempunctata* uma variação de 32-61 ovariolos por ovário. RAMALINGHAN (segundo HODEK & HONEK, 1996), afirmou que para esta espécie o número de ovariolos varia sazonalmente, de 26 a 82 ovariolos por ovário. Esta variação é resultado de uma alteração no comportamento reprodutivo em condições de diminuição de alimento. Nesta espécie o número de ovariolos tem relação com a quantidade de afídeos, a falta de alimento para a larva acarreta um adulto menor, sendo o tamanho do corpo positivamente correlacionado com o número de ovariolos.

Em fêmeas fecundadas de *E. paenulata* todos os ovariolos são fisiologicamente ativos a cada postura. Vários folículos desenvolvem-se simultaneamente em diferentes estágios em cada ovariolo, permitindo uma grande e contínua produção de ovos. STEWART *et al.* (1991a), estudaram onze espécies de coccinélidos afidófagos e detectaram outro tipo de comportamento nestas espécies. O número de ovos por postura é aproximadamente metade do número de ovariolos, enquanto o restante está se preparando para nova oviposição.

PERÍODOS REPRODUTIVOS (Tabelas I, II, III e IV)

Para avaliar a influência da cópula nos períodos reprodutivos observamos

fêmeas fecundadas e não fecundadas. Em *E. paenulata* o período decorrido da emergência do imago à primeira oviposição (pré-oviposição), para fêmeas fecundadas, variou de 37 a 113 dias (Tab. I) e a média deste período foi de $71,4 \pm 18,4$ dias. Entre as fêmeas não fecundadas este período variou de 60 a 98 dias (Tab. II), com uma média de $79,8 \pm 10,8$ dias. Para *E. chrysomelina* a média foi de $12,2 \pm 0,6$ dias; para *E. clandestina* valores que variaram de 53 a 62 dias e para *E. varivestis* de 50 a 52 dias, considerando os períodos referidos na literatura, para as citadas espécies, como sendo de fêmeas fecundadas. O período de pré-oviposição foi maior entre as fêmeas não fecundadas. Houve um aumento de oito dias, em média, para os ovários atingirem o estágio 4.

Após a postura, o ovário retorna ao estágio 2, pela eliminação do folículo quaternário (ovo) (Tab. III e IV), o folículo secundário toma o lugar do terciário e o folículo primário torna-se secundário. Um novo folículo torna-se primário. O tempo que o ovário leva para novamente atingir os estágios 3 e 4, que equivale ao intervalo entre as posturas, é variável e maior entre as fêmeas não fecundadas.

Para as fêmeas fecundadas, a média do intervalo entre as posturas por fêmeas variou de 3,1 a 14 dias (Tab. I) e a média geral foi de $5,6 \pm 2,1$ dias. Nas fêmeas não fecundadas a média do intervalo entre as posturas foi de $15,1 \pm 4,6$ dias variando entre 8 e 23 dias, muito acima das fêmeas fecundadas, com uma grande irregularidade neste intervalo, indicando que a cópula influi na periodicidade das posturas (Tab. II). Dados da literatura mostram que o valor mais próximo ao encontrado para *E. paenulata* é o de *E. cacica*, $6,5 \pm 1,0$ dias. Valor menor que a média encontrada para *E. clandestina*, de 11,9 dias que também apresentou grande variação, de 5,1 a 19,5 dias. O período total de oviposição entre as fêmeas fecundadas foi de $47,5 \pm 18,4$ dias em média (Tab. I).

Tabela I. *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 1,2,3 e 4); período de pré-oviposição, de oviposição e pós-oviposição; longevidade; número de posturas, número médio de ovos por postura, intervalo médio entre as posturas, número total de ovos por fêmea.

	PERÍODO DE PRÉ- OVIPOSIÇÃO (DIAS)	PERÍODO DE OVIPOSIÇÃO (DIAS)	PERÍODO DE PÓS- OVIPOSIÇÃO (DIAS)	LONGEVIDA DE (DIAS)	NÚMERO DE POSTURAS	NÚMERO MÉDIO DE OVOS POR POSTURA	INTERVALO MÉDIO ENTRE AS POSTURAS	NÚMERO TOTAL DE OVOS POR FÊMEA
	46	81	27	154	13	49,7	6,8	646
	49	54	9	112	14	61,1	4,1	855
	53	36	29	118	10	54,4	4	544
	54	44	10	106	15	51,5	3,1	772
	60	27	7	94	8	52,9	3,9	423
	60	29	5	94	8	55,5	4,1	444
	64	78	17	159	13	57,2	6,5	744
	65	61	9	135	15	52,2	4,4	782
	67	50	2	119	12	52,7	4,5	633
	67	80	4	151	20	55,4	4,3	1108
	68	23	7	98	8	53,4	3,3	427
	69	60	4	133	13	50,8	5	610
	72	19	11	102	6	39,8	3,8	239
	74	43	31	148	7	47,9	7,2	335
	79	56	3	138	12	45,5	5,1	546
	84	50	29	163	11	50,9	5	560
	98	41	80	219	6	46,8	11,5	281
	99	27	57	183	3	58,3	14	175
	110	32	17	159	5	58	8	290
	113	60	10	183	11	62,3	6	685
	77	*	*	*	*	*	6	*
	83	*	*	*	*	*	5,5	*
	90	*	*	*	*	*	6	*
	99	*	*	*	*	*	8	*
	111	*	*	*	*	*	8	*
	71	*	*	*	*	*	6	*
	63	*	*	*	*	*	4,25	*
	38	*	*	*	*	*	3,9	*
	46	*	*	*	*	*	6	*
	37	*	*	*	*	*	*	*
	44	*	*	*	*	*	*	*
	78	*	*	*	*	53,2	5,2	*
	61	*	*	*	*	55,1	5,2	*
	81	*	*	*	*	49	4,2	*
	75	*	*	*	*	57,1	6,9	*
	83	*	*	*	*	59,2	6	*
	71	*	*	*	*	57,9	4,8	*
	79	*	*	*	*	55,3	6,9	*
	67	*	*	*	*	56,3	5	*
	75	*	*	*	*	54,9	7,1	*
	57	*	*	*	*	59,1	4,3	*
	84	*	*	*	*	51	3,9	*
	66	*	*	*	*	53,1	5,4	*
	56	*	*	*	*	62,4	3,2	*
n	44	20	20	20	20	20	42	20
MÉDIA	71,4	47,5	18,4	138,4	10,5	53,9	5,6	555
DESVIO PADRÃO	18,4	18,4	19,3	33,1	4,0	4,8	2,1	229
AMPLITUDE	(37-113)	(19-81)	(2-80)	(94-219)	(3-20)	(39,8-62,4)	(3,1-14)	(239-1108)

* Valores obtidos de fêmeas dissecadas não foram considerados.

Entre as fêmeas não fecundadas houve um aumento neste período, em média de $72,5 \pm 44,5$ dias (Tab. II).

O aumento no período de pré-oviposição, oviposição e de dias entre as posturas para as fêmeas não fecundadas, possivelmente seja um meio de preservação de oócitos até que ocorra a cópula. Conseqüentemente as fêmeas não fecundadas de *E. paemulata* apresentam $5,7 \pm 2,9$ posturas em média (Tab. II), enquanto que as fêmeas fecundadas ovipuseram $10,5 \pm 4,0$ (Tab. I) vezes. Para *E. clandestina* a média observada foi de 8,0 posturas por fêmea.

Tabela II. *Epilachna paemulata* (Germar, 1824). Fêmeas não fecundadas; período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, longevidade, número de posturas, número médio de ovos por postura, intervalo médio entre as posturas, número total de ovos por fêmea.

	PERÍODO DE PRÉ-OVIPOSIÇÃO (DIAS)	PERÍODO DE OVIPOSIÇÃO (DIAS)	PERÍODO DE PÓS-OVIPOSIÇÃO (DIAS)	LONGEVIDADE (DIAS)	NÚMERO DE POSTURAS	NÚMERO DE OVOS POR POSTURA	INTERVALO EDIO MÉDIO ENTRE AS POSTURAS	NÚMERO TOTAL DE OVOS POR FÊMEA
	60	91	59	210	7	45,6	15,2	319
	77	46	65	175	3	48,7	16,5	146
	80	18	20	146	3	29,7	23	89
	85	135	61	281	10	23	15,1	230
	74	*	*	*	*	45,5	18	*
	85	*	*	*	*	36,87	9,9	*
	98	*	*	*	*	43	8	*
n	7	4	4	4	4	7	7	4
MÉDIA	79,8	72,5	51,2	203	5,7	38,9	15,1	196
DESVIO PADRÃO	10,8	44,5	18,2	50,4	2,9	8,8	4,6	86,9
AMPLITUDE	(60-98)	(18-135)	(20-65)	(146-210)	(3-10)	(23-48,7)	(8-23)	(89-319)

* Valores obtidos de fêmeas dissecadas não foram considerados.

Tabela III. *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 4). Número de dias após a postura em que se observou o estágio ovárico e estágio ovariano.

DIAS APÓS A POSTURA	ESTÁGIO OVARIANO
0	2
1	2
1	3
1	3
2	4
2	4
2	2
3	2
6	4
**	0

** fêmea sem postura.

Tabela IV. *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Fêmeas não fecundadas (experimento 4). Número de dias após a postura em que se observou o estágio ovárico e estágio ovariano.

DIAS APÓS A POSTURA	ESTÁGIO OVARIANO
0	2
8	2
44	2
59	0
61	4
65	3
**	1
**	2

** Fêmea sem postura.

As fêmeas fecundadas de *E. paenulata* tiveram um período médio de pós-oviposição de $18,4 \pm 19,3$ dias, com variação de 2 a 80 dias (Tab. I). As quatro fêmeas não fecundadas, em que pudemos observar o período de pós-oviposição,

apresentaram $51,2 \pm 18,2$ dias em média, maior que nas fecundadas, variando de 20 a 65 dias. Entre as fêmeas fecundadas a longevidade não apresentou correlação com o número de posturas ($r = 0,1$) e o período de pós-oviposição mostrou média correlação negativa com o número de posturas ($r = -0,5$). Entretanto, pode-se observar que as fêmeas que vivem entre 100 e 150 dias apresentam maior número de posturas.

NÚMERO DE OVOS (Tabelas I e II)

O número total de ovos por fêmea fecundada foi de 555 ± 229 ovos (Tab. I), uma fêmea alcançando 1108 ovos. Entre as fêmeas não fecundadas obtivemos uma média de $196 \pm 86,9$ ovos por fêmea (Tab. II), aproximadamente 37% do total de ovos postos pelas fêmeas fecundadas; uma fêmea alcançando 319 ovos. As fêmeas fecundadas apresentam um valor muito maior quando comparadas a *E. clandestina* que apresenta uma média de 216 ovos por fêmea, variando de 54 a 406 ovos. Para *E. varivestis*, é citada uma variação de 394 a 890 ovos por fêmea e para *E. chrysomelina*, a média foi de $308,3 \pm 22,6$ ovos por fêmea.

A relação entre o período total de posturas e o número total de ovos postos, entre as fêmeas fecundadas, varia de 8,9 a 21,6 ovos/dia/fêmea e em média é de 12,8 ovos/dia/fêmea. Para as fêmeas não fecundadas esta relação varia de 1,7 a 10,7 ovos/dia/fêmea e em média é de 4,5 ovos/dia/fêmea, bastante inferior às fêmeas fecundadas. Em *E. clandestina* esta média é de 2,8 ovos/dia/fêmea, variando de 1,4 a 5,7 ovos/dia/fêmea.

Para as fêmeas não fecundadas o número médio de ovos/postura/fêmea variou de 23 a 48,7 resultando numa média geral de $38,9 \pm 8,8$ ovos/postura/fêmea. As fêmeas fecundadas de *E. paenulata* apresentaram uma média de $53,9 \pm 4,8$ ovos variando de 39,8 a 62,4 ovos/postura/fêmea. Para *E. varivestis* variou de 40

a 60 ovos/postura/fêmea e em *E. clandestina* a média foi de 28,1 ovos/postura fêmea com uma variação de 20,1 a 33 ovos.

INFLUÊNCIA DA CÓPULA NA REPRODUÇÃO

Os diferentes valores obtidos para fêmeas fecundadas e não fecundadas de *E. paenulata* no que se refere aos períodos de pré-oviposição, oviposição, intervalo entre as posturas, número total de ovos por fêmea e ovos por postura por fêmea, mostram que a presença do macho tem um importante papel na capacidade reprodutiva da fêmea. No que se refere a produção de ovos, as fêmeas não fecundadas apresentaram um decréscimo e uma maior variação no número de ovos por postura. Estes dados estão de acordo com o observado na literatura, indicando que quando há cópula há aumento de produção de ovos, como o observado em *Tribolium confusum* Duval, 1868, por PARK, 1933, que constatou uma taxa de oviposição cerca de 20 vezes menor em fêmeas não fecundadas. Estas observações foram confirmadas por SCHNEIDER, 1941 e KHALIFA & BADAWY, 1955 (in tese de mestrado de C. E. Marese, UFPR., não publicada). Múltiplas cópulas, em *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831), segundo HUIGNARD, 1983, resultaram num aumento da sobrevivência da fêmea, na produção e no tamanho dos ovos, além da sobrevivência das larvas. Estes comportamentos também foram observados por FRIEDEL & CEDRIC (1977) e SIMMONS (1988) em Orthoptera e por LEOPOLD (1976), MARC & CHAMBERS (1991) e KLOWDEN & GAIL (1991) em Diptera e por WEELER (1996) para vários grupos.

HUIGNARD, 1983 (*op. cit.*), utilizando substâncias radioativas, detectou que, em algumas espécies de Bruchidae, as substâncias acumuladas no sistema reprodutivo do macho são transferidas pelo espermatóforo para a hemolinfa da

fêmea e são responsáveis pela estimulação da oogênese. Estas moléculas de baixo peso molecular provavelmente passam rapidamente para a hemolinfa, visto que há incremento na atividade ovariana durante as primeiras 24 horas após a cópula, e certos elementos podem ser incorporados aos oócitos.

LARGURA DOS OVOS E DA FRONTE DA LARVA (Tabela V)

A mensuração da largura dos ovos de *E. paenulata* resultou em valores que variaram de 0,62 a 0,73, havendo diferentes larguras em uma mesma postura, com uma média de 0,67mm (Tab. V). Em *E. clandestina* o tamanho dos ovos por fêmea variou de 0,64 a 0,75mm com média de 0,69mm. Os ovos da primeira e segunda posturas não apresentaram larguras significativamente diferentes, ao nível de 10% (teste t para observações pareadas). MARINONI & GIAMBARRESI (1992), obtiveram para *E. clandestina*, maior largura média em ovos da primeira postura em relação a segunda ou terceira posturas. STEWART *et al.* (1991 a), estudando quatro espécies de coccinelídeos: *Adalia bipunctata* (Linnaeus 1758); *Propylea quatuordecimpunctata* (Linnaeus 1758); *Adalia decimpunctata* (Linnaeus 1758) e *Coccinella trifasciata* (Linnaeus 1758) , observaram que a primeira postura apresenta ovos um pouco menores que o restante das posturas e estas têm um número ligeiramente menor de ovos.

Cápsulas cefálicas de larvas de primeiro instar de *E. paenulata*, provenientes de ovos mensurados, apresentam médias que variaram de 0,32 a 0,34 mm (Tab. V). Para *E. clandestina*, a média foi de 0,42 mm. ALMEIDA & MARINONI (1986) indicaram para *E. spreta* uma média de 0,46mm; *E. cacica* 0,48mm e *E. paenulata*, nas mesmas condições do presente estudo, apresentou uma média maior, de 0,38mm, mas ainda assim, menor que o das outras espécies citadas.

A largura média da frente das cápsulas cefálicas de larvas de primeiro instar não foi proporcional a largura média dos ovos deles resultantes (0,32-0,67; 0,34-0,62; 0,34-0,73; 0,34-0,62) (Tab. V). A análise mostra não haver correlação entre eles ($r=0,25$) (fig. 3).

Estabelecendo-se a comparação entre valores da largura de ovo; do número de ovos por postura; do período de oviposição e da longevidade, entre as espécies *E. paenulata* e *E. clandestina*, observa-se que:

1. a longevidade de *E. paenulata* é menor (138 x 196 dias);
2. o período médio de oviposição de *E. paenulata* é menor (47,5 x 74,55 dias);
3. os ovos em *E. paenulata* têm em média menor largura (0,67 x 0,69 mm);
4. o número de ovos postos em *E. paenulata* é maior (53,9 x 28,1 ovos).

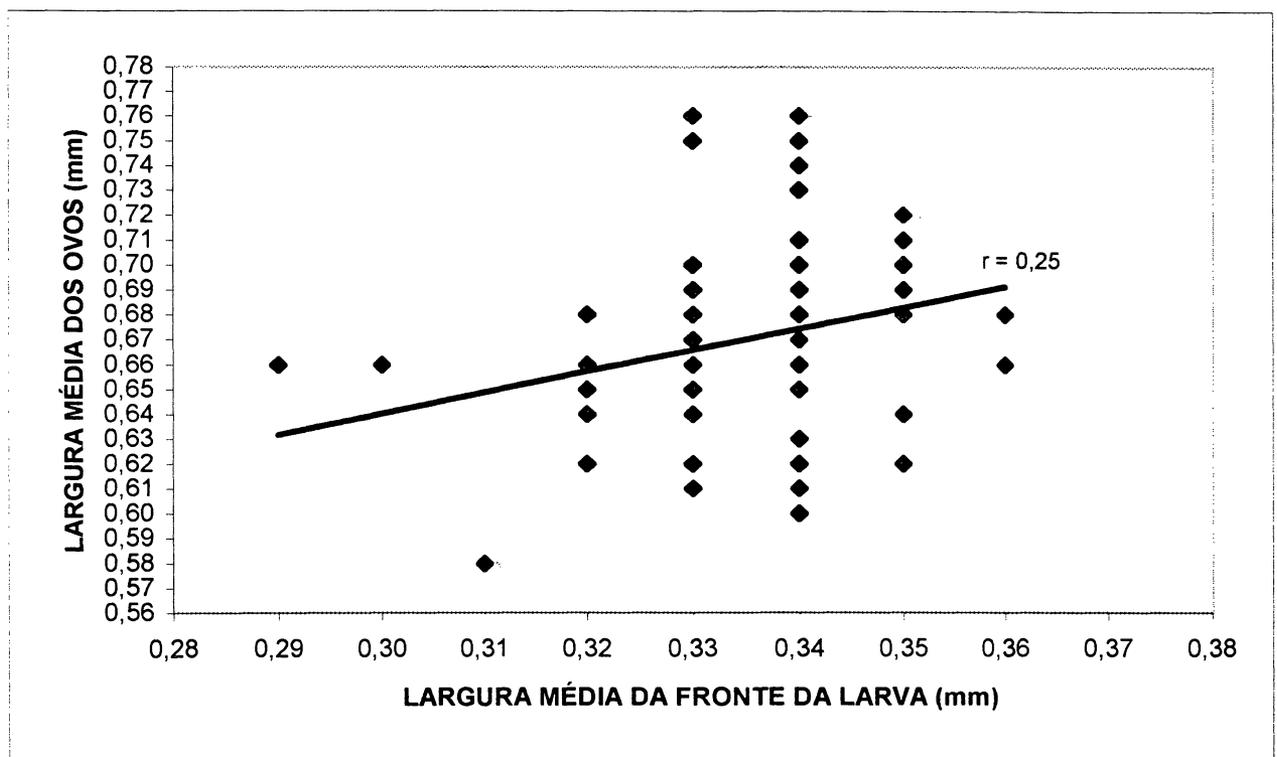


Figura 3. *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Relação entre a largura média do ovo e a largura média da larva de primeiro instar.

Tabela V. *Epilachna paenulata* (Germar, 1824). Fêmeas fecundadas (experimento 1, 2 e 3).
Número total de ovos, viabilidade dos ovos, número total de larvas, largura média dos ovos, largura média da cápsula cefálica da larva de primeiro ínstar.

	NÚMERO TOTAL DE OVOS	NÚMERO TOTAL DE LARVAS	VIABILIDADE (%)	LARGURA MÉDIA OVOS (mm)	LARGURA MÉDIA FRONTE DA LARVA (mm)
	290	138	47.6	*	*
	546	380	69.6	*	*
	685	408	59.6	*	*
	744	523	70.3	*	*
	772	288	37.3	*	*
	852	500	58.7	*	*
	981	274	27.9	*	*
	1047	386	36.9	*	*
	544	*	*	0.69	*
	560	*	*	0.64	*
	742	*	*	0.68	*
	769	*	*	0.67	*
	770	*	*	0.68	*
	816	*	*	0.67	*
	845	*	*	0.67	*
	885	*	*	0.65	*
	1005	*	*	0.65	*
	1049	*	*	0.66	*
	423	153	36.2	0.66	0,34
	427	97	22.7	0.66	0,34
	444	110	24.8	0.73	0,34
	562	161	28.6	0.70	0,34
	610	183	30	0.71	0,34
	633	55	8.7	0.67	0,32
	744	153	20.6	0.66	0,33
	782	225	28.8	0.65	0,33
	855	185	21.6	0.69	0,34
	1108	191	17.3	0.62	0,34
n	28			20	10
MÉDIA	732			0,67	0,34
AMPLITUDE	(290-1108)			(0,62-0,73)	(0,32-0,34)

*valores não obtidos.

Estes dados estão de acordo com a hipótese aventada por CROWSON (1981) de que espécies de Coleoptera com vida curta põe ovos menores e em grande número, resultado da presença de muitos ovariolos e que fêmeas com poucos ovariolos normalmente tem um período relativamente longo de vida e de produtividade de ovos.

LONGEVIDADE (Tabela I)

A longevidade observada entre as fêmeas foi de 94 a 219 dias, a média foi entre as fêmeas fecundadas foi de $138,4 \pm 33,1$ dias (tab. I). Para *E. clandestina* a longevidade variou de 146 a 341 dias.

VIABILIDADE DOS OVOS (Tabela V)

Para avaliar a viabilidade dos ovos, foram utilizados dois experimentos. No experimento em que os ovos foram mensurados e manuseados, para obtenção de sua largura, apenas 23,0 % deles resultaram na eclosão de larvas. No experimento em que os ovos não foram submetidos à mensuração o percentual de eclosão de larva subiu para 49,0% (5.917 ovos resultaram em 2.897 larvas). Além do manuseio do ovo pelo toque de instrumental para ajustar a posição para mensuração, outro fator que influencia negativamente a viabilidade dos ovos é a incidência de luz de lâmpada de filamento incandescente, que, por mais rápido que seja o procedimento, aquece o ovo.

O valor obtido para ovos não manuseados de *E. paenulata* é semelhante ao encontrado para *E. clandestina*, que resultou em 53 %, considerando apenas as posturas viáveis e muito superior ao de *E. cacica* que apresentou 8,70% de viabilidade dos ovos.

IV. CONCLUSÕES

A espécie *E. paenulata* (Germar, 1824), apresentou as seguintes características de reprodução e ontogênese:

Os ovários tem quatro estágios de desenvolvimento e são semelhantes entre as fêmeas fecundadas e não fecundadas. São encontrados de 19 a 32 ovariolos por ovário, ativos em todas as posturas.

Após a postura o ovariolo que estava no estágio 4 retorna ao estágio 2, período este que representa o intervalo entre as posturas. Para as fêmeas fecundadas foi inferior ao das fêmeas não fecundadas.

O período de pré-oviposição e intervalo médio entre as posturas é menor entre as fêmeas fecundadas. O período de pré-oviposição (eclosão do imago até a primeira postura) em fêmeas fecundadas apresentou um valor próximo do encontrado para *E. clandestina* Mulsant, 1850 e *E. varivestis* Mulsant, 1850. O período total de oviposição entre fêmeas fecundadas foi inferior ao das fêmeas não fecundadas. O período de pós-oviposição para fêmeas fecundadas foi muito inferior ao das fêmeas não fecundadas.

A longevidade das fêmeas fecundadas foi um pouco menor que a de *E. clandestina* Mulsant, 1850.

O total de ovos postos por fêmea fecundada foi muito maior que o de fêmeas não fecundadas e próximo ao valor encontrado para *E. varivestis* Mulsant, 1850. O número de ovos postos, por dia, por fêmea fecundada foi superior ao de fêmea não fecundada. O número médio de ovos, por postura por fêmea fecundada foi

superior ao de fêmea não fecundada e semelhante ao valor encontrado para *E. varivestis* Mulsant, 1850.

O número de posturas por fêmea fecundada foi muito superior ao de fêmea não fecundada e superior ao de *E. clandestina* Mulsant, 1850.

A largura dos ovos de fêmea fecundada foi um pouco menor que *E. clandestina* Mulsant, 1850, sendo que numa mesma postura ocorrem ovos de diferentes larguras.

O tamanho da cápsula cefálica da larva de primeiro instar *E. paenulata* apresentou valor um pouco inferior ao encontrado para a mesma por ALMEIDA & MARINONI (1986); e muito inferior ao de *E. spreata* Mulsant, 1824 e *E. cacica* Guérin, 1844. Não houve relação entre largura de ovo e tamanho da larva.

Os ovos não manuseados apresentaram viabilidade semelhante a encontrada para *E. clandestina* Mulsant, 1850 e muito superior a de *E. cacica* Guérin, 1844.

V.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M. A. & A. A. EL-SAEADY. 1981. Influence of temperature, photoperiod and host-plant on the bionomics of the melon ladybird *Epilachna chrysomelina* (F.) (Coleoptera : Coccinellidae). **Z. Angew. Entomol.** **91**: 256-262.
- ALMEIDA, L. M. & C. S. RIBEIRO. 1986. Morfologia dos estágios imaturos de *Epilachna cacica* Guérin, 1844 (Coleoptera: Coccinellidae). **Revta bras. Ent.** **30**(1) : 43-49.
- ALMEIDA, L. M. & R. C. MARINONI. 1986. Desenvolvimento de três espécies de *Epilachna* (Coleoptera: Coccinellidae) em três combinações de temperatura e fotoperíodo. **Pesqui. Agropec. Bras.** **21**(9): 927-939.
- ATWAL, A. S. & S. L. SETHI. 1977. Influence of different levels of temperature and relative humidity on the speed of development and survival of *Epilachna vigintioctopunctata* F. (Coleoptera: Coccinellidae) **Indian J. Ecol.** **4**(1):91-93.
- AUCLAIR, J. L. 1959. Life-history, effects of temperature and relative humidity, and distribution of the mexican bean beetle *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) in Quebec, with a review of the pertinent literature in North America. **Ann. Entomol. Soc. Que.** **5**: 18-43.

- BUNING, J. 1992. **The Insect Ovary-Ultrastructure, previtellogenic growth and evolution.** Chapman & Hall. London, 383p.
- CHAPMAN. R. F. 1969. **The Insects Structure and Function,** Hodder and Stoughton, London, 270-296.
- CHAPMAN. R. F. 1991. General Anatomy and Function, p. 33-67. In: E. B. BRITTON (2 Ed.). **The Insects of Australia: A textbook for students and Research Workers.** Vol. 1, New York, Cornell University Press, xvi+5542p.
- CHAZEAU, J., FURSCH, H. & SASAJI, H. 1989. **Newsletter for Systematic research in Coccinellids.** n° 1, Universität Passau, 21p.
- CROWSON, R.. A. 1981. **The Biology of the Coleoptera.** Academic Press, London, xii+802p.
- FONSECA, J. P. & M. AUTUORI. 1931. Contribuição para a biologia de *Solanophila clandestina* (Mulsant) (Coccinellidae: Coleoptera). **Rev. Entomol. (Rio J.)** 1(2): 219-224.
- FRIEDEL, T. & CEDRIC, G. 1977. Contribution of male-produced proteins to vitellogenesis in *Melanoplus sanguinipes*. **J. Insect Physiol.** 23: 145-151.
- GORDON, R. D. 1975. A revision of the Epilachninae of the western hemisphere (Coleoptera: Coccinellidae). **Technical Bull.** n.1493, ARS, USDA, Washington.

- HODEK, I. & A. HONEK. 1996. **Ecology of Coccinellidae**. Kluwer Academic Publishers, London, xvi+464p.
- HOWARD, N. F. 1936. Feeding of the Mexican bean beetle larva. **U.S. Dep. Agric. Farmers`Bull.** 1624, pp.1-3.
- HUIGNARD, J. 1983. Transfer and Fate of Male Secretions Deposited in Spermatophore of Females of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). **J. Insect. Physiol.** **29** (1) : 55-63.
- JONES, G. C.; M. P. HOGGARD & M. S. BLUM. 1981. Pattern and Process in Insect Feeding Behaviour Bean Beetle, *Epilachna varivestis*. **Entomol. Exp. & Appl.** **30**: 254-264.
- KATAIAMA, K., R. E. STINNER & R. L. RABB. 1979. Effects of temperature, humidity and soybean maturity on longevity and fecundity of the adult Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis* Mulsant. **Environ . Entomol.** **8**:458-464.
- KLOWDEN, M. J. & G. M. CHAMBERS. 1991. Male accessory gland substances activate egg development in nutritionally stressed *Aedes aegypti* mosquitoes. **J. Insect Physiol.** **37**(10): 721-726.
- LEOPOLD, R. A 1976. The role of male accessory glands insect reproduction. **Annu. Rev. Entomol.** **21**: 199-221.
- MAJERUS, M. E. 1994. **Lady Birds**. London, Harper Collins Publishers, 367p.

- MAREZE, C. E. 1990. Avaliação da Influência da Dieta e da temperatura no desenvolvimento de *Tribolium confusum* Duval, 1868 (Coleoptera, Tenebrionidae). Curitiba. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- MARINONI, R.C. & C. S. RIBEIRO. 1987. Aspectos bionômicos de *Epilachna paenulata* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae) em quatro diferentes plantas-hospedeiras (Cucurbitaceae). **Revt. bras. Ent.** **31**: (3): 421-430.
- MARINONI, R.C. & N. GIAMBARRESI. 1992. Sobre a oviposição e ontogenia de *Epilachna clandestina* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae). **Revt. bras. Ent.** **36** (3) : 535-540.
- NAKAMURA, K.; I. ABBAS & A. HASYIM . 1988. Population dynamics of the phytophagous lady beetle, *Epilachna vigintioctopunctata*, in an egg plant field in Sumatra. **Res. Popul. Ecol.** **30**: 25-41.
- NAKAMURA, K.; I. ABBAS & A. HASYIM. 1990. Seasonal Fluctuations of the Lady Beetle *Epilachna vigintioctopunctata* (Coccinellidae : Epilachninae) in Sumatra and Comparisons to Other Tropical Insect Population Cycles. **Hokkaido University Press**, Sapporo, Japan 274p.
- PHOOFOLO, M. W. & J. J. OBRYCKI & E. S. KRAFSUR. 1995. Temperature-Dependent Ovarian Development in *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** **88**(1): 72-79.

- PRECETTI, A. A. C. M.; J. MILANEZ; J. R. P. PARRA & E. BERTI-FILHO. 1977. Biologia e prejuízos causados por *Epilachna cacica* (Guérin, 1842) em aboboreira (*Cucurbita moschata* Duchesne). **Ecosystema** 2:23-27.
- RAJAGOPAL, D. & T.P. TRIVEDI. 1989. Status, bioecology and management of *Epilachna vigintioctopunctata* (Fab.) (Coleoptera: Coccinellidae) on potato in India : a review. **Trop. Pest Manage.** 35(4) 410-413.
- RHAMHALINGHAN, M. 1986. Variations in Ovariole Numbers/ovary in *Coccinella septempunctata* L (Coleoptera: Coccinellidae). **Proc. Indian Natn. Sci. Acad.** 52(5): 619-623.
- ROBERTSON, J. G. 1961. Ovariole Numbers in Coleoptera. **Can. J. Zool.** 39: 245-263.
- SIMMONS, L. W. 1988. The contribution of multiple mating and spermatophore consumption to the life time reproductive succes of male field crickets (*Gryllus bimaculatus*). **Ecol. Entomol.** 13: 57-69.
- STEWART, L. A ; A. F. G. DIXON, Z. RUZICKA & G. IPERTI. 1991a. Clutch and Egg size in ladybird beetles. **Entomophaga** 36(3): 329-333.
- STEWART, L. A , J. L. HEMPTINNE & A F. G. DIXON. 1991b. Reproductive tactics of ladybird beetles: relationships between egg size, ovariole number and developmental time. **Functional Ecol.** 5: 380-385.

WHEELER, D.1996. The role of nourishment in oogenesis. **Annu. Rev. Entomol. 41**: 407-431.

WEST-EBERHARD, M. J. 1986. Alternative, adaptations, speciation and phylogeny (A Review). **Proc. Natl. Acad. Sci. 83**: 1388-1392.

WILSON, K. G.; R.E. STINNER & R. L. RABB. 1982. Effects of temperature, relative humidity, and host plant on larval survival of the Mexican Bean beetle, *Epilachna varivestis* Muls. **Environ. Entomol.11**: 121-126.