

Supplementary Material for Wu, Pengxiang, XiaofeiXiong, Zhen Li, Shuo Yan, Xiaoxia Liu and Qingwen Zhang —Developmental continuity between larval and adult leg patternings in *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). Florida Entomologist 98(1) (March 2015) at <http://purl.fcla.edu/fcla/entomologist/browse>.

Corresponding authors: Dr. Xiaoxia Liu and Dr. Qingwen Zhang
Department of Entomology, China Agricultural University
Yuanmingyuan West Road, Beijing 100193, China
Phone: 86-10-62733946, Fax: 86-10-62733946
liuxiaoxia611@cau.edu.cn; zhangqingwen@263.net

Abstract

Complete metamorphosis, a key innovation in insect development, promotes diversification of species, but whether larval and adult morphologies evolve independently remains unknown. To analyze morphological continuity between the legs of the larva and the adult, the regeneration frequencies and lengths of regenerated legs of the seven-spotted lady beetle, *Coccinella septempunctata* (Coccinella: Coccinellidae), were studied in the laboratory. The results showed the regenerated legs appeared only in the adult stage rather than in the larval instars. Regeneration frequency was greater following half ablation than after complete ablation and decreased with increasing instar of the ablated larvae, but it was unaffected by the thoracic location of the ablated leg or the side of the body to which the leg was attached. The length of the regenerated leg was longer in half ablation than in complete ablation, but it had no significant relationship with the above locations and the number of the instar. Partially regenerated legs in complete ablation were shorter than in half ablation, while completely regenerated legs appeared to be slightly shorter than the contralateral legs, which had not been ablated. A critical point in time of development when the frequency of leg regeneration began to decline was found to be at day 3.5 of the fourth instar's stadium. Subsequently on day 4, the regeneration frequency became quite small. The present study indicated that adult leg patterning is inherited from the larval leg and does not develop independently of the larval leg. Thus larval morphology constrains adult morphology in *C. septempunctata*.

Key Words: *Coccinella septempunctata*, critical period for leg regeneration, developmental continuity, length of regenerated leg, regeneration frequency

Resumen

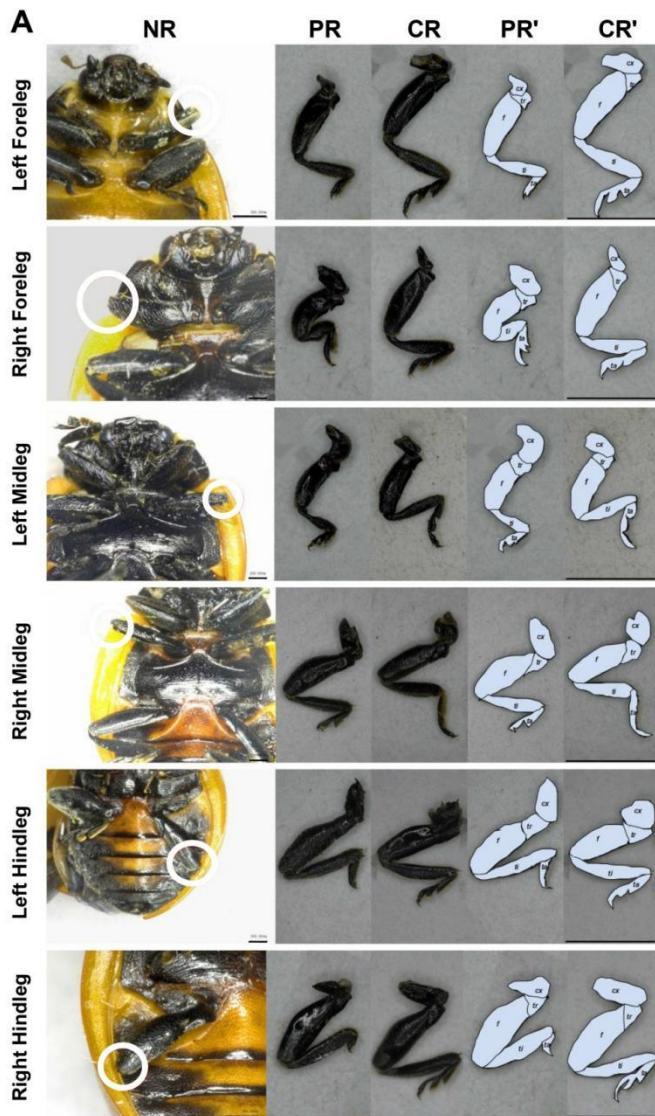
La metamorfosis completa, comounainnovación clave, promueve la diversificación de las especies,

pero si la morfología de las larvas y los adultos evolucionan de una forma independiente sigue siendo desconocida en gran parte. Para analizar la continuidad morfológica de las patas en las larvas y los adultos, la frecuencia de regeneración y la longitud de las patas regeneradas de *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) fueron estudiadas en el laboratorio. Los resultados mostraron que después de la ablación de las patas en las larvas, en todos los casos, se presentan patas regeneradas en el estadio adulto, pero no en el estadio larval. La frecuencia de regeneración fue mayor cuando sólo la mitad distal de la pata fue cortada (corte medio) que cuando toda la pata fue eliminada (corte completo). Además, la frecuencia de regeneración fue menor en el cuarto estadio que en los 3 estadios anteriores. Sin embargo, la frecuencia de regeneración no fue afectada por la ubicación (del segmento torácico) ni el lado del cuerpo con la pata cortada. Las patas regeneradas fueron más largas en el tratamiento de corte medio que en el tratamiento de corte completo, pero la longitud de las patas regeneradas no se relacionaron significativamente con su ubicación torácica o el estadio larval durante el cual se había producido el corte. Las patas parcialmente regeneradas en el tratamiento de corte completo fueron más cortas que en el tratamiento de corte medio, mientras que las patas completamente regeneradas aparecían ligeramente más cortas que las del control. Se encontró que el período crítico final para la regeneración de las patas sucedió en el día 3.5 del cuarto estadio. El presente estudio indicó que el patrón de las patas de los adultos fue heredado de las patas de las larvas, y que las patas de los adultos no se desarrollaron independientemente de las patas de las larvas.

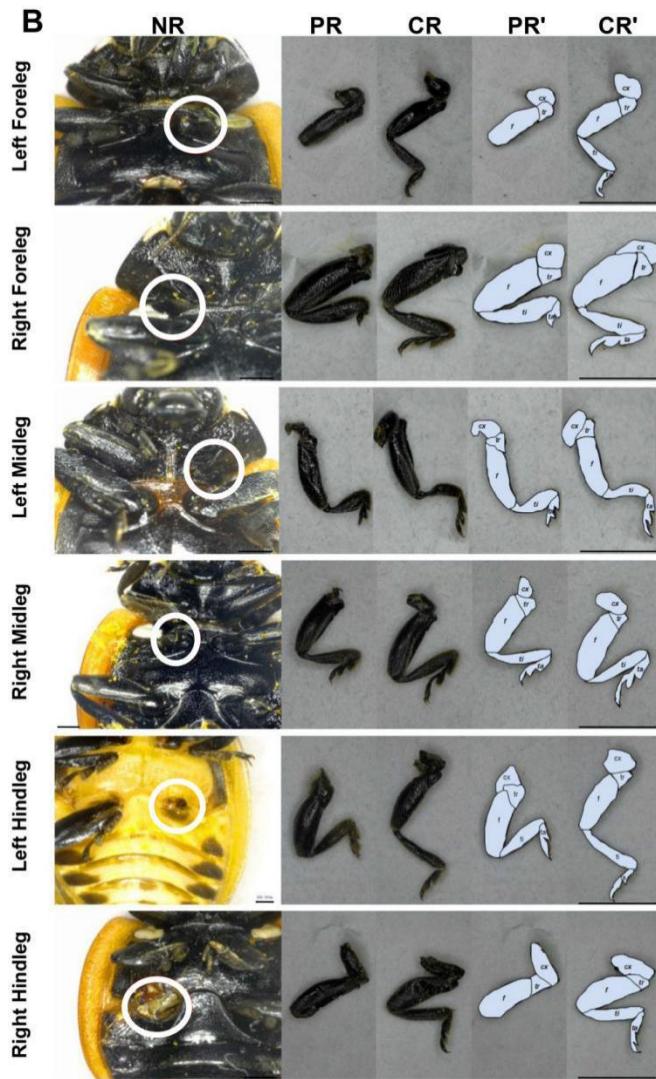
Palabras Clave: ablación, período crítico, regeneración de la patas; continuidad del desarrollo; frecuencia de regeneración, mariquitas de sietemanchas



Suppl. Fig. 1. Complete ablation: larval leg of in *C. septempunctata* was ablated at the base of the coxa. Half ablation: larval leg was ablated at the base of the tibia. Scale bars equal 500 μm .



Suppl. Fig. 2. The effects of half ablation on adult leg regeneration in *C. septempunctata*. (**Left Foreleg**): Phenotypes of the forelegs of adults derived from larvae whose left forelegs had been half ablated. No regeneration (**NR**) in the circle, partial regeneration (**PR**) and complete regeneration (**CR**) are shown. In the 2 columns on the right, **PR'** and **CR'** are color-level inversion images of the leg segments highlighted. Each scale bar equals 500 μm .



Suppl. Fig. 3. The effects of complete ablation on adult leg regeneration in *C. septempunctata*.

(Left Foreleg): Phenotypes of the forelegs of adults derived from larvae whose left forelegs had been completely ablated. No regeneration (**NR**) in the circle, partial regeneration (**PR**) and complete regeneration (**CR**) are shown. In the 2 columns on the right, **PR'** and **CR'** are color-level inversion images of the leg segments highlighted. Each scale bar equals 500 μm .