

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 27/02/2022

Fernando Cesar Silva Junior

**Aspectos estruturais e ultraestruturais das espermátides de percevejos
fitófagos (Heteroptera: Pentatomidae)**

São José do Rio Preto
2020

Fernando Cesar Silva Junior

**Aspectos estruturais e ultraestruturais das espermátides de percevejos
fitófagos (Heteroptera: Pentatomidae)**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação de Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES e FAPESP – Processo:
2016/10135-9

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Massumi Itoyama

São José do Rio Preto
2020

S586a Silva Junior, Fernando Cesar
Aspectos estruturais e ultraestruturais das espermátides de
percevejos fitófagos (Heteroptera: Pentatomidae) / Fernando Cesar
Silva Junior. -- São José do Rio Preto, 2020
81 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio
Preto
Orientadora: Mary Massumi Itoyama

1. Polimorfismos. 2. Polimegalia. 3. Lobo harlequin. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Fernando Cesar Silva Junior

**Aspectos estruturais e ultraestruturais das espermátides de percevejos
fitófagos (Heteroptera: Pentatomidae)**

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Biociências, junto
ao Programa de Pós-Graduação de Biociências, do
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES e FAPESP – Processo:
2016/10135-9

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Mary Massumi Itoyama
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dr^a. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Patricia Simone Leite Vilamaior
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Rita Luiza Peruquetti
UNISAGRADO – Câmpus de Bauru

Prof^a. Dr^a. Silvana Gisele Pegorin de Campos
UFSJ – Câmpus de Divinópolis

São José do Rio Preto
27 de Fevereiro de 2020

“Dedico este trabalho aos meus pais, Maria de Lourdes Marques dos Santos e Fernando Cesar Silva por sempre me ajudarem e apoiarem em todos os momentos. Muito Obrigado!”

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Maria de Lourdes Marques dos Santos e Fernando Cesar Silva e meu irmão Gabriel Marques dos Santos Silva por estarem sempre me apoiando em todas as etapas dessa caminhada, me incentivando em qualquer escolha que fizesse, e por tudo que me ensinaram em minha vida;

Aos meus grandes amigos que me acompanham desde o ensino fundamental Carolina Anália Rocha Costa e Lázaro Maria da Silva Neto por estarem sempre comigo em momentos bons ou ruins. Amo vocês;

À minha família em geral por sempre se orgulharem de mim, pelas sábias palavras de incentivo e por sempre me apoiarem;

À minha orientadora, Profa. Dra. Mary Massumi Itoyama, pela oportunidade que me deu e por não só me formar como pesquisador, mas também como uma pessoa melhor;

Aos meus grandes amigos e companheiros de laboratório Luis Lenin Vicente Pereira e Tatiani Seni de Souza Firmino por serem pessoas maravilhosas e estarem comigo nos momentos mais importantes, sempre me apoiando;

A todos os grandes amigos que fiz durante os anos graduação e pós-graduação, em especial Wândria Coelho, Juliana Rezende, Nayara Oliveira, Keila Dantas de Moura, Ana Beatriz Bortolozo de Oliveira, Fernanda Fernandez Madeira, Cecília Ártico Banho, Ana Letícia Guerra, Giovana Menezes Nunes, Amanda Ravazi, Kaio Cesar Chaboli Alevi, Felipe Miranda Ramos, Juliana Birello, Marcelia Georgia Candido dos Santos, Danilo Machado, Renan Willian da Costa, Simone Alves Reis Lira, Rômulo Ornelas de Oliveira Junior e Rodrigo Moraes por todas as conversas, desabafos, momentos felizes e tristes que passamos durante todo esse período. Levarei vocês para sempre em meu coração;

À minha grande amiga Emi Rosane Silistino de Souza por sempre me acompanhar e me apoiar em tudo, por me fazer rir, me fazer companhia todos os dias, por ser uma das melhores e mais incríveis pessoas que eu pude conhecer nesses anos todos. Muito obrigado por tudo;

À Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de São José do Rio Preto por me receber e possibilitar que realizasse esse sonho;

A banca examinadora da qualificação Prof^a. Dr^a. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira e Prof^a. Dr^a. Patricia Simone Leite Vilamaior por todos os conselhos dados.

Aos membros da banca examinadora Prof^a. Dr^a. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira, Prof^a. Dr^a. Patricia Simone Leite Vilamaior, Prof^a. Dr^a. Rita Luiza Peruquetti e Prof^a. Dr^a. Silvana Gisele Pegorin de Campos por disponibilizarem seu tempo e pela contribuição preciosa ao meu trabalho;

Por último, mas não menos importante, agradeço aos técnicos Me. Luiz Roberto Faleiros (IBILCE-UNESP), a Sr^a. Maria Dolores Seabra Ferreira e Sr. José Augusto Maulin (FMRP-USP) pela colaboração na realização das técnicas e captura das imagens, por tudo que aprendi com vocês e por sempre me auxiliarem quando precisei;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço,

Agradeço à FAPESP pelo financiamento do projeto, sob o processo nº 2016/10135-9, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Agradeço a todas as pessoas que conheci desde o cursinho até este momento por me auxiliarem a ser uma pessoa melhor em todos os aspectos. A todos vocês muito obrigado!

RESUMO

Dentro da subordem Heteroptera algumas espécies pertencentes a família Pentatomidae apresentam espermátides polimórficas em seus lobos testiculares que são oriundas de dois fenômenos: a polimegalia e o lobo *harlequin*. Para a investigação dessas espermátides polimórficas e de seu desenvolvimento comparadas às espermátides não polimórficas, foram coletadas em São José do Rio Preto as espécies *Antiteuchus tripterus*, *Edessa meditabunda*, *Loxa deducta* e *Proxys albopunctulatus* (Pentatomidae, Heteroptera). Os machos tiveram seus testículos extraídos, fixados e incluídos em parafina ou resina. O material incluído em parafina foi cortado e corado com hematoxilina/eosina (HE) e analisados em microscopia de luz, outros testículos, destas quatro espécies, foram incluídos em resina e analisados em microscópio eletrônico de transmissão (MET). Os testículos *A. tripterus* são alongados e divididos em 6 lobos, sendo 1 a 3 sem alterações, 4 e 6 com polimegalia e o 5 o lobo *harlequin*. Foi possível observar, também, que os lobos 4 e 6 possuem espermátides grandes enquanto o 5 apresenta espermátides pequenas. Em MET foi possível observar em todos os lobos a formação da cauda da espermátide onde ocorre a formação dos derivados mitocondriais e a posterior formação do axonema entre os derivados. Além disso, foi detectada a presença de três tipos de espermatozoides no ducto eferente, sendo estes oriundos dos diferentes lobos. Há o espermatozoide maior com morfologia alongada com pequenas protuberâncias em suas extremidades; o intermediário com morfologia reniforme com a extremidade apical maior que a extremidade basal e o menor e o mais arredondado quando comparado aos demais. Já nas espécies *E. meditabunda*, *L. deducta* e *P. albopunctulatus* foi possível se observar a morfologia do testículo e formação da cauda dos espermatozoides onde em *E. meditabunda* o testículo apresentou quatro lobos todos sem alterações, também se observou só um tipo de espermátide com forma arredondada que dá origem a um tipo de espermatozoide, já *L. deducta* apresentou sete lobos testiculares sendo o 5 o *harlequin* e os demais sem alterações. Foi possível observar a presença de um tipo maior e arredondado de espermátide oriunda dos lobos sem alterações e um tipo menor e de morfologia irregular originado do lobo *harlequin*, sendo possível observar dois tipos de espermatozoides no ducto eferente onde o primeiro tipo é menor e mais arredondado, com pequenas estruturas paracristalinas em seu interior e o segundo tipo é maior e mais retangular e com grandes estruturas paracristalinas. Em *P. albopunctulatus* se observou seis lobos testiculares, sendo o 4 e 6 com polimegalia e os demais sem alterações, também foi possível visualizar espermátides normais e arredondadas presentes nos lobos sem alterações, enquanto nos

lobos com polimegalia estavam presentes espermátides gigantes com muitas mitocôndrias e vesículas em seu citoplasma. Já a compactação da cromatina ocorreu de maneira semelhante nas espécies estudadas, ela se torna finamente granulada e começa a se aglomerar onde dá origem a cromatina filamentar que se aglomera para preencher o núcleo se tornando completamente compactada. Esse processo ocorre de maneira muito semelhante nas espermátides oriundas de lobos sem alterações, com polimegalia e do *harlequin*, além de que nas espermátides do lobo *harlequin* foram encontradas todas as estruturas que compõem a cabeça dos espermatozoides.. Portanto com este estudo podemos concluir que na espécie *A. tripterus* e *L. deducta*, os seus diferentes lobos testiculares produzem diferentes tipos de espermatozoides, sendo que estes apresentam todas as estruturas necessárias para serem funcionais e que estes diferem morfológicamente entre si, a formação dos componentes da cabeça e da cauda dos espermatozoides se dá de maneira semelhante nas quatro espécies e em outros insetos estudados, a condensação da cromatina se deu de maneira semelhante em *A. tripterus* e *L. deducta* seguindo um padrão anteriormente descrito. Existem diferenças morfológicas entre os derivados mitocondriais das espécies estudadas e até mesmo na mesma espécie em espermatozoides oriundos de diferentes lobos testiculares o que pode fazer que através de novos estudos esses caracteres morfológicos sejam usados como ferramentas de identificação de novas espécies.

Palavras-chave: Polimorfismos. Polimegalia. Lobo *harlequin*.

ABSTRACT

Within the suborder Heteroptera, some species belonging to the Pentatomidae family show alterations in some of their testicular lobes, where we can show the polymegaly and the harlequin lobe. For the investigation of these polymorphic cells and their development compared to non-polymorphic cells, the species *Antiteuchus tripterus*, *Edessa mediatubunda*, *Loxa deducta* and *Proxys albopunctulatus* (Pentatomidae, Heteroptera) were collected in São José do Rio Preto. The males had their testicles extracted, fixed and included in paraffin or resin. The material included in paraffin was cut and stained with hematoxylin / eosin (HE) and analyzed under light microscopy, other testicles, of these four species, were included in resin and analyzed using a transmission electron microscope (TEM). The testicles *A. tripterus* are elongated and divided into 6 lobes, 1 to 3 without changes, 4 and 6 with polymegaly and the 5 the harlequin lobe. It was also possible to observe that lobes 4 and 6 have large cells while 5 has small cells. In TEM, it was possible to observe the formation of the sperm tail in all lobes where the formation of the mitochondrial complex occurs, which divides into two mitochondrial derivatives and the subsequent formation of the axoneme between the derivatives. In addition, the presence of three types of sperm in the efferent duct was detected, these coming from different lobes. There is the larger sperm with elongated morphology with small protuberances at its ends; the intermediate with reniform morphology with the apical extremity larger than the basal extremity and the smaller and more rounded when compared to the others. The chromatin compaction, on the other hand, becomes finely granulated and begins to clump where it gives rise to the filamentary chromatin that clusters to fill the nucleus and becomes completely compacted. This process occurred in a very similar way in the sperm cells from lobes without changes, with polyimegaly. and the harlequin, besides that in the harlequin lobe sperm cells all the structures that make up the head of the spermatozoa were found. In the *E. mediatubunda*, *L. deducta* and *P. albopunctulatus* species, it was possible to observe the testis morphology and the formation of the sperm's tail, whereas in *E. mediatubunda* the testis showed four lobes, all without alterations, only one type of sperm was also observed. with a rounded shape that gives rise to a type of sperm, *L. deducta* presented seven testicular lobes, the 5 being the harlequin and the others without alterations. It was possible to observe the presence of a larger and rounded type of sperm from the lobes without alterations and a smaller type and irregular morphology originating from the harlequin lobe, being possible to observe two types of spermatozoa in the efferent duct where the first type is smaller and more rounded, with small paracrystalline structures inside and the

second type is larger and more rectangular and with large paracrystalline structures. In *P. albopunctulatus*, six testicular lobes were observed, with 4 and 6 with polyimegaly and the others without changes, it was also possible to see normal and rounded spermatids present in the lobes without changes, while in the lobes with polyimegaly, giant spermatids were present with many mitochondria and vesicles in your cytoplasm. Also in *L. deducta* the condensation of the chromatin observed occurred in a very similar way in the spermatids originating from lobes without alterations and from the harlequin to that previously described for *A. tripterus*. Therefore, with this study we were able to conclude that in the species *A. tripterus* and *L. deducta*, their different testicular lobes produce different types of sperm, which have all the necessary structures to be functional and that these differ morphologically, the formation of components of the head and tail of the sperm are similar in the four species and in other insects studied, the chromatin condensation occurred in a similar way in *A. tripterus* and *L. deducta* following a pattern previously described. There are morphological differences between the mitochondrial derivatives of the studied species and even in the same species in spermatozoa from different testicular lobes, which may cause these morphological characters to be used as tools to identify new species through new studies.

Keywords: Polymorphisms. Polimegaly. Harlequin lobe.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Objetivos	17
1.1.1	Objetivo Geral	17
1.1.2	Objetivos Específicos	17
2	ARTIGO 1 - Structural and ultrastructural analysis of <i>Antiteuchus tripterus</i> (Heteroptera: Pentatomidae: Discocephalinae) testes with emphasis on spermiogenesis of their different lobes	18
	Abstract	18
1	Introduction	19
2	Material and methods	20
2.1	Light microscopy processing and analysis	20
2.2	Transmission Electron Microscopy processing and analysis	20
3	Results	20
4	Discussion	22
5	References	24
3	ARTIGO 2 - Transformações nucleares, durante a espermiogênese, nos diferentes tipos de lobos testiculares de <i>Antiteuchus tripterus</i> (Pentatomidae: Discocephalinae)	32
	Resumo	32
1	Introdução	33
2	Material e Métodos	34
2.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	34
3	Resultados	34
3.1	Lobos sem alterações	34
3.2	Lobos com polimegalia	35
3.3	Lobo <i>harlequin</i>	35
4	Discussão	36
5	Referências	37
4	ARTIGO 3 - Caracterização ultraestrutural da espermiogênese de espécies de Edessinae (<i>Edessa meditabunda</i>) e Pentatominae (<i>Loxa deducta</i> e <i>Proxys albopunctulatus</i>) (Heteroptera: Pentatomidae)	42
	Resumo	42

1	Introdução	43
2	Material e Métodos	44
2.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	44
3	Resultados	45
3.1	<i>Edessa mediatubunda</i> (Lobos sem alterações)	45
3.2	<i>Loxa deducta</i> (Lobos sem alterações e <i>harlequin</i>)	46
3.3	<i>Proxys albopunctulatus</i> (Lobos sem alterações e com polimegalia)	47
4	Discussão	48
5	Referências	49
5	ARTIGO 4 - Alterações nucleares durante a espermiogênese de <i>Loxa deducta</i> (Heteroptera: Pentatomidae) em lobos sem alterações e lobo harlequin	62
	Resumo	62
1	Introdução	62
2	Material e Métodos	63
2.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	63
3	Resultados	64
3.1	Lobos sem alterações	64
3.2	Lobo <i>harlequin</i>	65
4	Discussão	66
5	Referências	67
6	DISCUSSÃO GERAL	72
7	CONCLUSÕES	76
	REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A classe Insecta é um dos grupos de animais mais bem adaptados do planeta estando presente nos mais diversos climas e habitats. Estima-se que possam existir entre 5 e 15 milhões de espécies de insetos sendo apenas cerca de 1 milhão descritas até o último levantamento. Essa classe pode ser considerada uma das mais relevantes do meio Científico já que seus indivíduos possuem grande importância devido à sua diversidade, papel ecológico e influência na agricultura, saúde humana e recursos naturais, sendo usados em estudos de mudanças climáticas, biologia do desenvolvimento, ecologia, evolução, genética e fisiologia (FOOTTIT; ADLER, 2017).

Essa classe é dividida em 29 ordens onde podemos destacar a Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera e Hemiptera com cerca de 105 mil espécies representando aproximadamente 90% das espécies de insetos descritas até o momento (CASSIS; GROSS 2002; FOOTTIT; ADLER, 2017).

A ordem Hemiptera é a quinta maior da Classe Insecta e é dividida em quatro subordens Auchenorrhyncha com cerca de 40 mil espécies, Sternorrhyncha com aproximadamente 19 mil espécies, Coleorrhyncha com menos de 40 espécies e Heteroptera, a maior subordem de Hemiptera, com cerca de 45 mil espécies descritas. As espécies estão distribuídas em oitenta famílias e sete infraordens, sendo assim o maior e mais diverso grupo de insetos hemimetábolos (SCHUH; SLATER, 1995; CASSIS; GROSS 2002; FOOTTIT; ADLER, 2017). Estes insetos possuem os estágios de ovo, ninfa e adulto, sendo a grande diferença das ninfas para os adultos, a ausência de asas e o sistema reprodutor imaturo (SCHUH; SLATER, 1995; FOOTTIT; ADLER, 2017).

Estes insetos possuem hábitos alimentares diversos podendo ser hematófagos alimentando-se do sangue de mamíferos e aves, fitófagos alimentando-se de todas as partes das plantas e predadores alimentando-se de outros insetos, possuem, também, e vivem em habitats variados (SCHUH; SLATER, 1995). Os Heteroptera possuem grande importância econômica já que podem ser vetores de doenças aos seres humanos e outros animais como ocorre no caso da doença de Chagas que tem como vetores indivíduos hematófagos da família Reduviidae, ou serem pragas de diversas culturas agrícolas como ocorre com vários indivíduos fitófagos da família Pentatomidae ou até como controle de pragas que podem ser observados nos indivíduos predadores das famílias Pentatomidae e Reduviidae (SCHUH; SLATER, 1995; FOOTTIT; ADLER, 2017). As principais características que definem Heteroptera são: o par de asas anterior que é espessado em seu ápice e membranoso em sua região posterior, formando uma estrutura

denominada hemiélitro que protege o segundo par de asas; um aparelho bucal sugador penetrante presente na região anterior da cabeça; um par de antenas com quatro a cinco segmentos; um grande escutelo bem desenvolvido; além de glândulas de cheiro presentes no metatórax em adultos e abdominais dorsais em ninfas (SCHUH; SLATER, 1995; FOOTTIT; ADLER, 2017).

A família Pentatomidae é uma das maiores famílias de Heteroptera, possuindo aproximadamente 4.840 espécies que estão distribuídas em 8 subfamílias (Asopinae, Cyrtocorinae, Discocephalinae, Edessinae, Pentatominae, Phyllocephalinae, Podopinae e Serbaninae) e 939 gêneros (CASSIS; GROSS 2002; FOOTTIT; ADLER, 2017). Os indivíduos desta família são de grande destaque pelo fato da grande maioria ser composta de espécies fitófagas causando, assim, grandes danos às culturas de diversas espécies vegetais, atacando principalmente leguminosas como, por exemplo, a soja, sendo as únicas espécies predadoras encontradas na subfamília Asopinae (SCHUH; SLATER, 1995; SCHAEFER; PANIZZI, 2000; PONCIO et al., 2010; FOOTTIT; ADLER, 2017).

Pentatomidae recebe esse nome devido ao fato de seu par de antenas se dividir em quatro ou, principalmente, cinco segmentos. Outras características da família são o corpo ovalado, hemiélitro com cinco a doze veios e tarsos com dois ou três segmentos (SCHUH; SLATER, 1995; SCHAEFER; PANIZZI, 2000; FOOTTIT; ADLER, 2017).

Grande parte dos insetos possui, no geral, um par de testículos alongados ou espiralados, recobertos por um epitélio protetor ou bainha peritoneal podendo esse ser ou não pigmentado, sendo estas características presentes em Pentatomidae. Cada um dos testículos possui, em seu interior, um número variado de lobos que são separados uns dos outros por seu próprio epitélio que se abre para um único ducto deferente, além disso, cada indivíduo possui após o ducto eferente uma vesícula semínífera e um ducto deferente que desembocam em um único bulbo ejaculatório ligado ao edeago (PHILLIPS, 1970; DALLAI, 2014; ELELIMY et al, 2017).

Os lobos testiculares podem se apresentar em diferentes números e formas nos vários grupos de insetos, sendo que em Pentatomidae os números variam de três a sete (o número mais comum é de sete), com morfologia alongada e a coloração de sua bainha variando entre amarelo e vermelho (PHILLIPS, 1970; SOUZA et al, 2011). Cada lobo testicular é formado de inúmeros cistos espermatogoniais que também são separados por um epitélio. Nestes cistos estão contidas as células germinativas que sofrerão todo o processo meiótico e de diferenciação, sendo que cada cisto possui divisões sincrônicas, ou

seja, todas as células de um cisto estão no mesmo estágio de diferenciação (PHILLIPS, 1970).

Os testículos possuem sincronia nas fases de diferenciação por todo seu comprimento, sendo a região inicial do testículo composta por cistos contendo espermatogônias e a região final contendo espermátides em fases finais de diferenciação e espermatozoides (JYOTI et al, 2015; ELELIMY et al, 2017). Devido a esta sincronia é possível dividir os testículos em três zonas distintas: a de crescimento onde se localiza os cistos espermatogoniais, a de maturação onde ocorre a meiose e a de diferenciação onde ocorre a diferenciação das espermátides (JYOTI et al, 2015; ELELIMY et al, 2017).

Citogeneticamente Pentatomidae é uma família muito estudada, apresentando, assim como todos os Heteroptera, cromossomos holocêntricos. Esses cromossomos não possuem centrômero definido e assim sua atividade cinética é de modo difuso, o que contrasta com os cromossomos monocêntricos (encontrados na maioria dos animais), que possuem centrômero definido e a atividade cinética é restrita a essa região (REBAGLIATI et al., 2005). Os Pentatomidae apresentam número cromossômico que varia de 6 a 27, sendo em aproximadamente 85% das espécies o número, mais comum, de 14 cromossomos, não apresentam m-cromossomos e o sistema cromossômico do sexo, mais comum, é o XX/XY (fêmea/macho) (REBAGLIATI et al., 2005).

Vários tipos de polimorfismos em espermatozoides de insetos foram relatados nas mais diversas Ordens como em Diptera por Pasini et al. (1996), Hymenoptera por Lee e Wilkes (1965), Lepidoptera por Silberglied et al. (1984), além de membros das famílias Largidae por Araújo et al. (2012) e Pentatomidae por Araújo et al. (2010) pertencentes a subordem Heteroptera. Esse polimorfismo consiste na produção de mais de um tipo de espermatozoide onde somente um tipo é considerado fecundante e os outros possuem algumas funções sugeridas como, por exemplo, o preenchimento da espermateca da fêmea impedindo a entrada de espermatozoides concorrentes (ARAÚJO et al., 2012).

Os polimorfismos nos espermatozoides de Pentatomidae foram relatados em algumas espécies e as principais diferenças encontradas foram o comprimento dos espermatozoides, além do tamanho e morfologia das estruturas que os compõe, e funções desses espermatozoides (BOWEN, 1922; SOUZA et al., 2007; ARAÚJO et al., 2011).

A principal causa de polimorfismo nos espermatozoides de Heteroptera é um fenômeno chamado de polimegalia descrito por Bowen (1920 e 1922) nas espécies *Euchistus heros* e *Murgantia histrionica*, onde foi observado que dois lobos testiculares apresentavam espermatócitos e espermatozoides maiores enquanto outros lobos apresentavam tamanhos celulares normais, sendo também observado por Swallow e

Wilkinson (2002), e presente em quase todas as subfamílias de Pentatomidae com exceção de Asopinae e Acanthosomatinae (SOUZA et al., 2011). Os espermatozoides produzidos nestes lobos provêm de divisões meióticas normais sendo, portanto, mantido o número cromossômico (BOWEN, 1922, SOUZA et al., 2007).

Além da polimegalia, a família Pentatomidae apresenta uma característica intrigante, em apenas algumas espécies, denominada de lobo *harlequin*, um lobo testicular que pode ser maior que os outros e apresentar meiose atípica (REBAGLIATI et al., 2005). A meiose do lobo *harlequin* apresenta pareamento meiótico e a formação de quiasmas, a associação não específica de autossomos, uma disposição anormal dos cromossomos na placa metafásica, segregação cromossômica e fusão celular. Como resultado desta divisão atípica é comum a produção de espermatozoides com número cromossômico altamente variável, o que causa polimorfismo nos espermatozoides podendo afetar a fertilidade dos indivíduos. São 22 espécies, relatadas até agora, que possuem esse lobo, sendo esta característica encontrada apenas nas subfamílias Pentatominae, Edessinae e Discocephalinae, dentre as oito de Pentatomidae (REBAGLIATI et al., 2005; SOUZA et al., 2007, 2011).

Algumas funções foram sugeridas para esses espermatozoides polimórficos como o auxílio na capacitação dos espermatozoides fecundantes e nutrição do óvulo, ajuda na migração dos espermatozoides fecundantes, além de uma possível função de eliminar espermatozoides de outros machos dentro da spermateca da fêmea (SWALLOW; WILKINSON, 2002). Estes polimorfismos já foram estudados em alguns exemplares de Heteroptera das famílias Pentatomidae e Largidae por Araújo et al. (2011, 2012).

Algumas espécies apresentando polimegalia e lobo *harlequin* foram descritas em nível citogenético, entre elas estão: *Antiteuchus tripterus* com 6 lobos testiculares sendo os lobos 4 e 6 com polimegalia e o 5 com meiose atípica (lobo *harlequin*) (SOUZA et al, 2007), *Edessa bifida* com 5 lobos sendo 2 e 4 com polimegalia (BOWEN, 1922), *Euchistus heros* com 6 lobos sendo 4 e 6 com polimegalia (REBAGLIATI, 2005) e *Nezara viridula* com 6 lobos sendo 3 e 5 com polimegalia e o 4 com meiose atípica (lobo *harlequin*) (BOWEN, 1922), dentre outras. As descrições estruturais e ultraestruturais de espermatozoides da família Pentatomidae, com polimegalia e/ou lobo *harlequin*, são escassas na literatura sendo reservadas a poucas espécies. Estes estudos se concentram em observar o tamanho dos espermatozoides e as morfologias ultraestruturais, além da presença ou ausência de algumas estruturas (ARAÚJO et al., 2011; SOUZA et al., 2011).

Em insetos os espermatozoides são extremamente diversificados (JAMIESON et al., 1999) nenhum outro grupo de animais possui tão grande variabilidade na estrutura dos espermatozoides, os quais podem variar de convencional flagelado a células sem flagelo imóveis, ou ainda, de um espermatozoide pequeno, medindo poucos micrômetros de comprimento para um espermatozoide gigante de cerca de 6 cm de comprimento (DALLAI et al., 2006), sendo possível, em princípio, determinar até a espécie a qual pertence a célula espermática dada tamanha diversidade (PHILLIPS, 1970).

Dentre as regiões mais estudadas, estrutural e ultraestruturalmente, nos espermatozoides de insetos, estão a região da cabeça onde estão o acrossomo e o núcleo, e a região da cauda onde se localizam o axonema e os derivados mitocondriais.

O acrossomo se origina a partir de vesículas produzidas pelo complexo de Golgi chamadas de vesículas pró-acrossomais e que irá determinar o polo anterior da célula (BÁO et al., 1989) e em grande parte das espécies é uma estrutura fundamental para fecundação, pois está relacionado com a capacitação dos espermatozoides com suas enzimas removendo o mecanismo de proteção da superfície deles e, também, na digestão de barreiras que podem haver durante sua migração pelo trato reprodutor da fêmea (FAWCETT; ITO, 1965; PHILLIPS, 1970).

O núcleo durante a espermiogênese sofre diversas transformações morfológicas tornando se mais fusiforme e a cromatina torna se, gradualmente, mais densa e compactada. O processo de condensação da cromatina se dá pela substituição gradual das histonas nucleares por um tipo de proteína muito rica em arginina ou lisina denominada protamina (KING, 1976; KASINSKY et al., 2011). Já a diminuição do núcleo ocorre através do auxílio mecânico que a manchete de microtúbulos, faz ao redor do núcleo em condensação (PHILLIPS, 1970; TOKUYASU, 1974; BÁO; HAMÚ, 1993).

Na região da cauda é encontrado o derivado mitocondrial que tem sua origem com as fusões das mitocôndrias, passando por um estágio esférico e único denominado complexo mitocondrial que, posteriormente, se divide formando os derivados mitocondriais que se localizam circundando o axonema. A principal função sugerida para os derivados é a de participação no controle e regulação da forma do movimento flagelar e no processo de estocagem e liberação de energia necessária para a motilidade flagelar (PHILLIPS, 1970; 1974; TOKUYASU, 1974; 1975; BACCETTI; AFZELIUS, 1976).

O axonema tem origem através da atividade centriolar e possui, nos insetos, o padrão de microtúbulos de $9+9+2$, sendo nove tubos acessórios circundando o padrão usual de nove duplas de microtúbulos e dois microtúbulos centrais ($9+2$) comum para animais de outras classes (DALLAI, 2014).

Todas essas estruturas citadas anteriormente se mostram importantes ferramentas em estudos taxonômicos e filogenéticos levando-se em conta que as células espermáticas podem apresentar diferenças capazes de identificar até o nível de gênero (PHILLIPS, 1970). Diversos estudos foram realizados ressaltando a importância taxonômica e filogenética destas características em diversas ordens de insetos, como Lino-Neto e Dolder (2001), Araújo et al. (2012) para Heteroptera, Dallai (2014) para diversas ordens de insetos, além de estudos com a família Pentatomidae (ARAÚJO et al., 2011).

Embora, como descrito anteriormente, os Heteroptera, em especial Pentatomidae, sejam muito relevantes no âmbito ecológico e econômico, e tenham sido muito estudados citogeneticamente, o estudo do comportamento dos componentes celulares da espermatogênese, em nível de estrutura e ultraestrutura, permanecem ocultos para a maioria das espécies. Portanto o nosso objetivo foi o de analisar estrutural e ultraestruturalmente a espermatogênese de espécies da família Pentatomidae com enfoque em espécies das subfamílias Discocephalinae, Edessinae e Pentatominae.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Caracterizar os aspectos estruturais e ultraestruturais da espermatogênese de espécies da família Pentatomidae (Heteroptera) que possuem ou não lobos com polimegalia e/ou *harlequin*, comparando os diferentes tipos de espermatozoides encontrados inter e intraespecificamente.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar o complexo mitocondrial, os derivados mitocondriais, o acrossomo, o axonema nas espermátides e espermatozoides polimórficos oriundos dos diferentes lobos testiculares intraespecificamente;
- b) Comparar estrutura e ultraestruturalmente os componentes, citados anteriormente, encontrados nas diferentes espermátides e espermatozoides interespecificamente;
- c) Comparar estrutural e ultraestruturalmente as espécies que possuem apenas um dos tipos de alterações testiculares.

7 CONCLUSÕES

As análises ultraestruturais da espermatogênese de *Antiteuchus tripterus*, *Edessa mediatubunda*, *Loxa deducta* e *Proxys albopunctulatus* permitiram concluir que:

- As mitocôndrias se agrupam formando um complexo mitocondrial, que posteriormente se divide em dois derivados mitocondriais que se dispõem bilateralmente ao axonema;
- Os derivados mitocondriais são simétricos entre si;
- Os derivados apresentam pelo menos duas estruturas paracristalinas em seu interior;
- O axonema encontrado é de padrão 9+9+2;
- A cromatina se condensa passando de um estágio granular para um estágio filamentosos que se une em grandes blocos que posteriormente ocupam todo o núcleo;
- O núcleo diminui de tamanho com o auxílio da manchete de microtúbulos que se origina ao seu redor e das tiras nucleares;
- Espécies que possuem alterações testiculares originam mais de um tipo de espermatozoides;
- Existem diferenças morfológicas nos derivados mitocôndrias entre as espécies estudadas e até mesmo na mesma espécie caso essa tenha alterações testiculares;
- A formação da cauda se dá de maneira semelhante em todas as espécies estudadas independente da presença de alterações testiculares;
- A compactação da cromatina ocorre similarmente em todos os tipos de lobos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R. C. M., HUSCH, P. E., GALLO, R. B., LEVY, S. M., VILAS-BÔAS, L. A., DA SILVA, C. R. M., SOSA-GÓMEZ, D. R., DA ROSA, R. (2017). Effects of thiamethoxam and lambda-cyhalothrin on spermatogenesis of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Entomological Science**, v. 20, n. 1, p. 279-287, 2017.
- ARAÚJO, V.A.; LINO-NETO, J.; RAMALHO, F.S.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Ultrastructure and heteromorphism of spermatozoa in five species of bugs (Pentatomidae: Heteroptera). **Micron**, v. 42 p. 560–567, 2011.
- ARAÚJO, V.A., BÁO, S.N., SERRÃO, J.E., LINO-NETO, J. Polymorphism of spermatozoa in *Largus rufipennis* Laporte 1832 (Heteroptera: Pyrrhocoroidea: Largidae). **Acta Zoologica** (Stockholm) 93: 239–244, 2012.
- BACCETTI, B.; DALLAI, R. The spermatozoon of Arthropoda. XXVII. Uncommon axoneme patterns in different species of the Cecidomyid flies. **Journal of ultrastructure research**, v. 55, n. 1, p. 50-69, 1976.
- BACCETTI, B.; DALLAI, R.; PALLINI, V.; ROSATI, F. AFZELIUS, B.A. Protein of insect sperm mitochondrial crystals: crystallomitin. **The Journal of Cell Biology**, v. 73 p. 594-600, 1977.
- BACCETTI, B.; DALLAI, R.; CALLAINI, G. The spermatozoon of Arthropoda: *Zootermopsis nevadensis* and isopteran sperm phylogeny. **International Journal of Invertebrate Reproduction**, v. 3, n. 2, p. 87-99, 1981.
- BAFFA, A. F. et al. Sperm dimorphism in the *Triatoma brasiliensis* species complex and its applications. **Medical and veterinary entomology**, v. 31, n. 2, p. 192-199, 2017.
- BÁO, S.N.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; DOLDER, H. Acrosome formation in *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Cytobios**, v. 58 p. 93-100, 1989.
- BÁO, S. N.; HAMÚ, C. Nuclear changes during spermiogenesis in two chrysomelid beetles. **Tissue and Cell**, v. 25, n. 3, p. 439-445, 1993.
- BÁO, S. N.; DE SOUZA, W. Structural specialization in the flagellum of the spermatozoon of the bloodsucking bug (*Rhodnius prolixus*; Hemiptera, Reduviidae). **Tissue and Cell**, v. 26, n. 3, p. 299-308, 1994.
- BAWA, S. R. Electron microscope study of spermiogenesis in a fire-brat insect, *Thermobia domestica* pack I. Mature spermatozoon. **The Journal of cell biology**, v. 23, n. 3, p. 431-446, 1964.
- BOWEN, R. H. Studies on insect spermatogenesis I. The history of the cytoplasmic components of the sperm in Hemiptera. **The Biological Bulletin**, v. 39, n. 6, p. 316-[362]-1, 1920.
- BOWEN, R. H. Studies on insect spermatogenesis. IV. The phenomenon of polymegaly in the sperm cells of the family Pentatomidae. In: **Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences**. American Academy of Arts and Sciences, 1922. p. 391-422.

- CASSIS, G.; G. F. GROSS. Hemiptera: Heteroptera (Pentatomomorpha). In **W. W. K. Houston and G. V. Maynard**. Zoological Catalogue of Australia. CSIRO, Melbourne, Australia, v. 27.3B p. 1–737, 2002.
- CUQUETTO-LEITE, L., DOLDER, H., OLIVEIRA, P. S., SANTO, N. E., LINO-NETO, J., MANCINI, K. C. Structural and ultrastructural characterization of the spermatozoa in *Pachycondyla striata* and *P. marginata*. **Insectes sociaux**, v. 64, n. 2, p. 209-217, 2017.
- DALLAI, R.; LUPETTI, P.; MENCARELLI, C. Unusual axonemes of hexapod spermatozoa. **Int. Rev. Cytol.** v. 254, p. 45–99, 2006.
- DALLAI, R. Overview on spermatogenesis and sperm structure of Hexapoda. **Arthropod structure & development**, v. 43, n. 4, p. 257-290, 2014.
- DALLAI, R., GOTTARDO, M., BEUTEL, R. G. Structure and evolution of insect sperm: new interpretations in the age of phylogenomics. **Annual review of entomology**, v. 61, p. 1-23, 2016.
- DUMSER, J. B. The regulation of spermatogenesis in insects. **Annual review of entomology**, v. 25, n. 1, p. 341-369, 1980.
- ELELIMY, H. A. S., GHAZAWY, N. A., OMAR, A. H., MEGUID, A. A. Morphology and histology of the male reproductive system of *Spilostethus pandurus* (Scopoli) (Hemiptera: Lygaeidae). **African Entomology**, v. 25, n. 1, p. 210-219, 2017.
- FAWCETT, D.W.; ITO, S. The fine structure of bat spermatozoa. **The American journal of anatomy**, v. 116 p. 567-610, 1965.
- FAWCETT, D.W.; EDDY, E.M.; PHILLIPS, D.M. Observations on the fine structure and relationships of the chromatoid body in mammalian spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v.2(1), p. 129-153, 1970.
- FAWCETT, D. W.; ANDERSON, W. A.; PHILLIPS, D. M. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. **Developmental biology**, v. 26, n. 2, p. 220-251, 1971.
- FERNANDES, A. P., CURI, G., FRANCCA, F. G. R., BÁO, S. N. Nuclear changes and acrosome formation during spermiogenesis in *Euchistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Tissue and Cell**, v. 33, n. 3, p. 286-293, 2001.
- FOOTIT, R. G.; ADLER, P. H. Biodiversity of Heteroptera. **Insect Biodiversity: Science and Society**, v. 2, 2017.
- GARBELOTTO, T.A., CAMPOS, L.A. A subfamília Pentatominae. In: Pentatominae do Sul de Santa Catarina. **Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia**, p. 7-8, 2014.
- GASSNER III, G.; KLEMETSON, D. J.; RICHARD, R. D. Spermiogenesis in house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae): A transmission electron microscope study.

International Journal of Insect Morphology and Embryology, v. 1, n. 2, p. 105-120, 1972.

GONZÁLEZ-GARCIA, J.M.; ANTONIO, C.; SUJA, J.A.; RUFAS, J.S. Meiosis in holocentric chromosomes: kinetic activity is randomly restricted to the chromatid ends of sex univalents in *Graphosoma italicum* (Heteroptera). **Chromosome Research**, v. 4, p. 124-132, 1996.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: I step method. **Experientia**, v. 36, p. 104-105, 1980.

HOAGE, T. R.; KESSEL, R. G. An electron microscope study of the process of differentiation during spermatogenesis in the drone honey bee (*Apis mellifera* L.) with special reference to centriole replication and elimination. **Journal of ultrastructure research**, v. 24, n. 1, p. 6-32, 1968.

HUGHES-SCHRADER, S.; SCHRADER, F. The Kinetochore of the Hemiptera. **Chromosoma**, v. 12, p. 327-350, 1961.

JAMIESON, B. G. M.; DALLAI, R.; AFZELIUS, B. A. **Insects: their spermatozoa and phylogeny**. Science Publishers, Inc., 1999.

JYOTI, G., SANTOSH, N., DESAI, A. Revamp Studies on Morpho-Histology of the Male Reproductive System of *Halysdentatus* Fabricious (Hemiptera: Pentatomidae). **Annual Research & Review in Biology**, v. 6, n. 3, p. 176, 2015.

KASINSKY, H. E.; EIRIN-LOPEZ, J. M.; AUSIÓ, J. Protamines: structural complexity, evolution and chromatin patterning. **Protein and peptide letters**, v. 18, n. 8, p. 755-771, 2011.

KESSEL, R. G. The association between microtubules and nuclei during spermiogenesis in the dragonfly. **Journal of ultrastructure research**, v. 16, n. 3, p. 293-304, 1966.

KING, R. C. Handbook of genetics: Volume 5 Molecular Genetics. 1st ed. **New York: Plenum Press**, p.161.1976.

LEE, Peter E.; WILKES, A. Polymorphic spermatozoa in the hymenopterous wasp *Dahlbominus*. **Science**, v. 147, n. 3664, p. 1445-1446, 1965.,

LINO-NETO, J.; DOLDER, H. Ultrastructural characteristics of the spermatozoa of Scelionidae (Hymenoptera, Platygastroidea) with phylogenetic considerations. **Zoologica Scripta**, v. 30, n. 2, p. 89-96, 2001.

MERCATI, D.; GIUSTI, F.; DALLAI, R.. A novel membrane specialization in the sperm tail of bug insects (Heteroptera). **Journal of morphology**, v. 270, n. 7, p. 825-833, 2009.

MESSIAS JR, N.S. Aspectos Ultra-Estruturais da espermiogênese de *Crysomya megacephala* FAB (Diptera: Calliphoridae). Campinas, Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 115p., 1990.

- MOTZKO, D.; RUTHMAN, A. Spindle membranes in mitosis and meiosis of the heteropteran insect *Dysdercus intermedius*. A study of the interrelationship of spindle architecture and the kinetic organization of chromosomes. **European Journal of Cell Biology**, v. 33, p. 205-216, 1984.
- NAME, K. P. O.; PUJOL-LUZ, J. R.; BÁO, S. N. Structure and ultrastructure of spermatozoa of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Micron**, v. 41, n. 7, p. 853-860, 2010.
- NELSEN, O. E. Life cycle, sex differentiation, and testis development in *Melanoplusdifferentialis* (Acrididae, Orthoptera). **Journal of Morphology**, v. 51, n. 2, p. 467-525, 1931.
- NOVAIS, A. M., DIAS, G., LINO-NETO, J. Testicular, spermatogenesis and sperm morphology in *Martaregabentoi* (Heteroptera: Notonectidae). **Arthropod Structure & Development**, 2017.
- PANIZZI, A. R.; J. E. McPHERSON; D. G. JAMES; M. JAVAHERY & R. M. McPHERSON. 2000. Stink bugs (Pentatomidae), p. 421–474. In: C. W. Schaefer & A. R. Panizzi (eds.), **Heteroptera of economic importance**. Boca Raton. CRC Press. p. 828
- PASINI, M. E., REDI, C. A., CAVIGLIA, O., & PEROTTI, M. E. Ultrastructural and cytochemical analysis of sperm dimorphism in *Drosophila subobscura*. **Tissue and Cell**, v. 28, n. 2, p. 165-175, 1996.
- PHILLIPS, D.M. Insect sperm: their structure and morphogenesis. **The Journal of Cell Biology**, v. 44 p.243-277, 1970.
- PHILLIPS, D.M. Structural variants in invertebrate sperm flagella and their relationship to motility. In: SLEIGH, M.A. **Cilia and Flagella London: Academic Press**, p. 379-402, 1974.
- PONCIO, S., DEQUECH, S. T. B., STURZA, V. S., LISSNER, R. A. D., PERLIN, L. F., ROSALINO, P. K., & RIBEIRO, L. D. P. (2010). First report of *Stiretrus de castigmus* in Brazil preying *Microtheca ochroloma*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1203-1205, 2010.
- PONCIO, S., DEQUECH, S. T. B., STURZA, V. S., LISSNER, R. A. D., PERLIN, L. F., ROSALINO, P. K., & RIBEIRO, L. D. P. (2010). First report of *Stiretrus de castigmus* in Brazil preying *Microtheca ochroloma*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1203-1205, 2010.
- PRATT, S. Formation and differentiation of the nebenkern in spermatids of anhemipteran insect, *Murgantia histrionica*. **Comparative Spermatology**, p. 301-311, 1970.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; DE LELLO, E. Cytoplasmic bridges, intercellular junctions, and individualization of germ cells during spermatogenesis in *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). **Journal of morphology**, v. 227, n. 2, p. 145-154, 1996.
- REBAGLIATI, P. J.; PAPESCHI, A. G.; MOLA, L. M. Meiosis and fluorescent banding in *Edessa mediatubunda* and *E. rufomarginata* (Heteroptera: Pentatomidae: Edessinae). **European Journal of Entomology**, v. 100, n. 1, p. 11-18, 2003.

REBAGLIATI, P. J. et al. Cytogenetic studies in Pentatomidae (Heteroptera): A review. **Journal of zoological systematics and evolutionary research**, v. 43, n. 3, p. 199-213, 2005.

RODRIGUES, A. R., SERRÃO, J. E., TEIXEIRA, V. W., TORRES, J. B., TEIXEIRA, A. A. Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisusnigrispinus*. **Journal of insect physiology**, v. 54, n. 12, p. 1543-1551, 2008.

SCHRADER, F., LEUCHTENBERGER, C. A cytochemical analysis of the functional interrelations of various cell structures in *Arvelius albopunctatus* (De Geer). **Experimental Cell Research**, **Experimental Cell Research**, v. 1, n. 3, p. 421-452, 1950.

SCHAEFER, W. C.; PANIZZI, A. R: Heteroptera of Economic importance. Boca Raton, FL: CRC Press, LLC, 824p. , 2000.

SCHUH, T. T.; SLATER, J.A. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera) Classification and natural history, Cornell UNIVERSITY press, Ithaca, New York, xii, 338 pp., 1995.

SILBERGLIED, R. E., SHEPHERD, J. G., & DICKINSON, J. L. Eunuchs: the role of apyrene sperm in Lepidoptera?. **American Naturalist**, p. 255-265, 1984.

SOUZA, H. V.; BICUDO, H. E. M.; COSTA, C. L. A. A.; ITOYAMA, M. M.. A study of meiosis and spermiogenesis in the testicular lobes of *Antiteuchustripteris* (Heteroptera: Pentatomidae). **Eur. J. Entomol**, v. 104, p. 353-362, 2007.

SOUZA H. V., ITOYAMA M. M. Comparative study of spermatogenesis and nucleolar behavior in testicular lobes of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2010, 2010.

SOUZA, H. V., MURAKAMI, A. S., DE MOURA, J., DE ALMEIDA, E. C., MARQUES, I. F. G., ITOYAMA, M. M. Comparative analysis of the testes and spermatogenesis in species of the family Pentatomidae (Heteroptera). **European Journal of Entomology**, v. 108, n. 3, p. 333, 2011.

SWALLOW, J. G.; WILKINSON, G.S..The long and short of sperm polymorphisms in insects.**Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 77, n. 02, p. 153-182, 2002.

SZÖLLÖSI, A. Electron microscope study of spermiogenesis in *Locusta migratoria* (Insect Orthoptera). **Journal of ultrastructure research**, v. 50, n. 3, p. 322-346, 1975.

TOKUYASU, K. T. Dynamics of spermiogenesis in *Drosophila melanogaster*: IV. Nuclear transformation. **Journal of ultrastructure research**, v. 48, n. 2, p. 284-303, 1974.

TOKUYASU, K.T. Dynamics of spermiogenesis in *Drosophila melanogaster*. V. Head-tail alignment. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 50 p. 117-129, 1975.