

# Caracterização morfológica e ultramorfológica do sistema reprodutor feminino e ovos de adultas de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae)

## Morphological and ultrastructural morphology of the female reproductive system and eggs of adult *Hedypathes betulinus*

Maria Eliza Miyoko Tomotake<sup>1(\*)</sup>  
Rafael Alexandre Costa Ferreira<sup>2</sup>  
Angela Cristina Magatão<sup>3</sup>  
Edenilse Gomes<sup>4</sup>

### Resumo

A espécie *Hedypathes betulinus* tem larvas que formam galerias as quais afetam o sistema vascular da *Ilex paraguaiensis*, acarretando perdas significativas nos ervais. Os adultos permanecem nos galhos e se alimentam das partes aéreas e pólen do vegetal, podendo tornar o vegetal suscetível ao ataque de microorganismos. Após dissecação e separação, os cortes histológicos foram obtidos de ovários fixados em mistura de Bouin, desidratados, incluídos em parafina e os cortes corados em H.E. Para as análises ultraestruturais, os ovários foram fixados em solução de Karnovsky, metalizados com ouro em “sputtering” e colados em suportes de alumínio. O objetivo foi conhecer a morfologia do aparelho reprodutor feminino, de *H. betulinus*, visando à descrição anatômica e funcional do sistema reprodutor dessa espécie, que ocasiona perdas significativas nos ervais. O sistema reprodutor feminino de *H. betulinus* é composto por ovários do tipo meroístico politrófico, com células nutridoradas localizadas na região anterior do ovariolo e os ovócitos dispostos de acordo com seus estágios de desenvolvimento. Estruturalmente, os ovários são estruturas pares, localizadas dorso-ventralmente em relação ao intestino, cada um

- 
- 1 Dra.; Bióloga; Professora do Departamento de Biologia, Pesquisadora do Núcleo de Pesquisas Ambientais (NPA) da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO; Endereço: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, CEDETEG, CEP: 85040-080, Guarapuava, Paraná, Brasil; E-mail: tomatake@unicentro.br (\*) Autora para correspondência
  - 2 MSc.; Biólogo; Doutorando em Ciências Biológicas no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Pesquisador no Centro de Estudos de Insetos Sociais do IB-UNESP, Rio Claro; Endereço: Avenida 24-A, no 1515, Bela Vista, CEP: 13506-900, Rio Claro, São Paulo, Brasil; E-mail: rafaelalexferreira@gmail.com
  - 3 Bióloga; Laboratorista no Centro de Apoio em Patologia; Endereço: Avenida Manoel Ribal, 1082, CEP: 85070-180, Guarapuava, Paraná, Brasil; E-mail: chrisstina\_xp@hotmail.com
  - 4 Bióloga; Professora na Escola Liane Marta da Costa; Endereço: Rua Francisco de Assis, 290, CEP: 85022-220, Guarapuava, Paraná, Brasil; E-mail: edenilsegomes@hotmail.com

Recebido para publicação em 27/01/2013 e aceito em 15/06/2015

constituído por doze ovários, constituído por um filamento terminal, germário e vitelário, revestidos pela túnica própria e pela bainha peritoneal. O filamento terminal, no ápice dos ovários auxilia na sustentação dos ovários. O germário é constituído de células nutridoras, células foliculares e ovogônias. Os ovócitos podem ser classificados em I, II e III. O epitélio folicular mostra-se estratificado nos ovócitos I, simples com células alongadas nos ovócitos II e simples com células cúbicas nos ovócitos III. O vitelo apresenta-se na forma de grânulos com tamanho e densidade variada. O cálice de ovos é formado por epitélio simples cúbico.

**Palavras chave:** Cerambycidae, *Hedypathes betulinus*; sistema reprodutor; ovários; ovócitos.

## Abstract

The species *Hedypathes betulinus* species have larvae that form galleries that affect the vascular system *Ilex Paraguaiensis*, causing significant losses in the orchard. Adults remain on the branches and feed on the aerial parts of the plant and on pollen what can make the plant susceptible to microorganisms attack. After dissection and separation, histologic sections were obtained from ovaries fixed in mix of Bouin, dehydrated, embedded in paraffin and sections stained with HE. For ultrastructural analyzes the ovaries were fixed in Karnovsky solution, metalized with gold "sputtering" and glued on aluminum brackets. The goal was to understand the morphology of the female reproductive tract, *H. betulinus* and to describe the anatomy and the function of the reproductive system of this species, which causes significant losses in the orchard. The female reproductive system of *H. betulinus* consists of ovaries of the meroistic polytrophic type, with nurse cells located in the anterior region of the ovariole and the oocytes arranged according to their developmental stages. Structurally the ovaries are paired structures located dorsoventrally in relation to the intestine, each consisting of twelve ovarioles, comprising a filament end, germarium and vitellarium, coated by their own sheath and by the peritoneal sheath. The terminal filament, at the apex of ovarioles aids in support of the ovaries. The germarium made up of nurse cells, follicular cells and oogonia. Oocytes can be classified into I, II and III. The follicular epithelium shows up in stratified oocytes I, with simple elongated cells in oocytes II and with simple cubic cells into oocytes III. The calf is presented in the form of granules of size and varied density. The cup egg is formed by simple cubic epithelium.

**Keywords:** Cerambycidae; *Hedypathes betulinus*; reproductive system; ovaries; oocytes.

## Introdução

A erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hilaire (Aquifoliaceae) é espécie de clima subtropical, de crescimento lento, originária da América do Sul. No Brasil distribui-se

naturalmente na região centro-norte do Rio Grande do Sul, no estado de Santa Catarina, no centro-sul do Paraná, em pequena parte da região sudeste de São Paulo e no sul do Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA; ROTTA, 1985). Esta espécie tem um alto valor

econômico nas regiões onde é cultivada ou explorada de modo extrativista (PEDROSA-MACEDO et al., 1993; PENTEADO et al., 2000; CHIARADIA; MILANEZ, 2007; ALVES et al., 2009; BRASIL, 2009).

Sendo uma espécie nativa, a erva-mate possui uma entomofauna associada ampla, com oitenta e seis espécies de insetos causando algum tipo de dano às plantas. Destas, seis espécies podem comprometer a planta, causando a redução da produção e da qualidade da matéria-prima: *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera), *Gyropsylla espegazziniana* (Lizery e Trelles, 1919) (Hemiptera), *Thelosia camina* (Schaeis, 1920) (Lepidoptera), *Hylesia* sp (Berg, 1875) (Lepidoptera), *Ceroplastes grandis* (Hempel, 1900) (Hemiptera) e *Isomerida pectiolless* (Bates, 1881) (Coleoptera) (IEDE; MACHADO, 1989). Entre as pragas da cultura, sem dúvida, a broca da erva-mate, *H. betulinus* é a que ocasiona as perdas mais significativas na cultura de mate no Brasil.

O *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae), conhecido popularmente no Brasil como “corintiano” ou “broca da erva-mate”, na fase larval forma galerias que afetam o sistema vascular da planta. Atacando em alguns casos cem por cento das plantas em determinadas áreas, pode causar a morte das erveiras, se o ataque for repetitivo e intenso. Como as larvas estão abrigadas no interior dos galhos, limitam a ação de produtos químicos, mesmo que (estes) fosse possível sua utilização. No caso dos adultos de *H. betulinus* que se alimentam das partes aéreas e pólen do vegetal, podem afetar o desenvolvimento, bem como tornar o vegetal suscetível ao ataque de microorganismos. No caso de adultos, o controle é efetuado por meio da catação manual e queima do material coletado.

Com relação ao seu controle, o uso de agrotóxicos não é permitido e não há produtos registrados para uso na cultura, devido ao risco de resíduos tóxicos no produto final (YEDE, 1997; SOARES, 1998; BRASIL, 2009). Segundo Penteado et al. (2000), os controles químicos desses insetos é inviável economicamente, sendo mais efetivas as medidas preventivas, como podas moderadas com ferramentas adequadas, manutenção do sub-bosque, proteção das raízes, além da catação manual dos adultos.

Embora existam dados sobre biologia (CASSANELLO, 1993; GALILEO et al., 1993) e flutuação populacional de *H. betulinus* (SOARES, 1998; d’AVILA et al., 2002; BORGES, 2003), estudos morfológicos detalhados são extremamente escassos embora pudessem contribuir com novos elementos para a compreensão dos hábitos das espécies.

O sistema reprodutor, nos insetos, geralmente consiste de gônadas pares, localizadas no abdômen, cujos dutos abrem-se para o exterior por meio da abertura anal (BORROR; DELONG, 1988). Exceção observada em espécimes de *Geotrupes cavicollis* (Scarabaeidae) descrito como um único ovário (HALFFTER, 1985). Cada gônada consiste, tipicamente, de uma série de tubos, cada qual com uma área germinal que contém células sexuais primordiais. A partir dessas células, são produzidas espermatogônias ou ovogônias, as quais, à medida que se deslocam para a base do tubo, passam por sucessivos estágios de desenvolvimento (GILLOT, 1995; CHAPMAN, 1998).

Nos insetos, comumente, há presentes um par de glândulas acessórias, as quais produzem uma substância adesiva que serve para fixar o ovo ao substrato ou então substâncias que são adicionadas à casca do

ovo; além dessa estrutura, as fêmeas possuem uma espermateca, estrutura responsável pelo armazenamento de espermatozoides durante a cópula (WIGGLESWORTH, 1982; CHAPMAN, 1998).

Embora o processo de reprodução tenha sido abordado de maneira geral para os grupos de insetos, sendo um processo de produção de novos indivíduos para cada espécie. Sugere-se que o número de ovariolos encontrado no sistema reprodutor feminino possa auxiliar os taxonomistas a identificar e caracterizar espécies. Considerando que fatores como multiplicação, redução e estabilização de ovariolos possam ter ocorrido na evolução de escaravelhos, os extremos em número de ovariolos podem refletir no nível de produção de ovos. O uso de ferramentas de histologia tem sido extremamente útil em diversos contextos como filogenias (KUBRAKIEWCZ et al., 1998; SIMICZYJEW, 1998; SZKLARZEWICZ, 1998), taxonomia e controle biológico entre os insetos, como o observado por Rubio et al. (2008) na família Curculionidae, e por Sanchez et al. (1998) em *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera, Curculionidae).

O objetivo deste trabalho foi conhecer a morfologia do aparelho reprodutor feminino, de *H. betulinus*, produzindo estudo que possa fundamentar pesquisas relacionadas à reprodução nos insetos e que possam auxiliar em estudos aplicados de controle biológico.

## Material e Métodos

As coletas foram realizadas por catação manual em ervais situados na região de Guarapuava (PR). Os insetos coletados foram colocados em frascos e transportados para o Laboratório de Morfologia, do Núcleo de Pesquisas Ambientais, Setor de Agrárias e Ambientais, da Universidade Estadual

do Centro-Oeste, PR, onde, após anestesia com vapores de éter, foram dissecados, sob a lupa, em placa de Petri parafinada, contendo solução fisiológica para insetos.

Para o estudo ultramorfológico, os aparelhos reprodutores de *Hedypathes betulinus*, foram dissecados, limpos e fixados em Bouin aquoso, refixados na mistura modificada de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965). Após a fixação, armazenados em solução alcoólica a 70%. Os aparelhos reprodutores foram acondicionados em cápsulas microporos (MICROPOR SPEC CAPSULE PK/50) e desidratados em banhos subsequentes, em série crescente de concentrações de etanol (70% a 100%) e acetona 100%, por 10 minutos. Em seguida, dessecados em ponto crítico, colados em suportes de alumínio com fita adesiva dupla face e, posteriormente, vaporizados com ouro em vaporizador (“sputtering”). A análise dos aparelhos reprodutivos e respectivas micrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura PHILLIPS SEM505, do Laboratório de Microscopia Eletrônica, IB/UNESP, *campus* de Rio Claro.

Para o estudo histológico, o material foi processado conforme descrito em Beçak e Paulete (1976) e Junqueira e Junqueira (1983). Fixação na mistura de Bouin aquoso, por um período de duas a 24 horas. Desidratação em série alcoólica crescente (70%, 80%, 90%, 100%) e xilol. Inclusão em parafina. O material obtido foi: a) seccionado em micrótomo, com cinco a sete micrômetros de espessura; b) colocado em lâminas de vidro; c) corados em Hematoxilina/Eosina, passando em série alcoólica (100% a 70%) e xilol; d) montado com resina Entellan® e lamínula para posterior observação e documentação fotográfica.

Para a análise dos ovos, as fêmeas coletadas no campo foram acondicionadas em recipientes contendo galhos frescos

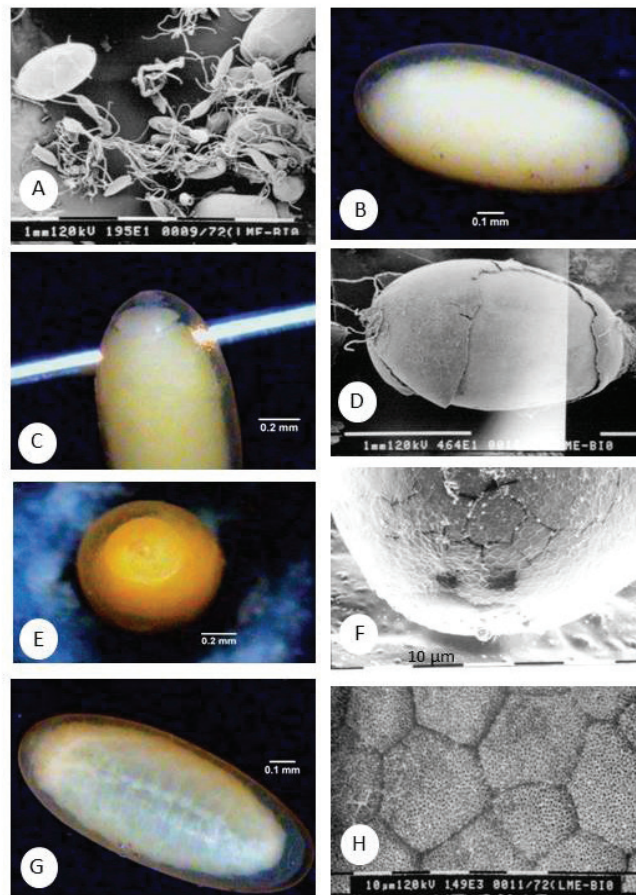
de erva-mate, e mantidos em temperatura controlada. A troca dos galhos ocorreu em períodos aproximados de 24 horas. Os galhos retirados foram analisados em estereomicroscópio, para localização das posturas. Os ovos foram retirados dos galhos e preparados para as análises.

A análise e interpretação dos resultados foram realizadas a partir dos registros fotográficos obtidos das observações das lâminas permanentes.

## Resultados e Discussão

O ovo recém-posto de *H. betulinus*, tem o formato cilíndrico, o cório transparente e liso, de coloração branco-amarelada; medindo de 2 a 3 mm de comprimento (Figura 1). Normalmente as posturas ocorrem em cavidades escavadas pelas fêmeas nos galhos superiores da erva e são protegidos por uma secreção das glândulas anais. Na porção apical de ovos recém-

Figura 1 - Aspecto geral de ovócitos, ovos e larvas de *Hedypathes betulinus*



Fonte: Tomotake, M. E. M. et al. (2013).

Nota: A – visão geral dos ovócitos em microscopia eletrônica de varredura. B – detalhe de um ovo, em montagem total. C – detalhe da região apical do ovo em visão lateral, mostrando a porção da micrópila. D – detalhe do córion de um ovo, em microscopia eletrônica de varredura. E – vista frontal da região da micrópila. F – ultra-estrutura da região da micrópila, mostrando detalhes do córion. G – visualização fase final do desenvolvimento da larva. H – ultra-estrutura do córion.



postos, observa-se uma região diferenciada, a micrópila, uma abertura que permite a fertilização dos ovócitos.

Os Coleoptera, como os demais insetos, via de regra, procuram o meio em que se desenvolvem as larvas, ou nas proximidades, para efetuarem as posturas. Como na maioria dos casos são espécies fitófagas ou que se alimentam de matéria orgânica de natureza vegetal, pelo menos na fase larval, torna-se natural que os ovos dos besouros sejam encontrados nas partes vivas ou mortas das plantas ou ainda em produtos vegetais. Os ovos ficam protegidos pela secreção das glândulas anais da fêmea, ou por uma massa constituída pela mistura de fezes e secreção. O formato dos ovos dos Coleoptera, segundo Costa e Lima (1962), geralmente de formato ovóides e de superfície lisa, às vezes, podem ter outra conformação tendendo de cilíndrica a fusiforme.

O sistema reprodutor feminino em *H. betulinus* está constituído pela vagina localizada na região posterior do abdômen, sendo constituída por substâncias que lhe conferem um aspecto endurecido. A vagina liga-se ao oviduto comum, o qual se divide formando os ovidutos laterais. Cada oviduto lateral sustenta, na sua extremidade, um ovário. Os ovários são estruturas pares localizadas dorso-ventralmente em relação ao intestino. Cada ovário é constituído por doze ovários, que se dispõem em duas fileiras: uma interna e outra externa, ao redor do ápice do cálice de ovos (Figura 2A e B). Essa constituição do sistema reprodutor feminino é semelhante ao descrito para coleópteros e outros insetos (EDWARDS, 1961; IUGA; ROSCA, 1962; CHANG, 1963; FRAGOSO, 1967; DZIECOL, 1977; WIGGLESWORTH, 1982 e 1984; BORROR; DELONG,

1988; GILLOT, 1995; CHAPMAN, 1998; GANHO, 2000).

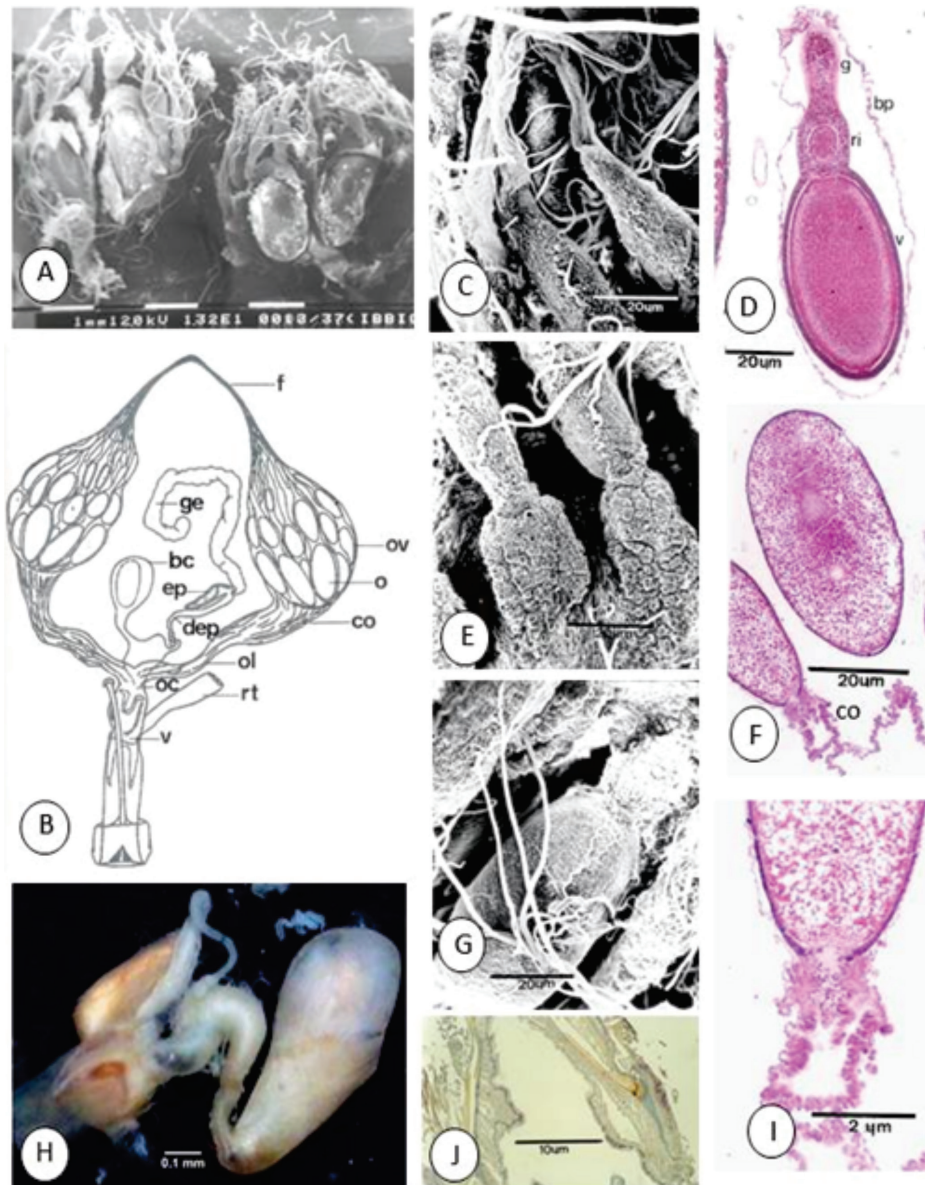
Nas fêmeas de coleópteros observam-se, ainda, como característica, a bolsa copulatória ou bursa copulatrix (SNODGRASS, 1935; WIGGLESWORTH, 1982, 1984; BÜNNING, 1994; GILLOT, 1995). A bolsa copulatória e a espermateca possuem como função primordial auxiliar na recepção do genital masculino e armazenar o esperma como observado na figura 2H.

Em *H. betulinus*, os ovários localizam-se dorso-ventralmente em relação ao intestino, com doze ovários por ovário, concordando com os resultados de Galileo et al. (1993). Os ovários dispõem-se em duas fileiras: uma externa e outra interna no cálice de ovos. O número de ovários varia entre as espécies, mas mantém-se constante dentro da mesma espécie (BORROR; DELONG, 1988; GILLOT, 1995; CHAPMAN, 1998).

As análises histológicas mostram que os ovários de *H. betulinus* são do tipo meroístico telotrófico; as células nutridoras localizam-se na região anterior do ovário e os ovócitos estão dispostos numa sequência linear, de acordo com seus estágios de desenvolvimento (Figura 2D). A presença de células nutridoras na região apical dos ovários parece ser uma característica comum aos coleópteros (KRAUSE, 1946; SCHLOTTMAN; BONHAG, 1956; GUPTA; RILEY, 1967; WIGGLESWORTH, 1982).

Os ovários são estruturas tubulares, nas quais distinguem-se, a partir da extremidade apical, o filamento terminal, o germário, o vitelário, a região intermediária e os ovócitos. O filamento terminal mostra-se como uma estrutura delicada na região anterior do ovário, cuja função é unir os doze ovários, ligando-se ao filamento de outro

Figura 2 - Aspecto geral do aparelho reprodutor feminino de *Hedypathes betulinus*



Fonte: Tomotake, M. E. M. et al. (2013).

Nota: A – visão geral dos ovários, obtida pela M.E.V. B – esquema geral do ovário: vagina (v), bolsa copulatória (bc); espermateca (ep); glândula espermatecal (ge); duto espermatecal (dep); oviduto comum (oc); oviduto lateral (ol); cálice de ovos (co); ovário (ov); ovócito (o) e filamento terminal. C – ultra-estrutura dos filamentos terminais de ovariolos, em M.E.V. D – corte histológico de um ovariolo, mostrando o vitelário (vi); região intermediária (ri); germário (g) e bainha peritoneal (bp). E e G – detalhe ultra-estrutural da região intermediária de um ovariolo e de um ovócito. F e I – corte histológico no qual observa-se um ovócito e a região do cálice de ovos (co). H – detalhe da espermateca. J – corte histológico da vagina, com detalhe das placas quitinosas.

ovariolo, formando um filamento comum ou suspensor, que fixa os ovários na parede do corpo (Figura 2C, 2D). Cada ovariolo conecta-se ao cálice de ovos, uma estrutura dilatada que compõe o oviduto lateral (Figura 2B, 2I). O oviduto, também de forma tubular, bifurca-se na região anterior, formando os ovidutos laterais, que se dilatam e formam o cálice de ovos (WIGGLESWORTH, 1964; BORROR; DELONG, 1988; GILLOT, 1995; CHAPMAN, 1998).

Circundando todo o ovariolo, de aspecto fibrilar e de morfologia semelhante à da túnica própria dos ovários, está a bainha peritoneal, composta por células pavimentosas, de citoplasma acidófilo e núcleos arredondados (Figura 3), concordantes com a constituição descrita para os insetos (DZIECIOL, 1977; CAMARGO-MATHIAS, 1993; CHAPMAN, 1998).

A região do germário constitui-se de células que se unem formando aglomerados celulares morfologicamente semelhantes. Assim, a região é formada por células com um, dois ou até três núcleos grandes, arredondados e granulosos, com citoplasma de características basófilas. Essas células correspondem aos trofócitos ou células nutridoras. A granulação dos núcleos indica células que possuem alta atividade sintetizante. Os núcleos pequenos e arredondados fazem parte das células que formarão o epitélio folicular. Nas células grandes, os núcleos arredondados estão na região medular do germário e assemelham-se às descrições feitas para ovogônias (Figura 2D, 3B, 3C). Os resultados histológicos do germário de ovariolos mostram que a constituição dessa região está de acordo com a descrição de Dzieciol (1977).

A região do germário é constituída por células somáticas e células germinais

ou ovogônias. As células somáticas sofrem divisões mitóticas completas, contribuindo para o crescimento dessa região do ovariolo. Essas células somáticas, posteriormente, dão origem ao epitélio folicular (KING; VANOUCEK, 1960; KING; KOCH, 1963; KING; AGGARWAL, 1965; MIYA et al., 1970; LIU et al., 1975; BÜNNING, 1994). As ovogônias sofrem sucessivas divisões mitóticas, originando o ovócito e as células nutridoras; os ovócitos serão envolvidos pelo epitélio folicular de origem mesodérmica (WIGGLESWORTH, 1964; ROCKSTEIN, 1964, BÜNNING, 1994, CHAPMAN, 1998).

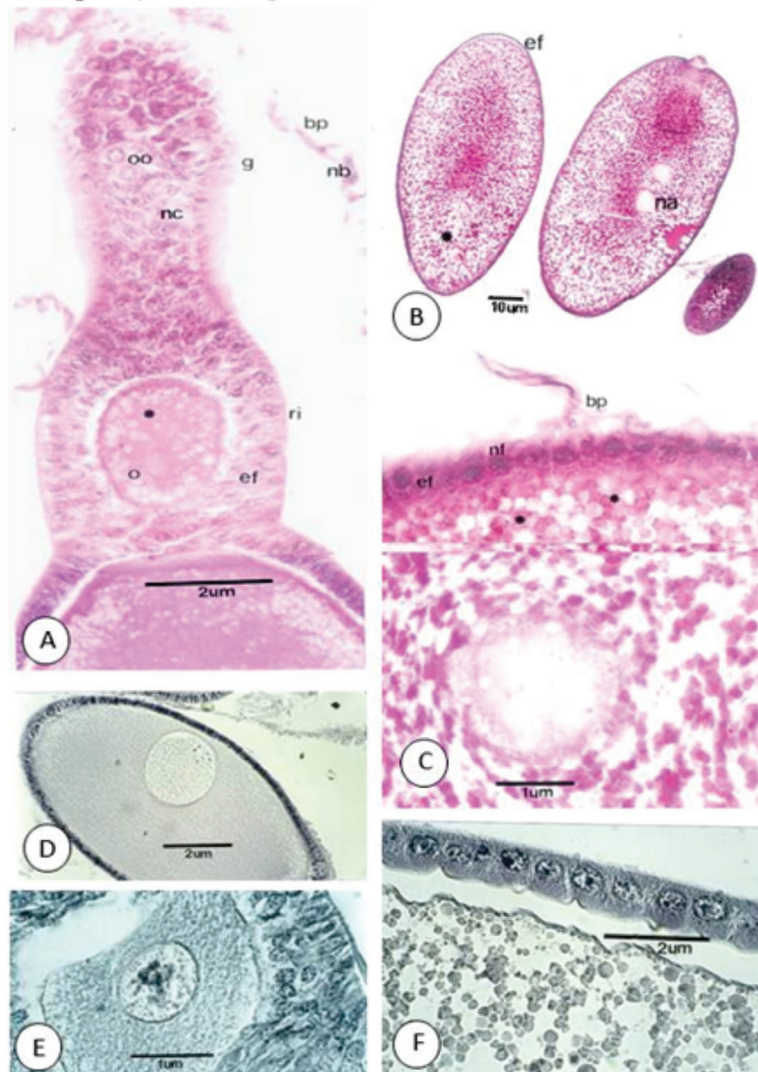
No vitelário, encontram-se ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento. Os ovócitos I estão em início de desenvolvimento, onde começa o processo de vitelogênese, localizados abaixo do germário. Os ovócitos II são aqueles em desenvolvimento intermediário e os ovócitos III estão em estágio avançado de desenvolvimento, localizados na região final do vitelário e conectados ao cálice de ovos. No vitelário, observam-se os ovócitos III e, no germário, os ovócitos em desenvolvimento e células nutridoras (Figura 2D).

Os ovócitos foram classificados como I, II e III, seguindo a classificação proposta por Camargo-Mathias (1993). No vitelário dos ovariolos, por se tratar de um ovário meroístico telotrófico, os ovócitos não se alternam com células nutridoras, mas adotam a sequência linear, conforme estágio de desenvolvimento.

Na região intermediária, caracterizada pelo término do germário e início do vitelário, inicia-se a formação do epitélio folicular, que revestirá os ovócitos. Esse epitélio, nos ovócitos tipo I, apresenta-se estratificado, com células de núcleos ovalados



Figura 3 - Aspecto geral do ovário de *Hedypathes betulinus*, obtidos por cortes histológicos (HE)



Fonte: Tomotake, M. E. M. et al. (2013).

Nota: A – montagem da extremidade apical de um ovaríolo, onde se observam a bainha peritoneal (bp), núcleos da bainha (nb); germário (g); ovogônias (oo); núcleo das células nutridoras (nc), ovócito (o) em início de desenvolvimento envolto por epitélio folicular (ef) estratificado e início da deposição de vitelo (\*) formando a região intermediária (ri). B – corte histológico mostrando três ovócitos em diferentes estágios de desenvolvimento, nos quais observam-se os grânulos de vitelo (\*), epitélio folicular (ef) envolvendo os ovócitos, a região do germário (g) e os núcleos acessórios (na). C – detalhe da região cortical de um ovócito em estágio avançado de desenvolvimento, onde observam-se a bainha peritoneal (bp), o epitélio folicular simples (ef), os núcleos (nf) das células foliculares com formato arredondado, os núcleos acessórios (na) e os grânulos de vitelo (\*). D – núcleo (N) de um ovócito (o) em estágio final de desenvolvimento. E – região intermediária em um ovaríolo, mostrando o núcleo de um ovócito (o) em início de desenvolvimento, com a cromatina condensada. F – detalhe do epitélio folicular de um ovócito.

a arredondados. À medida que o ovócito se desenvolve no ovócito II, o epitélio folicular passa a ser simples, com células alongadas e os núcleos também alongados e deslocados para a base. Em ovócitos mais desenvolvidos, os ovócitos III, o epitélio folicular assume a conformação de células cúbicas, com núcleos arredondados e fortemente basófilos.

Esse resultado tem semelhanças com os de Dzieciol (1977) que descreve ainda a transformação dos núcleos em vesículas germinativas. Alguns ovócitos mostram grupos de estruturas denominadas núcleos acessórios, corpos semelhantes aos núcleos celulares (BLOCHMANN, 1884<sup>5</sup> apud CASSIDY; KING, 1972). Segundo Camargo-Mathias (1993), os núcleos acessórios foram observados em ovócitos I e II. Em *H. betulinus*, observamos estruturas arredondadas com uma coloração clara em relação aos grânulos de vitelo, apenas nos ovócitos III.

Nos ovócitos, observa-se, no vitelo a variação na forma dos grânulos como tamanho, densidade e coloração variada, evidenciam espaços, deixando o interior dos ovócitos com aspecto reticular. Nos ovócitos I, localizados na região intermediária, a cromatina mostra-se condensada e o núcleo tem localização central. Em ovócitos III os núcleos estão deslocados para a periferia.

Em alguns ovócitos, destaca-se a presença de cório (Figuras 1F, 1I, 3E, 3F), de natureza rígida, cuja função é proteger os ovos

contra choques mecânicos, evitar dessecação, predação, proteger contra a variação de temperatura e, principalmente, promover as trocas gasosas (WIGLLESWORTH, 1964, HINTON, 1970, 1982). Estruturalmente, o cório é formado por uma camada mais interna chamada endocório, em contato com o vitelo e por uma camada externa chamada exocório, em contato com o epitélio folicular, sendo formado, em geral, por proteínas, lipídeos e carboidratos (KING; KOCH, 1963; PAUL et al., 1972; LEGAY, 1979).

O ovócito mais desenvolvido está ligado ao cálice de ovos, que se une à bainha peritoneal. Em alguns ovócitos o epitélio folicular mostra-se rompido, exatamente para possibilitar a passagem do ovócito para o cálice de ovos. A região de transição entre o ovócito e o cálice de ovos compõe-se de células alongadas, com núcleos variando de alongadas a arredondadas. O cálice de ovos é formado por um epitélio com muitas invaginações, e formado por células cúbicas. (SCHLOTTMAN; BONHAG, 1956; SANTOS, 1977).

## Considerações

Os dados obtidos neste trabalho sobre o sistema reprodutor de fêmeas adultas de *H. betulinus*, pelas técnicas de histologia e microscopia eletrônica de varredura, possibilitaram identificar e descrever morfológicamente todo o sistema reprodutor, assim como caracterizar histologicamente e ultraestruturalmente, as gônadas e as estruturas anexas ao sistema, colaborando assim, para o entendimento da dinâmica envolvida no processo de ovogênese.

5 BLOCHMANN, F.R. Ueber die metamorphose der Kerne in den Ovarialeiern und über den Beginn der Blastodermbildung bei den Ameisen. **Verh. Naturh. Med. Verein**, Heidelberg, v. 3, p. 243-247, 1884.

## Referências

- ALVES, V. S.; ALVES, L. F. A.; LEITE, L. G. Suscetibilidade da broca-da-erva-mate *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae) ao nematóide *Steinernema carpocapsae* (Nematoda, Steinernematidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.3, p.479-482, jul./set., 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. **Informações do registro de agrotóxicos e afins constantes**. Brasília, DF: CGAA/DFIA/SDA-MAPA, 2009. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 20 out. 2012.
- BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976. 574p.
- BORGES, L. R.; LÁZZARI, S. M. N.; LÁZZARI, F. A. Comparação dos sistemas de cultivo nativo e adensado de erva mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil., quanto à ocorrência e flutuação populacional de insetos. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 4, p. 563-568, 2003.
- BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Blücher, 1988. 653p.
- BÜNNING, J. O. **The insect ovary**. Ultrastructure, previtellogenic growth and evolution. Weinheim: Chapman & Hall, 1994. 400p.
- CAMARGO-MATHIAS, M. I. **Histoquímica e ultraestrutura dos ovários de operárias e rainhas de formigas *Neoponera villosa* (Hymenoptera: Ponerinae)**. 1993. 156 f. Tese (Doutorado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1993.
- CASSANELLO, A. M. L. **Ciclo de vida e aspectos morfológicos de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiinae), broca-da-erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. 1993. 59 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 1993.
- CASSIDY, J. D.; KING, R. C. Ovarian development in *Habrobacon juglandis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) I. The origin and differentiation of the oocyte-nurse cell complex. **Biological Bulletin**, v. 143, n. 3, p. 483-505, 1972.
- CHANG, S. C. The morphology of the genitalia and associated abdominal segments of *Monochamus carolinensis* (Olivier) (Coleoptera: Cerambycidae). **Quarterly Journal of Taiwan Museum**, Taipei, v. 18, n. 3/4, p. 453-470, 1963.
- CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 6. ed. New York: American Elsevier, 1998. 819p.

CHIARADIA, L. A.; MILANEZ, J. M. **Pragas da erva-mate no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2007. 38p. (Boletim Técnico, 134).

COSTA, L. **Insetos do Brasil**. 12. ed. São Paulo: [S.I.], 1962.

D'AVILA, M.; COSTA, E. C.; GUEDES, J. V. C. Bioecologia e manejo da broca-da-erva-mate, *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae). **Ciência Florestal**, v. 16, n. 2, p. 17-26, 2002.

DZIECIOL, M. T. **A Anatomia e histologia do aparelho reprodutor feminino de *Polyrhaphis spinipennis* Laporte, 1840 (Coleoptera - Cerambycidae)**. 1977. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 1977.

EDWARDS, J. S. On the reproduction of *Prionophus reticularis* (Coleoptera: Cerambycidae), with general remarks on reproduction in the Cerambycidae. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v.102, n. 4, p. 519-530, 1961.

FRAGOSO, S. A. Sobre *Oncideres serville*, 1835 (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiínae). **Atas Sociedade Biologica**, Rio de Janeiro, v.11, n.3, p.101-108, 1967.

GALILEO, M. H. M.; MARTINS, U. R.; MOURA, L. A. Comportamento, ontogenia e morfologia do aparelho reprodutor de *Hedypathes betulinus* (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiínae, Acanthoderini) a broca da erva-mate. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.37, n.4, p.705-715, 1993.

GANHO, N. G.; MARINONI, R. C. Algumas características da reprodução e ontogênese de *Epilacha paenulata* (Germar, 1824) (Coleoptera, Coccinellidae, Epilachninae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v.17, n.2, p. 445-454, 2000.

GESSNER, A. A. F. **Estudo comparativo da morfologia e da histologia do tubo digestivo das larvas de Cerambycidae (Coleoptera) e sua importância na classificação**. 1990. 115 f. Tese (Doutorado em Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1990.

GILLOT, C. **Entomology**. New York: Plenum, 1995. 798 p.

GUPTA, A. P.; RILEY, R. C. Female reproduction system and histology of the ovariole of the asparagus beetle, *Crioceris asparagi* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 1967.

HALFFTER, V.; GUERRERO, L. Y.; HALFFTER, G. Nesting and ovarian development in *Geotrupes cavicollis* (Coleoptera: Scarabaeidae). **Acta Zoologica**, v. 7, p. 1-26, 1985.

HINTON, H. E. Insect egg shells. **Scientific American**, v. 223, p. 84-91, 1970.

HINTON, H. E. **Biology of insect egg shells**. Oxford: Pergamon, 1982. p. 212.



- IEDE, E. T.; MACHADO, D. C. Pragas da erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hilarie e seu controle. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n.18/19, p.51-60, 1989.
- IUGA, V. G.; ROSCA, A. La morphologie de l'apex abdominal chez les Cerambycidae (Coleoptera), comparé à celui des Hyménoptères. **Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle Grigore Antipa**, v. 3, p. 101-156, 1962.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 524p.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, v.27, 137-138A, 1965. In: HAYAT, M. A. **Basic electron microscopy techniques**. New York: Von Nostrand Reinhold, 1972. p.53.
- KRAUSE, M. L. The structure of the gonads of the wood eating beetle, *Passalus comufus* Fabricius. **Annual Entomological Society of America**, 1946.
- KING, R. C.; AGGARWAL, S. K. Oogenesis in *Hyalophora cecropia*. **Growth**, v. 29, p. 17-83, 1965.
- KING, R. C.; CASSIDY, J. D.; ROUSSET, A. Gametogenesis in Insects In: \_\_\_\_ **Insect ultrastructure**. New York: Plenum, 1982. p. 3-31.
- KING, R. C.; KOCH, E. A. Studies on the ovarian follicle cells of *Drosophila*. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 104, p. 297-320, 1963.
- KING, R. C.; VANOUCEK, E. G. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. X. Studies on the behavior of the follicle cell. **Growth**, v. 24, p. 333-8, 1960.
- KUBRAKIEWICZ, J.; JEDRZEJOWSKA, I.; BILIŃSKI, S. M. Neuropteroidea: diferente ovary structure in related groups. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 36, n.4, p.179-187, 1998.
- LEGAY, J. M. Oocyte growth. **Biochimical**, v. 61, p. 137-145, 1979.
- LIU, T. P.; DARLEY, J. J.; DAVIES, D. M. Differentiation of ovariole follicular cells and formation of previtellogenin-membrane substance in *Simulium vittatum* Zetterstedt (Diptera: Simuliidae). **International Journal of Insect Morphology+Embryology**, v. 4, p. 331-340, 1975.
- MARTINS, U. R. *Coleoptera, Cerambycidae*. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. (Ed.). **São Paulo, Brasil: Síntese do conhecimento ao final do século XX. Invertebrados terrestres**. São Paulo: BIOTASP/FAPESP, 1999. v. 5, cap. 13, p. 123-132.
- MIYA, K.; KURIHARA, M.; TANIMURA, I. Electron microscope studies on the oogenesis of the silkworm, *Bombyx mori* L. III. (Fine structure of follicle cells and ovarian sheath). **Journal of the Faculty of Agriculture**, Iwate University, v. 10, p. 1-17, 1970.

OLIVEIRA, M. Y. M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS – SILVICULTURA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), 10., 1985 Curitiba-PR. Novembro 28-30, 1983. **Anais...** Curitiba, EMBRAPA, CNPF, 1985. p. 47-52.

ORREDA, J.; M. **Pequena história do mate.** Irati: Debate, 1968. 70 p.

PAUL, M.; GOLDSMITH, M. R.; HUNSLEY, J. R.; KAFATOS, F. C. Specific protein synthesis in cellular differentiation. Production of eggshell proteins by silkworm follicular. **Journal of Cell Biology**, v. 55, p. 653-680, 1972.

PEDROSA-MACEDO, J. H.; BERTI FILHO, E.; SANTOS, H. R.; COSTA, E. C.; MARQUES, E. N.; PERES FILHO, O.; MUELLER, J. A.; FAVA, H. H. P.; ROCHA, M. P.; PIETROWSKI, V.; NASCIMENTO, E. N.; SILVA, L. K. F. Pragas florestais do sul do Brasil. In: PEDROSA-MACEDO, J. H. (Ed.). **Manual de pragas florestais**, v. 2, Viçosa: Folha de Viçosa, 1993. 111p.

PENTEADO, S. R. C. Principais pragas da erva-mate e medidas alternativas para o seu controle. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J. E. de A.; et al. **Erva mate: biologia e cultivo no cone-sul.** Porto Alegre: UFRGS, 1995. p. 109-120.

PENTEADO, S. R. C.; IEDE, E. T.; LEITE, E. M. S. P. Pragas da erva-mate: perspectivas de controle. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2., REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3., Encantado, **Anais...** Porto Alegre: Comissão dos Organizadores / Universidade do Rio Grande do Sul / Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, 2000. p. 27-38.

ROBERTSON, J. G. Ovariole numbers in Coleoptera. **Canadian Journal of Zoology**, v. 39, n. 3, p. 245-263, 1961.

ROCKSTEIN, M. **The physiology of insecta.** New York: Academic Press, 1964. v. 1, cap.III.

RUBIO, G.J. D.; BUSTILLO, P.A. E.; VALLEJO, E. L. F.; ACUÑA, Z.J. R.; BENAVIDES, M. P. Alimentary canal and reproductive tract of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n.2, p.143-151, 2008.

SANCHEZ, P. A.; SANCHEZ, F.; JAFFE, K.; CAETANO, F. Ultrastructure of the gland responsible for the synthesis of an aggregation pheromone in *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera, Curculionidae). **The Coleopterist Bulletin**, v. 52, p. 297-305, 1998.

SANTOS, D. C. **Folículos ovarianos de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae):** formação e desenvolvimento pré-vitelogênico. 1997. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, 1997.

SANCHEZ, P. A.; SANCHEZ, F.; CAETANO, F. H.; JAFFE, K. El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum* (L.) Morfología y ultraestructura. **Boletín de Entomología Venezolana**, v. 15, p. 195-216, 2000.

SANTOS, E. **Zoologia brasileira**: os insetos. Belo Horizonte: Itatiaia Ltda, 1985. 243 p. (v. 2).

SCHLOTTMAN, L. L.; BONHAG, P. F. **Histology of the ovary of the adult mealworm, *Tenebrio molitor* L.** (Coleoptera, Tenebrionidae). Berkeley: University of California Publications in Entomology, 1956.

SIMICZYJEW, B.; OGORZAŁEK, A.; STYS, P, Heteropteran ovaries: variation on the theme. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v.36, n.4, p.147-156, 1998.

SNODGRASS, R. E. **Principles of insect morphology**. New York: Mc Graw-Hill Book, 1935. 667 p.

SOARES, C. M. S. **Flutuação populacional, aspectos comportamentais e levantamento de inimigos naturais de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae), em um povoamento puro e erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilarie).** 1998. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 1998.

SZKLARZEWICZ, T. The ovaries of scale insects (Hemiptera, Coccinea). Morphology and phylogenetic conclusions. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 36, p. 157-165, 1998.

WIGGLESWORTH, V. B. The hormonal regulation of growth and reproduction of insects. **Advances in Insect Physiology**, v. 2, p. 247-236, 1964.

\_\_\_\_\_. **The principles of insects physiology**. New York: John Wiley, 1982. p. 827.

\_\_\_\_\_. **Insect physiology**. New York: Chapman and Hall, 1984. p. 191.