

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Desenvolvimento pós-embriônico do ovário de *Massartella* sp.
(Ephemeroptera: Leptophlebiidae)**

Millena Cristhina Dias Correia
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

MILLENA CRISTHINA DIAS CORREIA

**Desenvolvimento pós-embrionário do ovário de *Massartella* sp.
(Ephemeroptera: Leptophlebiidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jose Eduardo Serrao

Coorientador: Frederico Falcao Salles

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C824d
2026
Correia, Millena Cristhina Dias, 1997-
Desenvolvimento pós-embrionário do ovário de
Massartella sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) / Millena
Cristhina Dias Correia. – Viçosa, MG, 2026.
1 dissertação eletrônica (51 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: José Eduardo Serrão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2026.

Referências bibliográficas: f. 43-49.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.241>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Ephemeroptera - Anatomia. 2. Ovários - Anatomia.
3. Insetos - Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (MG).
I. Serrão, José Eduardo, 1965-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de
Pós-Graduação em Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 595.734

MILLENA CRISTHINA DIAS CORREIA

**Desenvolvimento pós-embrionário do ovário de *Massartella* sp.
(Ephemeroptera: Leptophlebiidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2026.

Assentimento:

Millena Cristhina Dias Correia
Autora

Jose Eduardo Serrao
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 26/05/2026 às 16:23:15 e pelo orientador em 26/05/2026 às 16:25:26. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **SITU.1H1D.YPKX** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

A pós-graduação é uma caminhada de questionamentos e amadurecimento. Apesar dos desafios e cobranças, principalmente vindas de mim mesma, finalizo esta etapa, compreendendo que tudo faz parte de um processo que nos aproxima, pouco a pouco, de quem desejamos ser. A realização deste trabalho só foi possível graças às pessoas que estiveram ao meu lado e contribuíram direta ou indiretamente para esta conquista. Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pelo amor e pela força que me sustentaram ao longo dessa trajetória.

À família Dias e Correia, especialmente aos meus pais, Eliana e Júlio, por acreditarem sempre em mim e nas minhas escolhas. Às minhas tias Magna e Eliziane, por serem, desde sempre, grandes incentivadoras dos meus estudos. Às minhas avós, Nelcina e Fabíola, e ao meu avô, Gerson, pelas rezas e orações que me fortalecem mesmo à distância. Aos meus irmãos Eduarda, Alice, Pedro e Lucas, por serem meu combustível para continuar, mesmo sem saberem. À minha família, todo meu amor e gratidão.

À Talita Costa, que esteve ao meu lado desde o processo seletivo até a reta final do mestrado. Obrigada pela escuta, pelos conselhos, por acreditar em mim mesmo quando eu não acreditava e, principalmente, pelo amor que foi minha força para permanecer. Como disse Guimarães Rosa: “Os outros eu conheci por ocioso acaso. A ti vim encontrar porque era preciso.” Amo você.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Eduardo Serrão, por todas as orientações, ensinamentos, paciência e pela oportunidade de aprender observando sua postura profissional e a forma respeitosa com que orienta seus alunos. Sem dúvidas, além de um dos melhores pesquisadores, você é uma pessoa admirável. Meu crescimento acadêmico e profissional não teria sido o mesmo sem sua sabedoria e sem a liberdade que me permitiu vivenciar novas experiências profissionais.

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular e seus integrantes, pelo auxílio e convivência. Em especial, ao João Victor, Jessica e Davy. Ao João, desde a graduação, por ter sido fundamental na minha ida para o laboratório e durante o mestrado e ao Davy, por toda a ajuda com a imuno.

Ao Museu de Entomologia, que mesmo distante nesses dois anos, nunca deixou de ser um lugar reconfortante. Agradeço a todos os integrantes pela amizade e apoio nas coletas. Em especial, à Isabel Cortes, por me ensinar tanto sobre dissecação, criação de insetos e Massartella, sempre com generosidade.

Ao Prof. Dr. Frederico Falcão Salles, coordenador do museu e meu

coorientador, pelo auxílio e orientação desde meus primeiros passos na iniciação científica. Obrigada por permanecer, Fred.

Agradeço ao Dayvson Costa, pela grande ajuda no início do mestrado; ao Pedro Rodrigues, pelas conversas, escuta e conselhos nos momentos difíceis; à Ana Dária e ao Wallison, pela didática, sinceridade e paciência com meus textos. Aos amigos que estiveram comigo nessa jornada intensa, em especial Pablo, Larissa Coca e Verônica Fialho. Agradeço também aos profissionais incríveis que tive a oportunidade de conhecer e aprender sobre a verdadeira sala de aula, Gilton Natan Soares de Almeida, Adriana Moutinho e Luiza Santos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de estar em uma das melhores instituições do país. Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, pelas oportunidades oferecidas.

À banca examinadora, pelas contribuições.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (UFV), pela disponibilidade dos equipamentos.

FAPEMIG (APQ 02486-22, APQ 01591-23) e a CNPq (309666/2019-8; 303243/2022-8).

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“A academia não é o paraíso. Mas o aprendizado
é um lugar onde o paraíso pode ser criado.”

bell hooks

RESUMO

CORREIA, Millena Cristhina Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2026. **Desenvolvimento pós-embrionário do ovário de *Massartella* sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae).** Orientador: Jose Eduardo Serrao. Coorientador: Frederico Falcao Salles.

O grupo Ephemeroptera apresenta divergências na literatura em relação ao tipo de ovário descrito, panoístico ou meroístico, além da escassez de estudos sobre a morfologia interna do sistema reprodutor feminino e o desenvolvimento ovariano para a ordem. O objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento pós-embrionário do ovário de ninfas de *Massartella* sp. As ninfas foram coletadas no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, em Minas Gerais, Brasil. Os espécimes foram separados em três coortes: inicial, intermediária e final, com base no comprimento corporal e no grau de desenvolvimento das tecas alares. Fragmentos dos ovários de cada coorte foram submetidos a análises de microscopia de luz, teste histoquímico de Feulgen, microscopia eletrônica de varredura e imunofluorescência. O sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. consiste em um par de ovários pectinados com numerosos ovariolos, ligados a ovidutos laterais e um oviduto comum. Os ovários são do tipo panoístico, formados pelo filamento terminal, germário e vitelário. No germário, foram observadas células germinativas em processo de divisão celular, evidenciadas pela marcação positiva para histona H3 fosforilada. As células germinativas se diferenciam em ovócitos que são circundados por células pré-foliculares. O vitelário apresenta etapas de pré-vitelogênese, vitelogênese e coriogênese. Os ovócitos organizam-se em sequência de maturação, aumentando de tamanho devido ao acúmulo de vitelo. Na coriogênese, forma-se o córion nos ovócitos maduros, evidenciados por microscopia eletrônica de varredura. Este estudo fornece a primeira caracterização do desenvolvimento pós-embrionário do ovário de *Massartella* sp., demonstrando que a espécie apresenta ovário do tipo panoístico e que a maturação reprodutiva ocorre de forma progressiva ao longo dos estágios ninfais. Esses resultados ampliam o conhecimento sobre a biologia reprodutiva de Ephemeroptera, especialmente na família Leptophlebiidae, ao fornecer dados inéditos sobre o desenvolvimento ovariano, além de estabelecer uma base para futuros estudos da biologia reprodutiva, comparativa e evolutiva.

Palavras-chave: Desenvolvimento ovariano; ovogênese; vitelogênese; panoístico; histologia

ABSTRACT

CORREIA, Millena Cristhina Dias, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2026. **Post-embryonic development of the ovary of *Massartella* sp. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae)**. Adviser: Jose Eduardo Serrao. Co-adviser: Frederico Falcao Salles.

Ephemeroptera shows divergences in the literature regarding the type of ovary described, either panoistic or meroistic, as well as a scarcity of studies addressing the internal morphology of the female reproductive system and ovarian development within the group. The aim of this study was to describe the post-embryonic development of the ovary in nymphs of *Massartella* sp. Nymphs were collected in the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais, Brazil, and were classified into three cohorts: early, intermediate, and late, based on body length and the degree of wing pad development. Ovary fragments from each cohort were analyzed using light microscopy, Feulgen histochemistry, scanning electron microscopy, and immunofluorescence. The female reproductive system of *Massartella* sp. consists of a pair of pectinate ovaries with numerous ovarioles, connected to lateral oviducts and a common oviduct. The ovaries are of the panoistic type, composed of a terminal filament, germarium, and vitellarium. In the germarium, germ cells undergoing division were observed, as indicated by positive labeling for phosphorylated histone H3. The vitellarium includes the stages of previtellogenesis, vitellogenesis, and choriogenesis, with oocytes arranged in a maturation sequence and increasing in size due to yolk accumulation. During choriogenesis, the chorion is formed in mature oocytes, as evidenced by scanning electron microscopy. This study provides the first characterization of the post-embryonic development of the ovary in *Massartella* sp., demonstrating that the species has panoistic ovaries and that reproductive maturation occurs progressively throughout the nymphal stages. These findings expand the current knowledge of reproductive biology in Ephemeroptera, particularly within the family Leptophlebiidae, by providing novel data on ovarian development and establishing a basis for future comparative and evolutionary studies.

Keywords: Ovarian development; oogenesis; vitellogenesis; panoistic; histology

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Foto da ninfa de *Massartella* sp. em vista dorsal, ilustrando o procedimento de medição do comprimento corporal e o grau de desenvolvimento das tecas alares (adaptado de Martynov, 2016). As linhas tracejadas delimitam o comprimento do corpo (Cc) e das tecas alares (Cta) utilizado nas medições..... 18
- Figura 2.** Anatomia do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em estereomicroscópio. A) Visão geral dos ovários pares. B-C) Disposição dos ovaríolos (setas), mostrando o aspecto pectinado..... 23
- Figura 3.** Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. A) Ovários evidenciando alguns ovaríolos (Ovl) contendo ovócitos (Oo) em diferentes fases de desenvolvimento, pedicelo (Pe) e oviduto lateral (Ov). B) Ovaríolos mostrando o filamento terminal (Ft), Germário (Ge), Vitelário (Vt) com crescimento gradual dos ovócitos (Oo). C) Detalhe do Filamento terminal estreito, evidenciando as células somáticas (Sc) pavimentosas e empilhadas, com núcleos (Nu) centrais, alongados e achatados e porção alargada do germário. D) Germário evidenciando células germinativas indiferenciadas (Gc) isoladas. E) Oviduto lateral, mostrando o lúmen (Lu), epitélio (Ep) com núcleos (Nu) pavimentosos. Colorações: Hematoxilina e Eosina (A, B, C, E); reação de Feulgen (D)..... 25
- Figura 4.** Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em ninfas iniciais. A) Ovaríolos mostrando o Germário (Ge) bem desenvolvido e pedicelo (Pe) fechado conectado ao oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) estreito. B) Detalhe de ovaríolos mostrando células germinativas indiferenciadas (Gc) e ovogônias (Og) no germário, além de ovócitos (Oo) iniciais que apresentam citoplasma (Cy) homogêneo e células foliculares (Fc) predominantemente cúbicas. Coloração: Hematoxilina e Eosina..... 27
- Figura 5.** Micrografias de luz dos ovaríolos de *Massartella* sp. em ninfas iniciais. A) Região de transição entre o germário e o vitelário contendo células pré-foliculares (Pfc). B) Ovócitos iniciais (Oo) envolvidos por células foliculares e pedicelo (Pe) fechado conectado ao oviduto lateral (Ov). C) Filamento terminal (Ft) com células empilhadas e germário (Ge) com células germinativas apresentando figuras mitóticas (círculo pontilhado)..... 28
- Figura 6.** Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em ninfas intermediárias. A) Visão geral dos ovaríolos, evidenciando o vitelário (Vt), o oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) dilatado e o pedicelo (Pe) fechado. B) Detalhe do vitelário mostrando ovócitos (Oo) em crescimento gradual, alguns em pré-vitelogênese com a vesícula germinativa (Gv) evidente e cromatina descondensada, citoplasma (Cy) homogêneo, delimitados por células foliculares (Fc) predominantemente cúbicas. Note alguns ovócitos vitelogênicos (Vtl) com citoplasma (Cy) heterogêneo, recobertos por células foliculares (Fc) ligeiramente pavimentosas a cúbicas, com núcleos evidentes (Nu). Coloração: Hematoxilina e Eosina..... 30
- Figura 7.** Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. nos últimos estágios ninfais. A) Visão geral do ovário, evidenciando ovaríolos com ovócitos (Oo) em diferentes estágios de desenvolvimento ao longo do vitelário (Linha com asterisco). B)

Detalhe do vitelário mostrando ovócitos (Oo) delimitados por células foliculares (Fc) que variam de cúbicas, colunares e pavimentosas com núcleos (Nu) evidentes. Coloração: Hematoxilina e Eosina..... 32

Figura 8. Micrografias de luz dos ovócitos de *Massartella* sp. em ninfas finais. A) Ovócito no início da vitelogênese, em formato esférico, circundado por células foliculares (Fc) cúbicas, com citoplasma (Cy) apresentando o início da deposição de grânulos de vitelo (Vg), vesícula germinativa (Gv) grande com cromatina descondensada. B) Ovócitos em vitelogênese, com o formato ovóide, circundado por células foliculares (Fc) cúbicas mais espaçadas (Seta de duas pontas), vesícula germinativa (Gv) descondensada e deslocada para a periferia devido ao aumento de inclusões grânulos de vitelo (Vg) no citoplasma (Cy). C) Ovócito com citoplasma apresentando inclusões granulares de vitelo grandes (Vg) e gotículas lipídicas (Lv), pedicelo (Pe) fechada por células achatadas, oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) vazio. D) Ovócito em coriogênese, com o formato ovóide, citoplasma preenchido por inclusões de vitelo (Vg) e deposição de cório (Ch), delimitado por células foliculares (Fc) em degeneração. Coloração: Hematoxilina e Eosina..... 33

Figura 9. Micrografias eletrônicas de varredura do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento ovariano e detalhes estruturais dos ovariolos. A) Vista geral de numerosos ovariolos organizados em série, evidenciando o filamento terminal (Ft), Germário (Ge) e Vitelário (Vt), associado com traqueias (Tr). B) Vista geral dos germários (Ge) em expansão e filamentos terminais (Ft). C) Detalhe dos germários (Ge) com superfície rugosa e protuberâncias globulares (Círculo preto), filamento terminal (Ft) longo, com superfície lisa com leves estrias transversais (seta preta). D) Folículos ovocíticos (Fo) em estágios avançados de coriogênese, alguns permanecem cobertos pela bainha peritoneal (Bp), enquanto outros apresentam a bainha rompida, expondo o cório (Ch). E) Detalhe da superfície do cório (Ch) mostrando ornamentação poligonal externa (círculo pontilhado branco). F) Folículos ovocíticos (Fo) em diferentes estágios de maturação (Linha com asterisco)..... 35

Figura 10. Imunofluorescência evidenciando reação positiva para histona H3 fosforilada no ovariolos de *Massartella* sp. A) Micrografia de fluorescência revelando células positivas para histona H3 fosforilada (verde) no germário (Ge). B) Núcleos evidenciados por DAPI (azul). C) Imagem de sobreposição (A e B), mostrando a localização das células proliferativas no germário (Ge), e ausentes no filamento terminal (Ft) e na região do vitelário (Vt). Barras = (A,B e C) 20 μ m..... 36

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Bp	Bainha peritoneal
Cc	Comprimento do corpo
Ch	Córion
Cta	Comprimento da teca alar
Cy	Citoplasma
Ep	Epitélio
Fc	Células foliculares
Fo	Folículos ovocíticos
Ft	Filamento terminal
Gc	Células indiferenciadas
Ge	Germário
Gv	Vesícula germinativa
Lu	Lúmen
Lv	Gotículas lipídicas
Nu	Núcleos
Og	Ovogônias
Oo	Ovócitos
Ov	Oviduto lateral
Ovl	Ovariolos
Pe	Pedicelo
Pfc	Células pré-foliculares
Sc	Células somáticas
Tr	Traqueias
Vg	Grânulos de vitelo
Vt	Vitelário
Vtl	Ovócitos vitelogênicos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Coleta dos espécimes.....	17
3.2. Classificação dos estádios ninfais.....	18
3.3. Anatomia do sistema reprodutor.....	18
3.4. Microscopia de Luz.....	19
3.5. Histoquímica.....	19
3.6. Microscopia eletrônica de varredura.....	20
3.7. Imunofluorescência.....	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1. Caracterização morfológica dos estádios ninfais.....	21
4.2. Anatomia.....	22
4.3. Microscopia de Luz.....	24
4.3.2 Ninfas iniciais.....	25
4.3.3 Ninfas intermediárias.....	29
4.3.4 Ninfas finais.....	31
4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	33
4.5. Imunofluorescência.....	35
5. DISCUSSÃO.....	37
6. CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
APÊNDICES.....	50

1. INTRODUÇÃO

Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1890 é assim denominada em virtude da vida efêmera na fase adulta, cuja duração varia de algumas horas há poucos dias (Edmunds *et al.*, 1976; Roldán-Pérez, 1998; Da-Silva *et al.*, 2012). Eles pertencem à infraclasse Paleoptera, que é o grupo mais antigo dentre os insetos alados (Da-Silva *et al.*, 2003). No entanto, as relações filogenéticas entre as linhagens de Ephemeroptera, Odonata e Neoptera que compreende todos os outros insetos alados, permanece controversa, estabelecendo o chamado “problema Paleoptera”. A partir dessa controvérsia, destacam-se três hipóteses: Chiasmomyaria, Metapterygota, Palaeoptera (Hovmöller *et al.*, 2002).

A hipótese de Chiasmomyaria agrupa Ephemeroptera e Neoptera, que apresentam a transferência direta de espermatozóides, devido a ausência de reservatório, como também ao funcionamento parecido do mecanismo de voo. Ademais, esse grupamento também tem suporte molecular (Simon *et al.*, 2018).

O segundo grupamento de Metapterygota não inclui Ephemeroptera, colocando Odonata e Neoptera juntos, eles apresentam como suporte características do sistema mandibular de ingestão dos alimentos, sistema circulatório e respiratório (Staniczek, 2000). O suporte molecular é baixo se comparado aos outros grupamentos (Simon *et al.*, 2018).

Já a hipótese de Paleoptera abarca Ephemeroptera e Odonata com base nas características morfológicas, como as semelhanças nas antenas, maxilas e asas (Staniczek, 2000). Ephemeroptera e Odonata são incapazes de dobrar as asas sobre o abdome em repouso, devido à musculatura e dos escleritos existentes nas asas, que não permitem o flexionamento para trás, mantendo as asas perpendiculares ao corpo ou dobradas umas de encontro às outras sobre o abdômen (Elouard *et al.*, 2003, Ferreira, 1990). Além disso, Paleoptera teve um predomínio de estudos moleculares multigênicos e respaldo em estudos filogenômicos na última década (Simon *et al.*, 2018).

Os efemerópteros são insetos anfibióticos de desenvolvimento hemimetábolo, cujo estágio imaturo é predominantemente aquático (Edmunds *et al.*, 1976; Brittain, 1982; Dominguez *et al.*, 2006), durando de algumas semanas até anos, apresentando uma variação no número de ínstar que varia entre as espécies, e de acordo com as condições ambientais, como temperatura da água e alimentação (Da-Silva *et al.*, 2003; Salles, 2006; Sartori & Brittain, 2015).

Os adultos são terrestres e apresentam o aparelho bucal atrofiado, o que impede a alimentação, e restringe a dispersão. Eles possuem um curto período de vida, que varia de algumas horas a pouco dias, dependendo da espécie (Da-Silva *et al.*, 2003; Salles, 2006; Dominguez *et al.*, 2006). Além disso, apresentam uma característica única, que é a fase intermediária entre a ninfa e o adulto denominada subimago, ou seja, eles sofrem muda após o desenvolvimento das asas funcionais (Ruffieux *et al.*, 1998). Nesse estágio de subimago as asas funcionais se apresentam com uma coloração esbranquiçada, no entanto, ainda não se reproduzem (Edmunds, 1988; Da-Silva, 2007).

A ordem apresenta distribuição mundial, exceto na Antártica, extremo Ártico e em algumas ilhas oceânicas, apresentando cerca de 4000 espécies, 450 gêneros e 42 famílias (Da-Silva & Salles, 2026; Sartori & Brittain, 2015, Barber-James *et al.*, 2013). Na América do Sul Ephemeroptera é um dos grupos mais diversos de insetos aquáticos, com 14 famílias, 117 gêneros e 765 espécies (Salles *et al.*, 2026). No Brasil o grupo está presente em todos os biomas, sendo registradas 10 famílias, 82 gêneros e 480 espécies (Mariano *et al.*, 2026).

Dentre os Ephemeroptera, Leptophlebiidae Banks, 1900 inclui 140 gêneros, sendo a família mais diversa em número de gêneros e a segunda em número de espécies (640) (Barber-James *et al.*, 2008; Sartori & Brittain, 2015). Na região Neotropical a família apresenta sua maior diversidade, com 50 gêneros e 270 espécies (Dominguez *et al.*, 2006; Salles *et al.*, 2018; Monjardim *et al.*, 2020; Salles *et al.*, 2026). No Brasil, Leptophlebiidae apresenta 29 gêneros e 153 espécies, distribuídas em todos os biomas (Mariano *et al.*, 2026).

Massartella Lestage, 1930, é um gênero de Leptophlebiidae endêmico da América do Sul, esse gênero pode ser encontrado em áreas de altitudes elevadas, como topos de montanhas, e também em regiões de florestas tropicais. É distribuído do nordeste da Argentina à região de fronteira entre Brasil, Guiana e Venezuela (Savage, 1987; Pescador & Peters, 1990; Derka, 2002; Derka *et al.*, 2009; Souto *et al.*, 2013). No Brasil, *Massartella* foi registrado em toda a região Sudeste, além dos estados de Paraná e Rio Grande do Sul, na Região Sul, e nos estados de Roraima e Bahia, nas regiões Norte e Nordeste, respectivamente (Mariano *et al.*, 2026). O gênero inclui cinco espécies válidas em sua distribuição global: *Massartella brieni* (Lestage, 1924); *Massartella alegrettae* Ulmer, 1943; *Massartella venezuelensis* Pescador & Peters, 1990; *Massartella devani* Derka, 2002 e *Massartella hirsuta* Derka, Svitok & Schlögl, 2009. No Brasil, ocorrem *Massartella brieni*, *Massartella alegrettae* e *Massartella venezuelensis*. Tais espécies são divididas em duas linhagens que se isolaram há

66 milhões de anos, sendo uma linhagem da Mata Atlântica (*M. brieni* e *M. alegrettae*) e outra do Pantepui no Escudo das Guianas (*M. venezuelensis*, *M. devani* e *M. hirsuta*) (Gatti *et al.*, 2021; Hernández Cortes, 2023).

No contexto filogenético, os caracteres morfológicos, incluindo o sistema reprodutor, são importantes para a delimitação de espécies e compreensão das relações evolutivas. Sendo assim, a descrição do sistema reprodutor feminino torna-se relevante, tendo em vista que os caracteres morfológicos do sistema reprodutor têm potencial como dados informativos. Dessa forma, embora o sistema reprodutor feminino de Ephemeroptera ainda seja pouco explorado para a finalidade de sistemática e filogenética no grupo, tais variações podem apresentar caracteres com potencial informativo, úteis na delimitação de espécies quanto para a interferência sobre a relação filogenética dentro do gênero *Massartella*.

Em insetos, de maneira geral, o sistema reprodutor feminino é composto por um par de ovários e um par de ovidutos laterais que se unem formando um oviduto comum, além de espermatecas e normalmente glândulas acessórias (Cruz Landim, 2009).

O par de ovários está localizado no abdômen, ao longo do canal alimentar. Cada ovário é constituído por um número variável de subunidades, os ovariolos, que varia de acordo com o tamanho, modo de vida e estratégias reprodutivas do inseto (Chapman, 2013). Em Ephemeroptera, a quantidade de ovariolos varia intraespecificamente, na mesma população ou entre os ovários esquerdo e direito (Soldán 1979a). Na maioria dos insetos os ovariolos podem se conectar com o oviduto em uma sequência linear, no entanto, em Ephemeroptera os ovariolos podem parecer segmentados devido a maior individualização das unidades ao longo do seu comprimento (Chapman, 2013).

Em Ephemeroptera constata-se que os ovócitos seguem o padrão dos outros insetos. Isto é, eles estão arranjados em sequência linear e passam por diferentes estágios de desenvolvimento, crescendo da região distal para a proximal do ovariolo, sendo que a ovulação pode ocorrer nas ninfas maduras, às vésperas de emergir (Gaino & Reborá, 2005).

O par de ovidutos laterais, que realiza a conexão com o par de ovários, tem um formato de tubos compostos por uma camada de células colunares ou cúbicas assentadas em uma lâmina basal e envoltas por uma camada muscular (Chapman, 2013). Na maioria dos insetos os ovidutos laterais se unem formando um oviduto mediano ou comum (Heymons, 1891, 1895; Snodgrass, 1933, 1935, Büning, 1994). No entanto, na ordem Ephemeroptera há

variações em relação a esse padrão, algumas espécies apresentam uma condição diferente, na qual os dois ovidutos laterais se abrem separadamente, cada um em gonóporo, no final do sétimo segmento abdominal. Entretanto, há exceções dentro da própria ordem, como no gênero *Thraulodes* Ulmer, 1920, pertencente à família Leptophlebiidae, em que os ovidutos laterais se convergem formando um oviduto comum, como constatado na maioria dos insetos (Palmén, 1884; Landa *et al.*, 1980; Gillot, 1988; Büning, 1994; Araújo *et al.*, 2021; Cortes *et al.*, 2021).

Quanto ao desenvolvimento das gônadas, diferente de outros insetos, os ovários de Ephemeroptera são identificados desde o estágio inicial da ninfa (Soldán, 1979a; Landa & Soldán, 1985). Essa identificação precoce foi corroborada anos depois por Büning (1994), que reitera que a organogênese das gônadas em Ephemeroptera se inicia no final da embriogênese. Esse desenvolvimento avança durante os estágios larvais, sendo finalizado em ninfas maduras, nos últimos instares (Koss, 1968; Gaino & Reborá, 2005). Com relação ao crescimento dos ovos, a ovogênese também ocorre no estágio ninfal do inseto, sendo completada antes da muda para a subimago (Soldán, 1979a; Büning, 1994).

Nos insetos, os ovários são classificados em panoísticos e meroísticos. A principal diferença entre esses tipos de ovários é a transformação das ovogônias, que nos ovários panoísticos sempre se diferenciam em ovócitos, enquanto nos meroísticos, as ovogônias são capazes de transformar em ovócitos ou em células nutridoras associadas a essa célula germinativa (Buning, 1994). Dessa forma, a presença ou ausência dessas células nutridoras especializadas, estabelece uma diferença importante na estrutura de ovários meroísticos e panoísticos, respectivamente.

Nos ovários meroísticos, ocorrem os tipos politróficos e telotróficos, categorizados pela posição das células nutridoras. Essas células têm como função propiciar um intenso crescimento pré-vitelogênico do ovócito, através da transferência de material citoplasmático, permitindo o desenvolvimento metabólico do vitelário (Chapman, 2013).

Os estudos sobre o tipo de ovário em Ephemeroptera apresentam resultados diferentes, com registros de ovários panoísticos e meroísticos. Segundo Soldán (1979a), ovários panoísticos foram registrados em *Oligoneuriella rhenana* Imhoff, 1852 (Oligoneuriidae), *Ecdyonurus torrentis* Kimmins, 1942 (Heptageniidae), *Caenis robusta* Eaton, 1884 (Caenidae), *Ephemerida danica* Müller, 1764 (Ephemeridae) e *Paraleptophlebia submarginata*

(Stephens, 1835) (Leptophlebiidae). Mazzini & Gaino (1990) também registraram ovários desse tipo para *Habrophlebia eldae* Jacob & Sartori, 1984 (Leptophlebiidae). Esse tipo ovariano é registrado de forma geral para Ephemeroptera por Richards & Davies (1977) e Funk et al., (2010). Em contraste, Gottanka & Büning (1993) descreveram ovários meroísticos para *Cloeon* sp. (Baetidae), *Ephemerella ignita* Poda, 1761 (Ephemerellidae) e *Siphonurus armatus* Eaton, 1870 (Siphonuridae). Do mesmo modo, Gaino & Reborá (2005) registraram ovários do tipo meroísticos telotróficos em *Baetis rhodani* (Pictet, 1843) (Baetidae) e *Cloeon dipterum* (Linnaeus, 1761) (Baetidae). Na maioria dos estudos, predominam espécies com distribuição nas regiões Paleártica e Neártica.

Essa diversidade de padrões sugere que o tipo de ovário em Ephemeroptera pode variar entre famílias e possivelmente entre espécies, enfatizando a necessidade de estudos em outros táxons. Além disso, o desenvolvimento dos ovários é pouco conhecido. Há apenas alguns estudos detalhados disponíveis, no entanto, a maioria é de espécies que não se encontram distribuídas na região Neotropical (Brink, 1957; Soldán, 1979a; Landa, Peters & Soldán, 1980 e Soldán, 1981). Tendo em vista a escassez de estudos a respeito da morfologia interna do sistema reprodutor feminino e o desenvolvimento dos ovários em Ephemeroptera, principalmente de espécies neotropicais, este estudo busca fornecer uma base morfológica detalhada que possa subsidiar futuras análises comparativas e filogenéticas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Descrever o desenvolvimento pós-embrionário do ovário de ninfas de *Massartella* sp., por meio de abordagens anatômicas, histológicas e ultraestruturais, visando ampliar o conhecimento sobre a biologia reprodutiva do gênero e fornecer dados comparativos relevantes para Leptophlebiidae.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever a organização anatômica do ovário em ninfas de diferentes estádios de desenvolvimento;
- Caracterizar os estágios da ovogênese (pré-vitelogênese, vitelogênese e coriogênese) ao longo do desenvolvimento ninfal;
- Analisar a atividade proliferativa celular no germário por meio de imunomarcagem;

- Comparar os caracteres morfológicos observados com dados disponíveis para outros táxons de Ephemeroptera, buscando identificar padrões de similaridade e variação;
- Avaliar o potencial valor comparativo e sistemático das estruturas descritas no contexto da família Leptophlebiidae.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta dos espécimes

As ninfas de *Massartella* sp. foram coletadas no Parque Estadual do Brigadeiro (PESB) (20° 43' S, 42° 28' O), localizado na Zona da Mata, no município de Araponga, Minas Gerais, Brasil (Apêndice A). A espécie se encontra em processo de descrição taxonômica (Hernández Cortes e Salles, com. pess.).

As ninfas de *Massartella* sp. foram coletadas utilizando peneiras e redes entomológicas do tipo D. A triagem foi realizada em campo usando bandeja plástica branca para facilitar a observação das ninfas. Posteriormente as ninfas coletadas foram acondicionadas para transporte em caixas de isopor contendo água e substratos como galhos e folhas do rio em malha fina para aderência da ninfa, a fim de diminuir o estresse do transporte (Ratia *et al.*, 2012; Boldrini & Cruz, 2013). As ninfas foram mantidas no Museu de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), seguindo a metodologia desenvolvida por Castillo Velásquez (2023). Foram utilizados frascos de plástico com uma abertura na parte inferior, revestidos com rede de malha fina, para permitir o fluxo de água e evitar a fuga das ninfas do recipiente de criação. Na parte superior do copo foi utilizada uma rede para permitir o fluxo de ar, para evitar a transpiração no interior do copo, como também impedir a saída após a emergência do adulto. No interior do copo foram colocados substratos como galhos e folhas coletadas nos rios para a alimentação e aderência das ninfas. Todos os frascos foram inseridos em uma estrutura flutuante construída com isopor em uma caixa de plástico. A estrutura flutuante permaneceu na caixa com duas bombas de oxigênio ligadas continuamente em temperatura ambiente. Os indivíduos provenientes desta coleta foram tombados e incorporados à coleção úmida do Museu de Entomologia da UFV.

3.2. Classificação dos estádios ninfais

Os espécimes de *Massartella* sp. foram separados pelo comprimento do corpo (excluindo os filamentos caudais), pelo grau de desenvolvimento das tecas alares até o tergo abdominal que a teca se aproxima, além de aspectos de coloração e proeminência das tecas alares (Truman & Riddiford, 2019, Gaino, 1987). As medidas das tecas alares até o tergo abdominal foram realizadas adaptando a metodologia de Martynov (2016). Com esses parâmetros foi possível a formação de coortes de desenvolvimentos das ninfas de *Massartella* sp. (Figura 1).

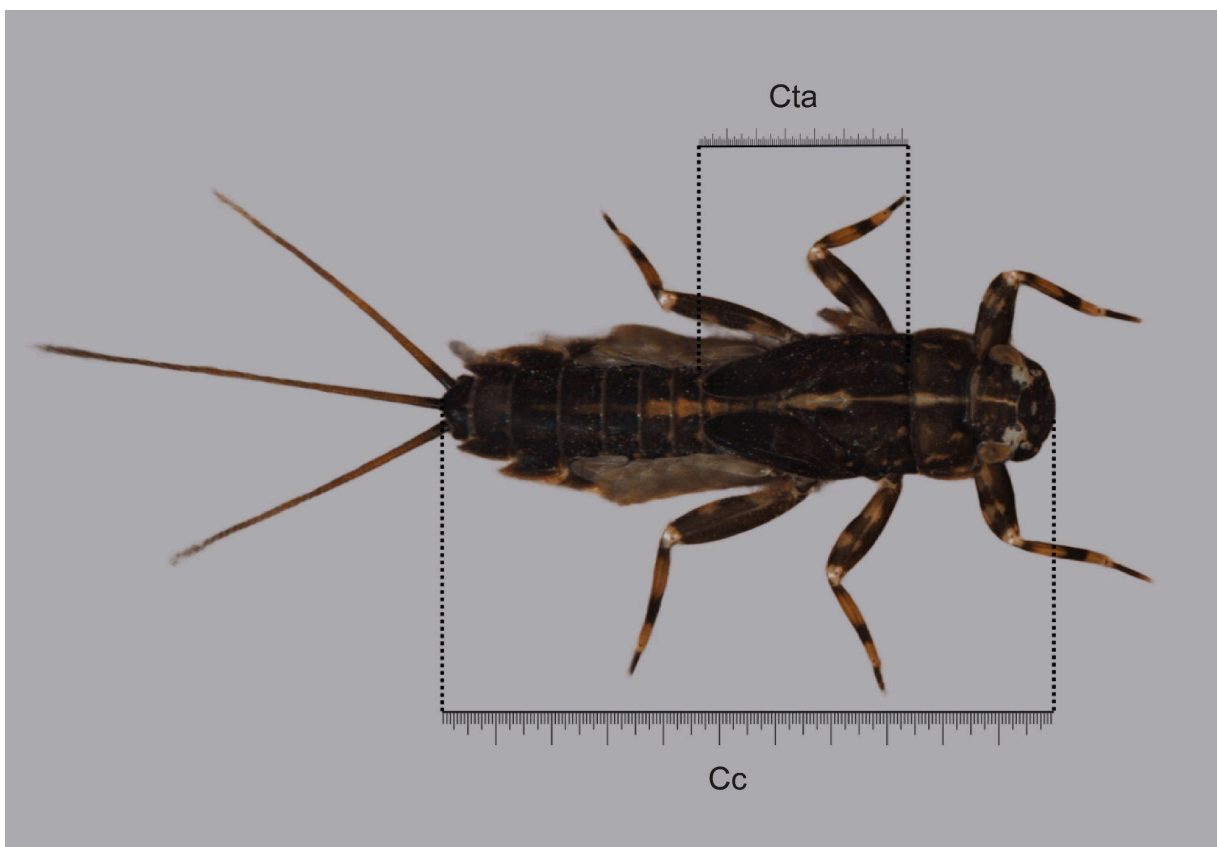


Figura 1. Foto da ninfa de *Massartella* sp. em vista dorsal, ilustrando o procedimento de medição do comprimento corporal e o grau de desenvolvimento das tecas alares (adaptado de Martynov, 2016). As linhas tracejadas delimitam o comprimento do corpo (Cc) e das tecas alares (Cta) utilizado nas medições.

3.3. Anatomia do sistema reprodutor

Quarenta e uma ninfas de cada coorte do desenvolvimento (nove iniciais, oito intermediárias e 24 finais) foram anestesiadas a -5°C por 3 minutos, dissecadas em NaCL 125

mM e os ovários transferidos para solução fixadora de Zamboni (Stefanini et al., 1967). A seguir, os ovários foram fotografados imersos em NaCl 125 mM e com câmera fotográfica Leica MC170 HD acoplada em estereomicroscópio Leica M205 A. Todas as imagens foram editadas usando o programa Adobe Photoshop CC®, e posteriormente, as pranchas dos foram confeccionadas no Adobe Illustrator®.

3.4. Microscopia de Luz

Os ovários de cinco ninfas de cada coorte foram mantidos na solução fixadora de Zamboni por 48h e seccionados em pequenos fragmentos. A seguir, foram desidratados em série crescente de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e 99%) e incluídos em historesina Leica (Leica, Heidelberg, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. No micrótomo Leica RM 2255 (Leica, Heidelberg, Alemanha) foram realizados cortes com 3 µm de espessura das amostras e posteriormente coradas com hematoxilina (15 min) e eosina (30 s), analisados e fotografados em microscópio de luz Olympus BX60 com câmera fotográfica Olympus QColor 3.

3.5. Histoquímica

Algumas, secções histológicas não coradas, obtidas como descrito acima, foram submetidas ao teste histoquímico de Feulgen para detecção de DNA, possibilitando a visualização dos núcleos e a distinção entre células individualizadas (Feulgen & Rossenbeck, 1924). Para a reação de Feulgen, as amostras foram hidratadas em água destilada, incubadas em HCl 5 M em temperatura ambiente por 30 minutos, lavadas em água destilada e transferidas para o reativo de Schiff durante 40 minutos no escuro. Em seguida, foram lavadas em água corrente, secas e montadas para análise em microscopia de luz.

3.6. Microscopia eletrônica de varredura

Fragmentos de cinco ovários de cada coorte de *Massartella* sp. mantidos no fixador, foram lavadas três vezes em tampão fosfato de sódio 0,15 M, pH 7,2 (PBS) e, em seguida, desidratadas em uma série crescente de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e 99%). Após a desidratação, as amostras foram transferidas para hexametildisilazano por cinco minutos e secas ao ar. A seguir, os ovários foram montados em stubs de alumínio e metalizados com ouro (20 nm de espessura) utilizando o Metalizador Quorum Q150R S. Por fim, as amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-IT700 HRLA, no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

3.7. Imunofluorescência

Amostras de fragmentos de cinco ovários de cada coorte de *Massartella* sp. foram obtidas da solução fixadora de Zamboni por 30 minutos de fixação. Em seguida, os fragmentos de ovários foram lavados cinco vezes em PBS por 10 minutos cada, após a lavagem foram transferidos para PBS contendo Triton-X 100 a 1% (PBST) por 1 hora. Posteriormente, as amostras foram incubadas por 24 horas a 4°C, em solução de anticorpo contra histona H3 Ser10 fosforilada produzida em coelho (PH3, Sigma-Aldrich Corp., St Louis, MO, EUA) (1:500) para detecção de proliferação celular. Após lavagem em PBS, as amostras foram incubadas, no escuro, com anticorpo secundário anti-IgG de coelho conjugado com FITC (Sigma-Aldrich Corp., St Louis, MO, EUA) diluído 1:500 em PBS, por 24 h, a 4°C. Após nova lavagem em PBS, as amostras foram transferidas para solução aquosa de 4,6-diamidina-2-fenilindol, 2 µg mL⁻¹ (DAPI; Polysciences, Inc., Hayward, CA, EUA) para coloração dos núcleos por 30 min, lavadas com PBS e montados em lâminas com solução de sacarose a 30%. A análise foi realizada utilizando um microscópio confocal Zeiss LSM 900,

no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa. O controle negativo foi realizado como descrito acima com omissão de incubação com o anticorpo PH3.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização morfológica dos estádios ninfais

Baseado nos parâmetros estabelecidos, as ninfas de *Massartella* sp. foram agrupadas em três coortes de desenvolvimento ninfal: inicial, intermediário e final. Cada agrupamento apresentou padrões distintos quanto ao comprimento corporal e ao desenvolvimento das tecas alares. As ninfas em estágio inicial apresentaram tamanho corporal variando entre 10 a 18 mm, com as tecas alares atingindo até $\frac{1}{4}$ do 1º terço abdominal. Nesta fase, as tecas se apresentaram predominantemente curtas, claras e pouco proeminentes, indicando um baixo desenvolvimento alar. No estágio intermediário, o comprimento corporal das ninfas variou entre 12 e 18 mm, com tecas alares alongando da metade do 1º até o início do 2º terço abdominal. As tecas estavam mais alongadas em relação ao estágio inicial, marcando uma fase de crescimento ativo, embora ainda mantivesse a coloração clara e pouco proeminente. O estágio ninfal final foi caracterizado por ninfas com comprimento corporal variando entre 15 e 22 mm, com as tecas alares iniciando no $\frac{1}{4}$ do 2º até o início do 4º tergito abdominal. Nesse estágio, as tecas alares foram predominantemente escuras, algumas atingindo coloração preta, além de estarem proeminentes, característica do último estágio ninfal, anterior à fase da subimago.

4.2. Anatomia

O sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. consiste em um par de ovários localizado dorsalmente ao longo do canal alimentar, percorrendo quase a totalidade do comprimento do abdômen nas três coortes analisadas, com cor esbranquiçada em solução de dissecação (Figura 2A). Os ovários são do tipo pectinado, cada um composto por numerosos ovaríolos, conectados lateralmente a um par de ovidutos laterais longos (Figuras 2B, 2C) que se convergem em um oviduto comum.

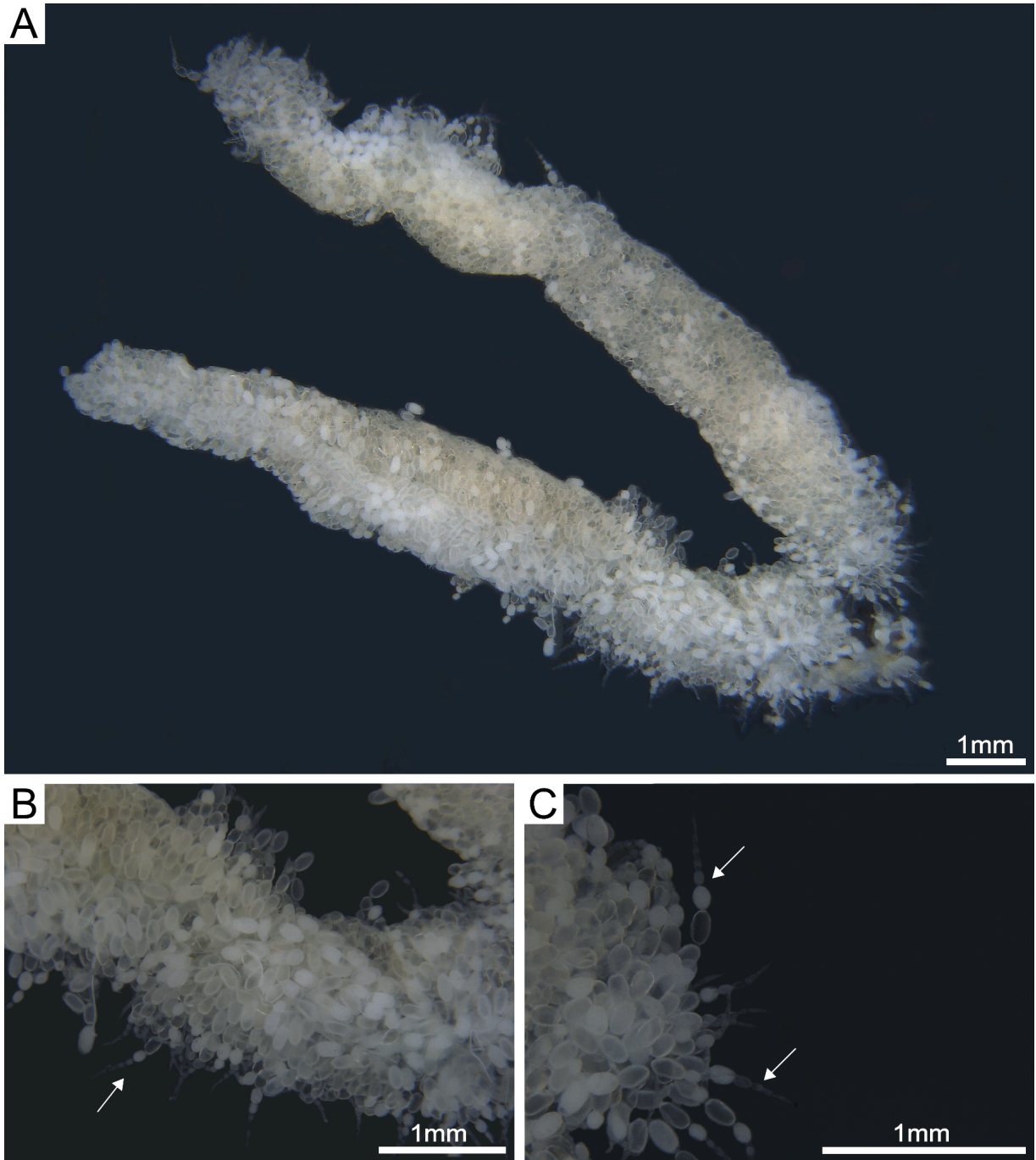


Figura 2. Anatomia do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em estereomicroscópio. A) Visão geral dos ovários pares. B-C) Disposição dos ovaríolos (setas), mostrando o aspecto pectinado.

4.3. Microscopia de Luz

Os ovários de *Massartella* sp. são do tipo panoístico, caracterizado pela ausência de células nutridoras associadas, com os ovariolos sendo organizados em filamento terminal, germário distal e o vitelário proximal, sendo envolvidos por uma rede de traqueias (Figuras 3A, 3B).

O filamento terminal do ovariolo é delgado e longo composto por células somáticas pavimentosas empilhadas, com núcleos centrais, alongados e achatados (Figura 3C). Esse filamento conecta-se diretamente ao germário, segunda porção do ovariolo, onde ocorre um alargamento da estrutura ovariana, contendo diversas células globulares com núcleo bem desenvolvido, não sendo evidente se são células isoladas ou formando cistos (Figura 3C). O teste histoquímico de Feulgen evidenciou que estas células são células isoladas, uninucleadas, ainda indiferenciadas e de tamanhos variados (Figura 3D). Abaixo do germário ocorre o vitelário, região de crescimento dos ovócitos, na qual foram identificados os estágios de pré-vitelogênese, vitelogênese e coriogênese (Figura 3B).

Na região basal de cada ovariolo, ocorre um pedicelo, estrutura em formato de ducto que se conecta ao oviduto lateral. Entretanto esse ducto está fechado por células somáticas variando de cúbicas a pavimentosas, cujos núcleos são alongados e com predomínio de cromatina condensada (Figura 3A).

Os ovidutos são estruturas tubulares com lúmen variando de estreito a amplo, e paredes revestidas por um epitélio simples composto por células pavimentosas (Figura 3E). Em nenhum dos estágios ninfais analisados foi observada a presença de ovócitos no interior dos ovidutos.

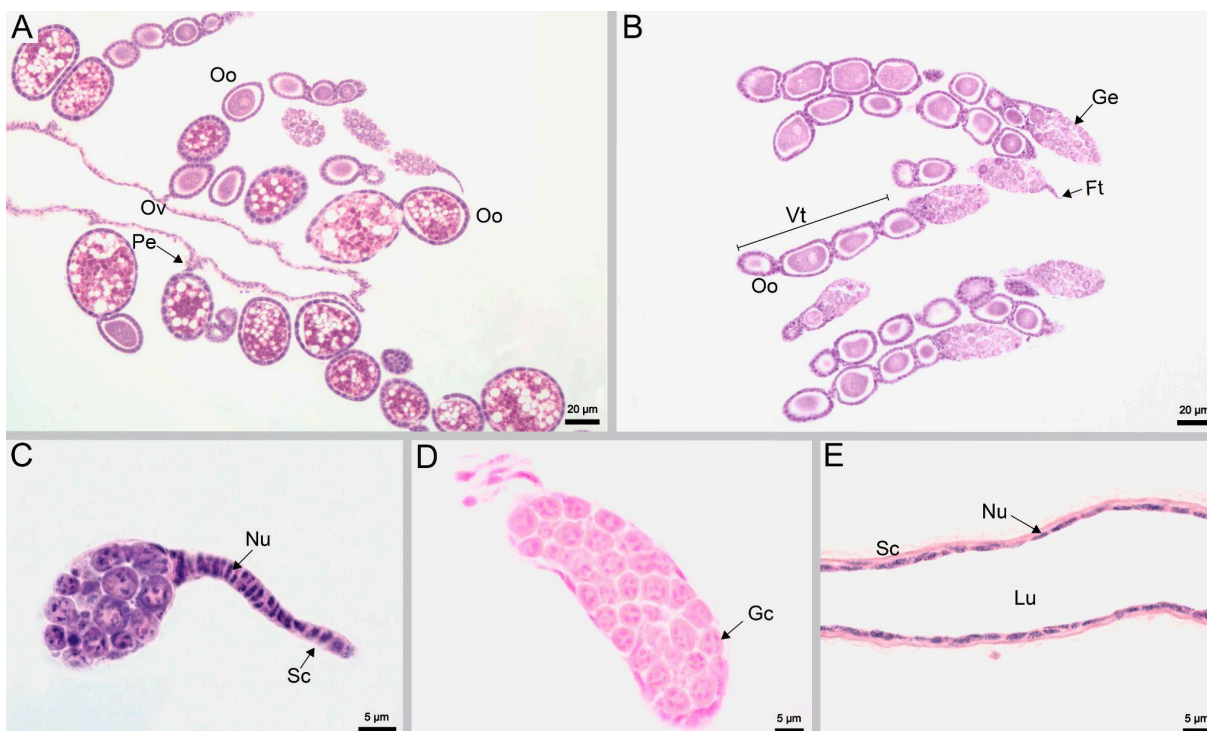


Figura 3. Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. A) Ovários evidenciando alguns ovariolos (Ov) contendo ovócitos (Oo) em diferentes fases de desenvolvimento, pedicelo (Pe) e oviduto lateral (Ov). B) Ovariolos mostrando o filamento terminal (Ft), Germário (Ge), Vitelário (Vt) com crescimento gradual dos ovócitos (Oo). C) Detalhe do Filamento terminal estreito, evidenciando as células somáticas (Sc) pavimentosas e empilhadas, com núcleos (Nu) centrais, alongados e achatados e porção alargada do germário. D) Germário evidenciando células germinativas indiferenciadas (Gc) isoladas. E) Oviduto lateral, mostrando o lúmen (Lu), epitélio (Ep) com núcleos (Nu) pavimentosos. Colorações: Hematoxilina e Eosina (A, B, C, E); reação de Feulgen (D).

4.3.2 Ninfas iniciais

Nas ninfas iniciais, o germário se apresenta bem desenvolvido ocupando quase toda a extensão do ovariolo (Figura 4A). Nesta coorte de desenvolvimento ninfal, o germário apresentou células indiferenciadas com formato globular correspondendo às ovogônias e algumas células somáticas (Figura 4B). As ovogônias foram caracterizadas por apresentar um núcleo esférico bem desenvolvido e rico em cromatina descondensada, alguns apresentando figuras mitóticas características de divisão celular (Figura 5A).

Na porção de transição do germário para o vitelário foi possível verificar a presença de algumas células pré-foliculares (Figura 5A). Nesse estágio do desenvolvimento ninfal, o

vitelário estava reduzido, com poucos ovócitos em estágios iniciais de desenvolvimento, correspondente à fase de pré-vitelogênese, com o citoplasma apresentando aspecto finamente granular e a vesícula germinativa (núcleo) evidente (Figuras 5B, 5C). Esses ovócitos iniciais estavam envoltos por uma camada simples de células foliculares predominantemente cúbicas (Figura 4B). Além disso, a visualização do filamento terminal com as células pavimentosas empilhadas foi facilitada devido à menor maturação dos ovócitos (Figura 5C). Nesse estágio os pedicelos se mostram fechados e o oviduto lateral apresenta o lúmen reduzido (Figura 4A).

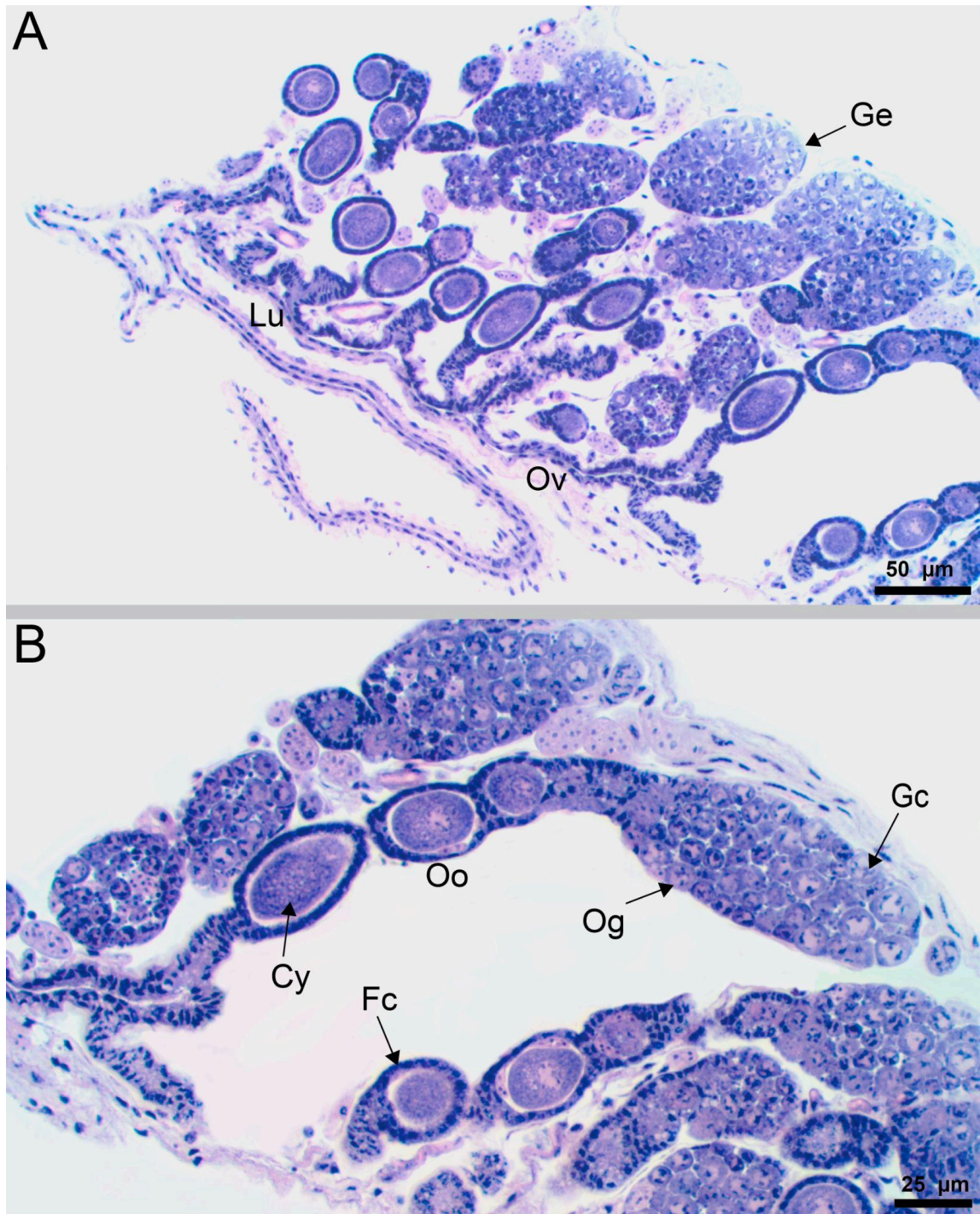


Figura 4. Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em ninfas iniciais. A) Ovariolos mostrando o Germário (Ge) bem desenvolvido e pedicelo (Pe) fechado conectado ao oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) estreito. B) Detalhe de ovariolos mostrando células germinativas indiferenciadas (Gc) e ovogônias (Og) no germário, além de ovócitos (Oo) iniciais que apresentam citoplasma (Cy) homogêneo e células foliculares (Fc) predominantemente cúbicas. Coloração: Hematoxilina e Eosina.

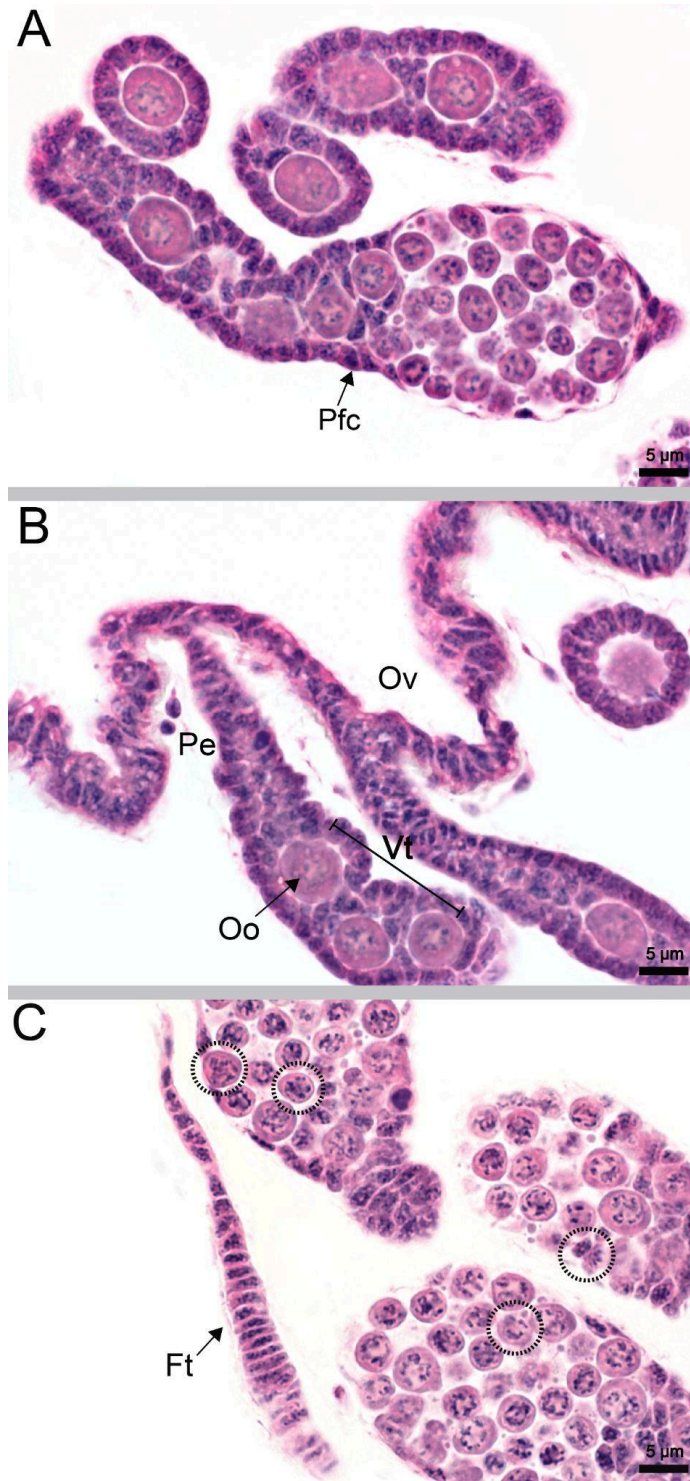


Figura 5. Micrografias de luz dos ovaríolos de *Massartella* sp. em ninfas iniciais. A) Região de transição entre o germário e o vitelário contendo células pré-foliculares (Pfc). B) Ovócitos iniciais (Oo) envolvidos por células foliculares e pedicelo (Pe) fechado conectado ao oviduto lateral (Ov). C) Filamento terminal (Ft) com células empilhadas e germário (Ge) com células germinativas apresentando figuras mitóticas (círculo pontilhado).

4.3.3 Ninfas intermediárias

No estágio ninfal intermediário, o ovariolo se mostrou mais desenvolvido, com as ovogônias presentes no germário apresentando intensa divisão celular. No vitelário, foi possível observar a predominância do estágio de pré-vitelogênese. Nesse estágio, as células germinativas diferenciam-se em ovócitos, os quais apresentam crescimento gradual, com cerca de quatro ovócitos. A maioria desses ovócitos, no entanto, não apresenta deposição de vitelo, exibindo conteúdo celular homogêneo e vesícula germinativa volumosa, rica em cromatina descondensada. Além disso, são circundados por uma monocamada de células foliculares cúbicas (Figuras 6A, 6B). Quanto ao formato, os ovócitos variavam de esféricos a elípticos. Em algumas ninfas foram encontrados poucos ovócitos vitelogênicos, caracterizados por citoplasma heterogêneo apresentando algumas inclusões citoplasmáticas e envoltos por células foliculares variando de pavimentosas a cúbicas (Figura 6 B). Nas ninfas intermediárias, o pedicelo de cada ovariolo permaneceu fechado e o oviduto lateral apresentou lúmen aparentemente mais amplo em comparação ao observado nas iniciais (Figura 6A).

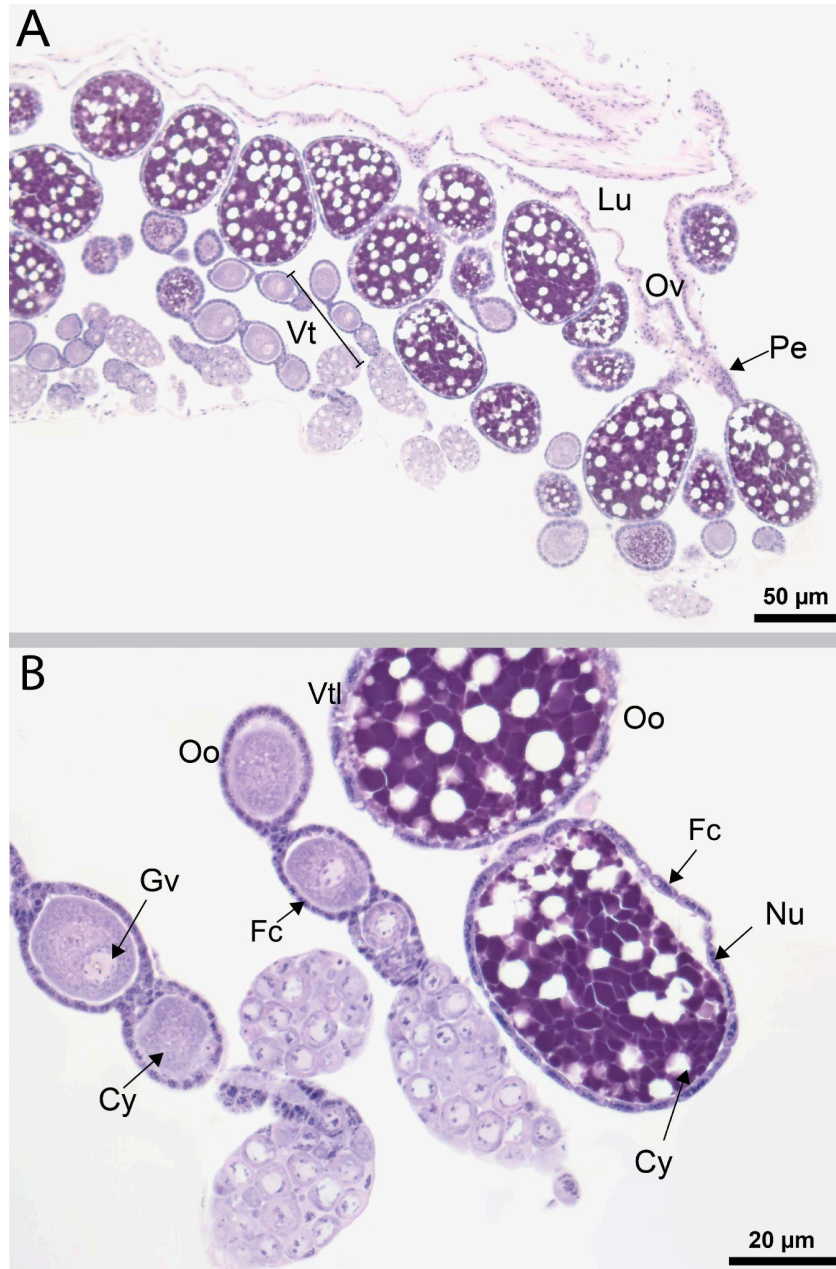


Figura 6. Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. em ninfas intermediárias. A) Visão geral dos ovaríolos, evidenciando o vitelário (Vt), o oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) dilatado e o pedicelo (Pe) fechado. B) Detalhe do vitelário mostrando ovócitos (Oo) em crescimento gradual, alguns em pré-vitelogênese com a vesícula germinativa (Gv) evidente e cromatina descondensada, citoplasma (Cy) homogêneo, delimitados por células foliculares (Fc) predominantemente cúbicas. Note alguns ovócitos vitelogênicos (Vtl) com citoplasma (Cy) heterogêneo, recobertos por células foliculares (Fc) ligeiramente pavimentosas a cúbicas, com núcleos evidentes (Nu). Coloração: Hematoxilina e Eosina.

4.3.4 Ninfas finais

Nos últimos estágios ninfais, o ovariolo apresenta desenvolvimento completo, com o vitelário constituindo a região mais evidente, contendo cerca de 5 a 6 ovócitos dispostos em sequência, do menos desenvolvido ao mais desenvolvido, correspondendo aos estágios de pré-vitelogênese, vitelogênese e coriogênese (Figuras 7A, 7B). Nestas ninfas, os ovócitos encontraram-se em todas as fases de desenvolvimento e, conseqüentemente, exibem variações no formato, conteúdo citoplasmático, acúmulo de grânulos de vitelo e morfologia das células foliculares (Figura 8).

Ovócitos em início de vitelogênese foram caracterizados com grande volume celular, apresentando um citoplasma fracamente acidófilo, com início de inclusões granulares de vitelo e vesícula germinativa evidente localizada centralmente com cromatina descondensada (Figura 8A). Os ovócitos em estágio avançado de vitelogênese, apresentaram citoplasma basófilo, devido à progressão do acúmulo de vitelo, e a vesícula germinativa mostra uma tendência à posição periférica, devido a esse maior acúmulo de vitelo (Figura 8B). Nessa fase, também foi observada a ocorrência de patência nas células foliculares, caracterizada pela formação de espaços intercelulares alargados (Figura 8B). Os ovócitos apresentaram formato variando de esférico à oval revestidos por células foliculares colunares ou cúbicas (Fig. 8A, 8B).

Embora estejam presentes ovócitos em todos os estágios de maturação, nas ninfas finais predominam aqueles em estágio de formação do córion, última fase da vitelogênese, na porção distal do vitelário (Figura 8B). Nesses ovócitos, as células foliculares estão mais justapostas e pavimentosas, com núcleos alongados (Figura 8B). O citoplasma apresentou grande quantidade de grânulos de vitelo de diferentes tamanhos e gotas lipídicas (Figura 8C). Ao final da coriogênese, além do citoplasma completamente preenchido de vitelo, ocorreu a deposição do córion circundado por células foliculares em degeneração (Figura 8D). Nesses ovócitos em coriogênese, a vesícula germinativa não foi visível no plano de corte devido ao acúmulo de vitelo, entretanto, o pedicelo continuou fechado, não sendo observados ovócitos no interior dos ovidutos laterais que estava mais expandido que nas ninfas de coorte iniciais e intermediárias (Figura 8C).

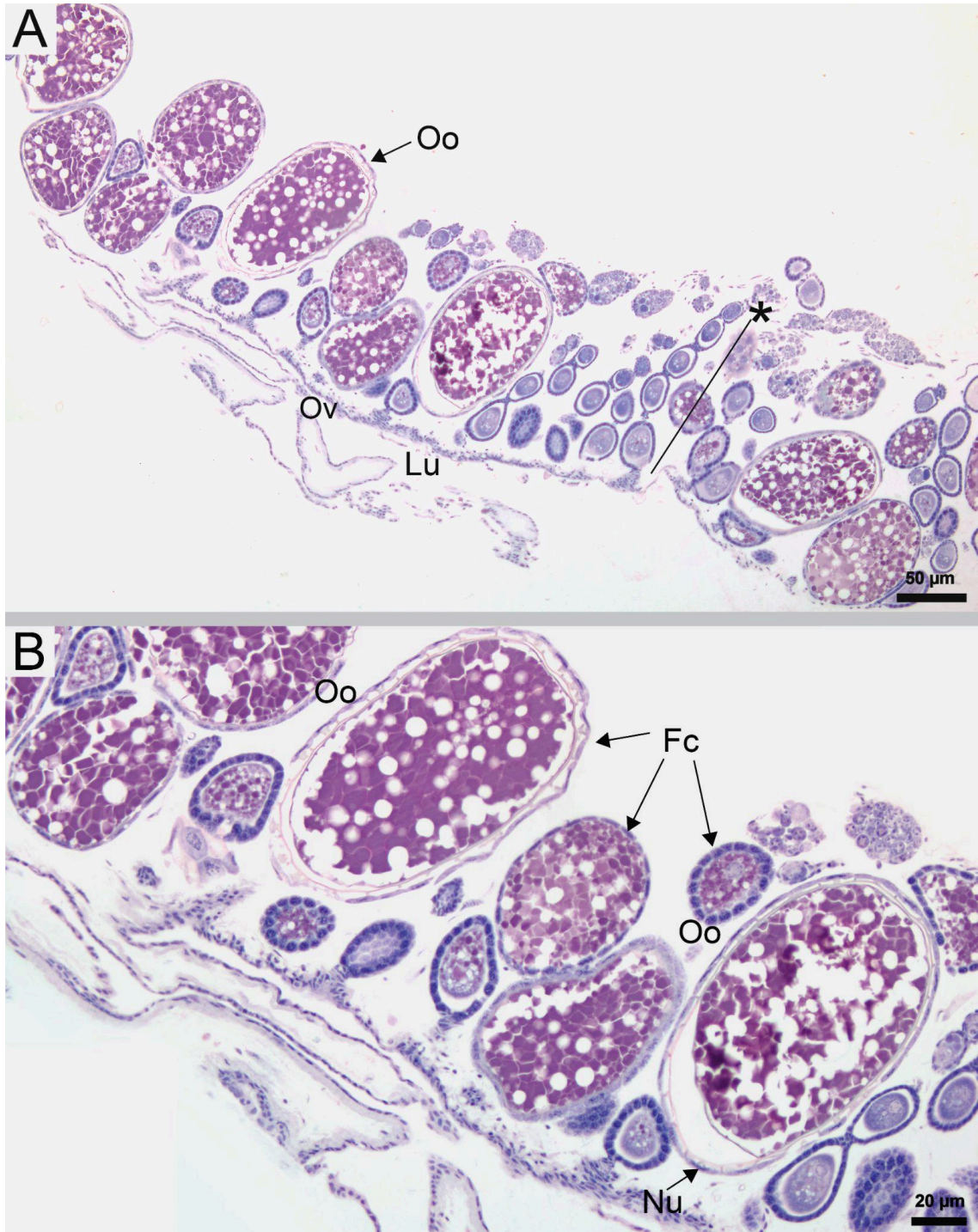


Figura 7. Micrografias de luz do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. nos últimos estágios ninfais. A) Visão geral do ovário, evidenciando ovaríolos com ovócitos (Oo) em diferentes estágios de desenvolvimento ao longo do vitelário (Linha com asterisco). B) Detalhe do vitelário mostrando ovócitos (Oo) delimitados por células foliculares (Fc) que variam de cúbicas, colunares e pavimentosas com núcleos (Nu) evidentes. Coloração: Hematoxilina e Eosina.

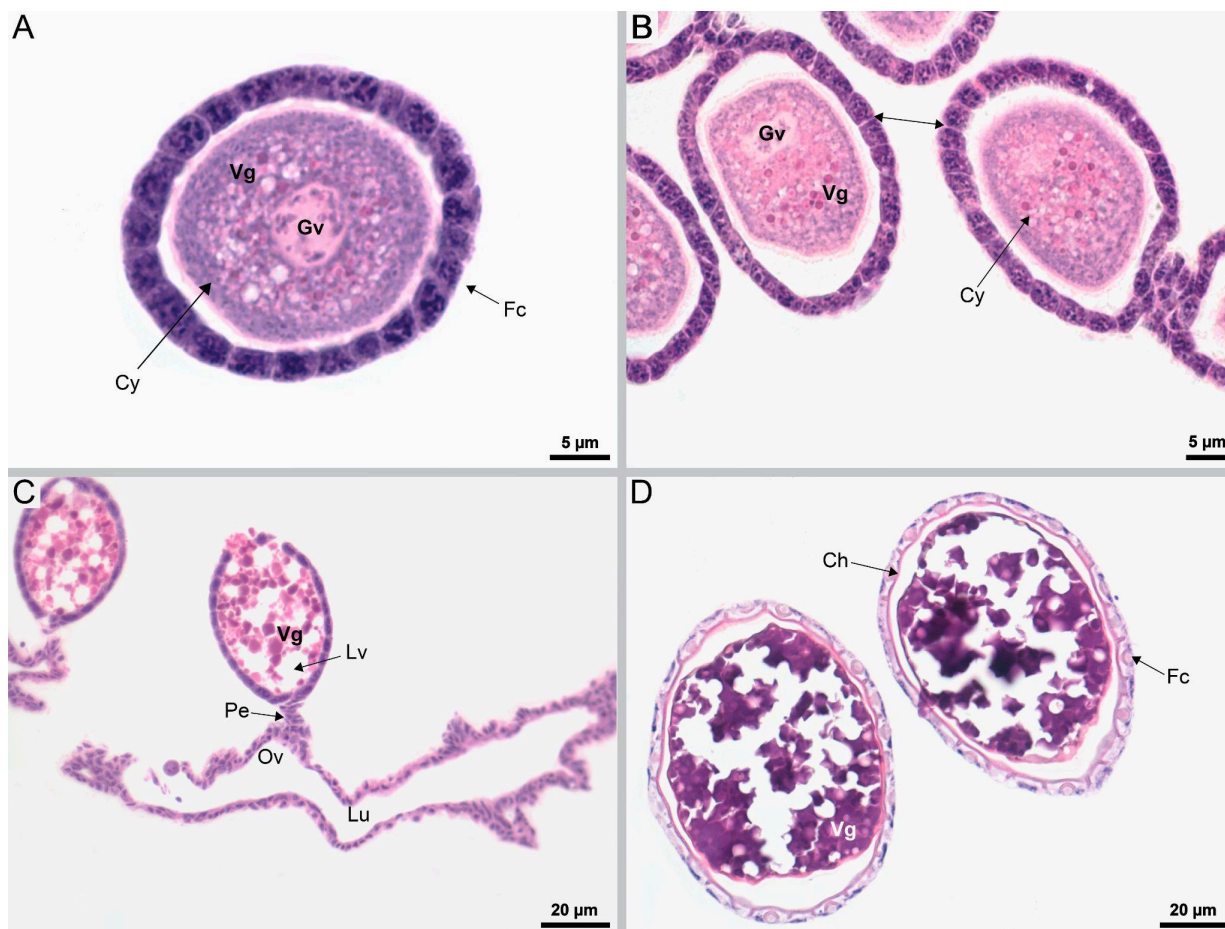


Figura 8. Micrografias de luz dos ovócitos de *Massartella* sp. em ninfas finais. A) Ovócito no início da vitelogênese, em formato esférico, circundado por células foliculares (Fc) cúbicas, com citoplasma (Cy) apresentando o início da deposição de grânulos de vitelo (Vg), vesícula germinativa (Gv) grande com cromatina descondensada. B) Ovócitos em vitelogênese, com o formato ovóide, circundado por células foliculares (Fc) cúbicas mais espaçadas (Seta de duas pontas), vesícula germinativa (Gv) descondensada e deslocada para a periferia devido ao aumento de inclusões grânulos de vitelo (Vg) no citoplasma (Cy). C) Ovócito com citoplasma apresentando inclusões granulares de vitelo grandes (Vg) e gotículas lipídicas (Lv), pedicelo (Pe) fechada por células achatadas, oviduto lateral (Ov) com lúmen (Lu) vazio. D) Ovócito em coriogênese, com o formato ovóide, citoplasma preenchido por inclusões de vitelo (Vg) e deposição de córion (Ch), delimitado por células foliculares (Fc) em degeneração. Coloração: Hematoxilina e Eosina.

4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise por microscopia eletrônica de varredura confirmou que os ovários são do tipo pectinado, constituídos por numerosos ovariolos compactados, com espaços estreitos entre eles, sendo possível distinguir as regiões do filamento terminal, germário e vitelário (Figura 9A). Em diversos pontos dessas regiões foram encontradas traqueias (Figura 9A).

Nas ninfas em estágios iniciais e intermediários, o filamento terminal estava alongado com um alargamento gradual em direção ao germário (Figura 9B). Essa estrutura teve aparência flexível, curvada em diferentes direções, com a superfície apresentando leves estrias transversais em diversos pontos, possivelmente relacionadas às células somáticas empilhadas (Figura 9C). Predominantemente nesses estágios, a região do germário foi caracterizada pela expansão do ovariolo com superfície rugosa e numerosas protuberâncias globulares (Figuras 9B, 9C).

Nos últimos estágios ninfais, o vitelário foi a região mais evidente devido ao número de ovócitos e à separação dos folículos ovocíticos em diferentes fases de maturação. Esses aparecem individualizados, com formatos variando de elípticos a esférico, e alguns levemente achatados, além de diferenças de tamanhos dos folículos ovocíticos que comprovam os diferentes estágios de desenvolvimento que ocorrem no vitelário (Figura 9F).

A superfície dos folículos ovocíticos apresentou diferentes texturas, variando de lisa, rugosa ou reticulada, conforme o estágio de maturação (Figura 9D). Os folículos em estágio avançado de maturação apresentam um formato oval, levemente alongado, sendo possível verificar a presença do córion, caracterizado por uma superfície reticulada de filamentos fibrosos e ornamentada, organizados em padrão poligonal de hexágonos e pentágonos, cada um com uma estrutura circular central distribuída por toda a superfície (Figuras 9D-9E). Em alguns casos, a superfície do folículo ovocítico teve aparência lisa, exibindo apenas alguns polígonos, devido à presença da bainha peritoneal intacta circundando os folículos ovocíticos (Figuras 9D-9E).

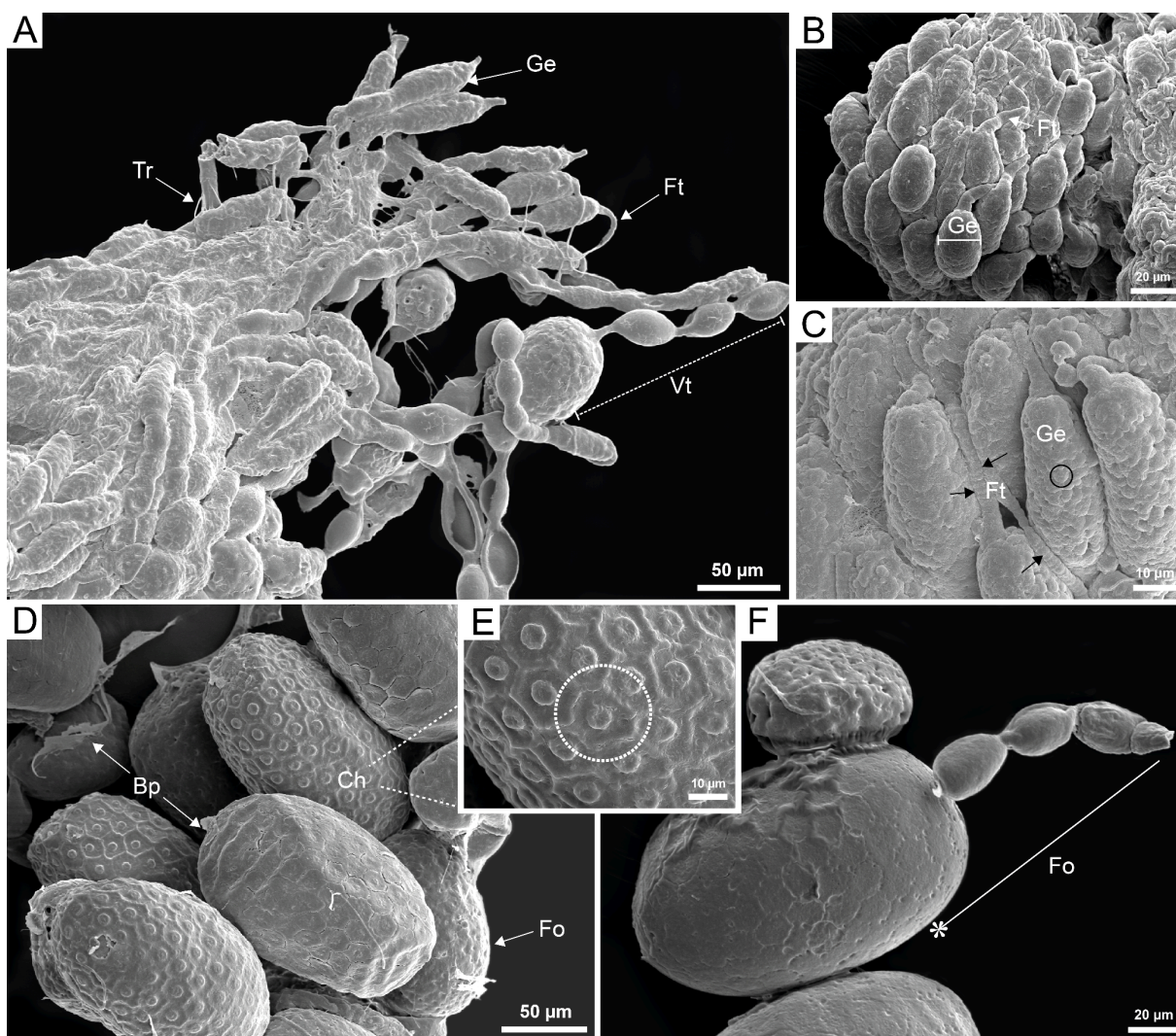


Figura 9. Micrografias eletrônicas de varredura do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp. mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento ovariano e detalhes estruturais dos ovaríolos. A) Vista geral de numerosos ovaríolos organizados em série, evidenciando o filamento terminal (Ft), Germário (Ge) e Vitelário (Vt), associado com traqueias (Tr). B) Vista geral dos germários (Ge) em expansão e filamentos terminais (Ft). C) Detalhe dos germários (Ge) com superfície rugosa e protuberâncias globulares (Círculo preto), filamento terminal (Ft) longo, com superfície lisa com leves estrias transversais (seta preta). D) Folículos ovocíticos (Fo) em estágios avançados de coriogênese, alguns permanecem cobertos pela bainha peritoneal (Bp), enquanto outros apresentam a bainha rompida, expondo o cório (Ch). E) Detalhe da superfície do cório (Ch) mostrando ornamentação poligonal externa (círculo pontilhado branco). F) Folículos ovocíticos (Fo) em diferentes estágios de maturação (Linha com asterisco).

4.5. Imunofluorescência

Na análise de imunofluorescência, os ovaríolos de *Massartella* sp. apresentaram reações positivas para histona H3 fosforilada, predominantemente na região do germário, indicando eventos de divisão celular, as quais não foram encontradas no filamento terminal e

vitelário (Figura 10) das ninfas das três coortes analisadas. Os controles negativos não evidenciaram a ocorrência de reação inespecífica.

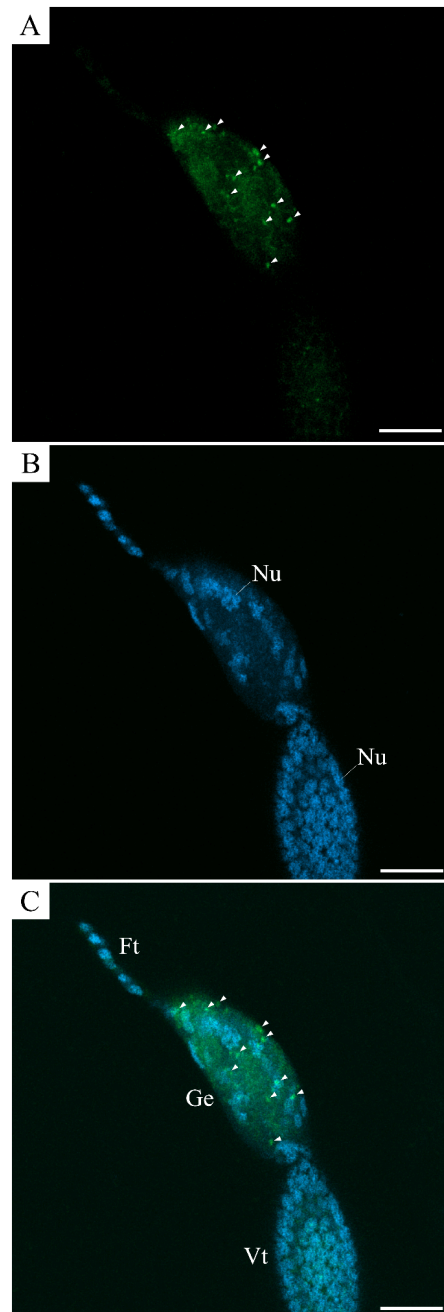


Figura 10. Imunofluorescência evidenciando reação positiva para histona H3 fosforilada no ovariolo de *Massartella* sp. A) Micrografia de fluorescência revelando células positivas para histona H3 fosforilada (verde) no germário (Ge). B) Núcleos evidenciados por DAPI (azul). C) Imagem de sobreposição (A e B), mostrando a localização das células proliferativas no germário (Ge), e ausentes no filamento terminal (Ft) e na região do vitelário (Vt). Barras = (A,B e C) 20 μ m.

5. DISCUSSÃO

Este estudo apresenta a primeira descrição do sistema reprodutor feminino de *Massartella* sp., descrevendo o desenvolvimento pós-embrionário com ênfase na organização do ovário e no desenvolvimento dos ovócitos.

Ainda que o tamanho corporal tenha sido utilizado como um dos parâmetros de separação no presente estudo, esse caráter apresentou sobreposição entre as coortes classificadas como inicial, intermediária e final. Essa categorização foi adotada, tendo em vista que em Ephemeroptera o desenvolvimento ninfal apresenta variações no número e duração de mudas, o que dificulta a definição exata de ínstars (Brittain, 1982). A sobreposição observada sugere que o tamanho corporal, quando utilizado isoladamente, não é suficiente para discriminar com precisão os estádios de desenvolvimento das ninfas de *Massartella* sp., devido à variação entre indivíduos, influenciada por fatores ambientais, como disponibilidade de alimento e temperatura (Martynov, 2016), evidenciando a limitação do uso de métricas exclusivamente morfométricas para a delimitação de fases ontogenéticas. Dessa forma, o grau de desenvolvimento das tecas alares até o tergo abdominal, aspectos de coloração e proeminência dessas estruturas, mostraram-se mais adequados para a delimitação das coortes, visto que as tecas alares se desenvolvem de forma gradual em insetos hemimetábolos (Jacob & Sartori, 1984; Martynov, 2016; Truman & Riddiford, 2019; Zhang, J. *et al.*, 2024). Sendo assim, o uso combinado de caracteres morfológicos externos permitiu uma classificação mais consistente das ninfas analisadas, gerando uma delimitação mais robusta para a interpretação das mudanças no sistema reprodutor ao longo do desenvolvimento.

Em *Massartella* sp., os ovários pares são compostos por numerosos ovariolos, posicionados em feixes paralelos, caracterizando um padrão pectinado, ocupando grande parte do abdômen da ninfa. Nas ninfas de estágio final de *Massartella* sp. o par de ovários está bem desenvolvido tendo o potencial de se estender até o mesotórax, como foi observado em espécies dos gêneros *Stenonema* Traver, 1933 (Heptageniidae) e *Stenacron* Jensen, 1974 (Heptageniidae) encontrados na América do Norte e nas espécies europeias *Ephemera danica* Muller, 1764 (Ephemeridae) e *Caenis robusta* Eaton, 1884 (Soldán, 1979a) (Caenidae). Esse padrão sugere que a extensão dos ovários ao longo do abdômen constitui uma característica recorrente em diferentes gêneros de Ephemeroptera, indicando um possível padrão conservado relacionado à organização do sistema reprodutor neste grupo. Tendo em vista que

o número de ovariolos é um dos fatores que influencia na capacidade reprodutiva dos insetos (Sarıkaya *et al.*, 2012; Sarıkaya *et al.*, 2019; Tarikere *et al.*, 2022), o grande número de ovariolos em *Massartella* sp. indica uma alta produção de ovócitos. Essa característica está relacionada com às estratégias reprodutivas do grupo, na qual a fase adulta apresenta uma curta duração, e com isso um curto período para a reprodução. Os ovariolos de *Massartella* sp. são conectados a um par de ovidutos laterais longos e um oviduto comum, estruturas relacionadas ao transporte de ovos após o desenvolvimento completo, como observado em outros Ephemeroptera (Gottanka & Büning, 1993). Destaca-se, no entanto, que os ovidutos já estão presentes nas ninfas nos estágios iniciais do desenvolvimento.

A organização dos ovariolos de *Massartella* sp. é característica do tipo panoístico, similar ao reportado para outros Ephemeroptera (Richards & Davies 1977; Soldán 1979a; Funk *et al.* 2000). Ovários do tipo panoístico são comumente encontrados em representantes das linhagens mais antigas de Insecta, como Paleoptera que agrupa Odonata e Ephemeroptera, sendo interpretado como uma condição plesiomórfica para o grupo. Além disso, esse tipo de ovariolo também foi descrito por Soldán, (1979a) em *Oligoneuriella rhenana* (Imnhoff, 1852) (Oligoneuridae), *Ecdyonurus torrenti* Kimmins, 1942 (Heptageniidae), como também em *Habrophlebia eldae* (Leptophlebiidae) (Mazzini & Gaino, 1990; Gaino *et al.*, 2009). Sendo assim, a presença de ovários panoísticos em *Massartella* sp., observada neste estudo, indica a conservação do padrão panoístico dentro da família Leptophlebiidae, essa conservação sugere que o tipo de ovariolo apresenta baixa variação entre os táxons do grupo. Ademais a organização morfo-funcional dos ovariolos de *Massartella* sp. apresenta filamento terminal, germário sem células nutridoras e vitelário, correspondendo a compartimentalização característica para o padrão panoístico, o que reforça a conservação estrutural desse padrão entre insetos Paleópteros, como os Ephemeroptera (Büning, 1994; Tworzydło *et al.*, 2014; Verma & Andrew, 2016).

Embora o padrão panoístico aqui observado seja reportado em outros Ephemeroptera, ovários meroísticos telotrófico também foram descritos por Gottanka & Büning (1993) para *Cloeon* sp. (Baetidae), *Ephemerella ignita* Poda 1761 (Ephemerellidae) e *Siphonurus armatus* Eaton, 1870 (Siphonuridae). Gaino & Rebora (2005) também descreveram o tipo de ovário meroísticos telotrófico para *Baetis rhodani* Pictet, 1843 (Baetidae) e *Cloeon dipterum* Linnaeus, 1761 (Baetidae). Essas variações indicam que, apesar do padrão panoístico ser dominante em Ephemeroptera, tenham ocorrido mudanças evolutivas independentes para formas meroístico dentro de Ephemeroptera. Essa diversidade sugere que o tipo de ovário

pode apresentar relevância em estudos comparativos e filogenéticos em categorias taxonômicas de níveis mais amplos, como família, revelando eventos evolutivos distintos em Ephemeroptera.

De acordo com os resultados da organização dos ovariolos de *Massartella* sp., foi possível observar que o filamento terminal segue o padrão descrito na literatura. Apresentando uma estrutura delgada composto por células somáticas, com a funcionalidade de fixação e sustentação dos ovariolos, sem participação na formação das células germinativas como ocorre em *Dolania americana* (Behningiidae) e em outros insetos (Snodgrass, 1935; Soldán, 1979b; Büning, 1994). Em algumas abelhas tem sido sugerida a ocorrência de células germinativas precursoras no filamento terminal (Gutzeit *et al.*, 1993; Tanaka & Hartfekder, 2009; Van Eeckhoven & Duncan, 2020), entretanto, a ausência de células positivas para histona H3 fosforilada no filamento terminal de *Massartella* sp. indica que estas células precursoras não ocorrem no filamento terminal desse Ephemeroptera.

Em *Massartella* sp., a presença de células em divisão celular mitótica no germário, evidenciada por microscopia de luz e por imunofluorescência positiva para histona H3 fosforilada, indicando um padrão que está de acordo com o descrito para a ovogênese de insetos (Azlan & Fukunaga, 2025; Zhang *et al.*, 2023; Trauner & Büning, 2007). A ovogênese em insetos tem início no germário, onde ocorre a divisão das células germinativas diferenciadas, frequentemente evidenciadas por figuras mitóticas (Pearson *et al.*, 2016; Farder-Gomes *et al.*, 2019; Choi & Kin, 2022). Nas ninfas de *Massartella* sp., as células positivas para histona H3 fosforilada ocorrem apenas na região do germário, desde o estágio inicial até final do desenvolvimento ninfal. Esse padrão sugere que a proliferação celular é preservada em todos os estádios ninfais e indicando a contínua diferenciação e desenvolvimento das células germinativas. Esse resultado confirma a presença e atividade do germário ao longo do desenvolvimento, em contraste com relatos de desintegração do germário do ovário de ninfas mais velhas, observado por Soldán (1979a).

A disposição sequencial de 4 a 6 ovócitos no vitelário de cada ovariolo de *Massartella* sp. em ninfas de estágio final indica um padrão de amadurecimento sequencial de um número delimitado de ovócitos. Esse padrão está frequentemente ligado a estratégias reprodutivas observadas em espécies ovíparas de efêmeras. As espécies europeias ovíparas, *E. torrentis* Kimmins, 1942 (Heptageniidae), *O. rhenana* (Imnhoff, 1852) (Oligoneuridae), *C. robusta* Eaton, 1884 (Soldán, 1979a) (Caenidae), *Paraleptophlebia submarginata* (Stephens, 1835)

(Leptophlebiidae) e *Ephemera danica* Muller, 1764 (Ephemeridae) apresentam o padrão de 4 a 8 ovócitos em desenvolvimento por vitelário (Soldán, 1979a). Entretanto, a espécie ovovivípara *C. dipterum* Linnaeus, 1761 (Baetidae) tem um número de ovócitos em amadurecimento reduzido, com cerca de 1 a 2 ovócitos por vitelário em cada ovariolo (Soldán, 1979a). Isso sugere que o número de ovócitos presentes no vitelário está mais diretamente relacionado à estratégia reprodutiva do que ao tipo de ovariolo. Em outros insetos, ocorrem padrões semelhantes, nos quais espécies ovíparas, como *Dysdercus koenigii* Fabr. 1775 (Hemiptera) e *Chrysomela populi* Linnaeus 1758 (Coleoptera), apresentam um maior número de ovócitos em desenvolvimento por vitelário que espécies ovovivíparas como *Kerria chinensis* Mahdihassan, 1923 (Hemiptera), que contém um ovócito no vitelário em cada ovariolo, apesar de todas essas espécies possuírem ovariolos meroísticos telotróficos (Ngernsiri *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2019; Özyurt *et al.*, 2021). Sendo assim, as variações no número de ovócitos em desenvolvimento no vitelário possivelmente estão mais associadas com as estratégias reprodutivas e adaptações fisiológicas específicas de cada espécie do que ao tipo de ovário. Além disso, essas variações podem demonstrar um potencial valor comparativo, colaborando para as diferenças entre as espécies e para o entendimento dos padrões reprodutivos da ordem.

Embora os ovócitos de insetos apresentem variações interespecíficas em relação às características morfológicas e ao tamanho, essas diferenças provavelmente estão associadas ao tipo de ovário, atividade vitelogênica e estratégias reprodutivas (Büning, 1994; Chapman, 2013). Em *Massartella* sp., os ovócitos apresentam algumas similaridades com o padrão descrito por Soldán (1979a) para *E. danica* e *P. submarginata*, especialmente em relação ao citoplasma, ao formato dos ovócitos, posição da vesícula germinativa e ao padrão das células foliculares, sugerindo a conservação desses aspectos morfológicos entre diferentes representantes de Ephemeroptera.

O ooplasma de *Massartella* sp., é fortemente basófilo, o que está relacionado ao intenso acúmulo de grânulos de vitelo, em especial proteínas, modificando-se de homogêneo para heterogêneo gradualmente ao longo do desenvolvimento, padrão típico de ovócitos em vitelogênese. A vesícula germinativa nos ovócitos vitelogênicos apresenta uma tendência de deslocamento para a periferia, possivelmente relacionada à reorganização do citoplasma pelo acúmulo de vitelo.

As modificações morfológicas observadas ao longo da maturação dos ovócitos de *Massartella* sp., compreendem variações no formato, de esférico a oval, e alterações no revestimento de células foliculares, de cúbicas a pavimentosas. Essas mudanças estão associadas a transformações estruturais próprias da maturação ovocítica. Ademais, as células foliculares apresentam degeneração progressiva ao longo do processo de coriogênese. De acordo com a literatura, essa degeneração ocorre após as células foliculares secretarem componentes protéicos para a formação do córion (Santos e Ramos, 2021; Bo *et al.*, 2022). Logo, a presença de células foliculares degeneradas, evidenciam o final do ciclo de maturação dos ovócitos, demonstrando um padrão compatível com o descrito para outros insetos.

Nos ovócitos em vitelogenese avançada de *Massartella* sp., as células foliculares que circundam os ovócitos apresentam espaços intercelulares amplos, caracterizando a patência. Essa condição pode facilitar o aporte de vitelogenina ao ovócito a partir da hemolinfa, ocasionando o aumento do seu volume (Seidelmann *et al.*, 2016). Em contraste, nos ovócitos em coriogênese, há redução dos espaços intercelulares, o que sugere que a patência esteja associada à entrada de vitelogenina, principalmente na fase de intensa deposição de vitelo. No entanto, estudos de insetos que apresentam ovário do tipo meroístico indicam que a vitelogenina é transportada por via transcelular e não diretamente pelos espaços intercelulares (Ronnau *et al.*, 2016; Dohanik *et al.*, 2018). Dessa forma, essa divergência aponta para a necessidade de mais estudos específicos para esclarecer a via do transporte de vitelogenina em Ephemeroptera.

O formato ovóide, levemente alongado, dos ovócitos em coriogênese de *Massartella* sp. está em concordância com o descrito por Pescador & Peters, (1990) para *Massartella brieni*, distribuída no Brasil. Derka, *et al.*, (2002, 2009) relatou características similares para *Massartella hirsuta* e *Massartella devani*, ambas com distribuição na Venezuela. Além disso, Marulanda-Lopez (2021) também registrou padrão semelhante em outros gêneros de Leptophlebiidae, família à qual pertence o gênero *Massartella*.

Os padrões coriônicos dos ovos de *Massartella* sp., de maneira geral, exibem semelhanças àqueles previamente descritos, sendo caracterizados por filamentos fibrosos e diferentes ornamentações (Derka, 2002; Derka, *et al.*, 2009). Ademais, foi observada elevada similaridade com as imagens de microscopia de varredura obtidas neste trabalho, nas quais o córion exhibe ornamentação com padrão poligonal predominantemente hexagonal e/ou pentagonal, formado por segmentos lineares delimitando um círculo na região central, como o

descrito por Pescador & Peters (1990) e Hernández Cortes (2023) para algumas espécies com distribuição no Brasil. Em contrapartida, espécies descritas na Venezuela, *M. devani* e *M. hirsuta*, apresentam padrão poligonal delimitado por círculos com um círculo maior no centro (Derka *et al.*, (2002, 2009). Essa diferença pode estar relacionada à divisão das espécies em duas linhagens distintas, uma associada a Mata Atlântica (*M. brieni* e *M. alegrettae*) e outra do Pantepui (*M. devani* e *M. hirsuta*) (Gatti *et al.*, 2021; Hernández Cortes, 2023). Além disso, variações na ornamentação do córion são consideradas comuns em insetos e refletem diferenças interespecíficas, sendo úteis em estudos comparativos e taxonômicos (Krupitsky & Kolesnichenko, 2025; Gaino & Flannagan, 1995; Andrew & Tembhare, 1992). Dessa forma, os padrões coriônicos observados em *Massartella* sp. reforçam o potencial da ornamentação do córion como caráter informativo em análises comparativas e filogenéticas em Ephemeroptera. Entretanto, são necessários estudos adicionais, com abordagem filogenética e uma maior amostragem, para confirmar essa hipótese.

Os ovidutos laterais em *Massartella* sp. são semelhantes aos previamente descritos por Soldán (1979a) para diferentes espécies pertencentes a várias famílias de Ephemeroptera, o que sugere que a conservação dessa configuração estrutural no grupo. Esses ovidutos se unem, formando um oviduto comum, como o já descrito para as espécies *Habroleptoides confusa* Sartori & Jacob, 1986 e *Thraulodes latinus* Cortes & Dias & Araújo 2021 da família Leptophlebiidae, indicando que esse padrão estrutural é recorrente dentro da família (Gaino e Reborá, 1995; Araújo *et al.*, 2021). No presente estudo foi observado um aumento gradual do lúmen dos ovidutos entre as coortes analisadas, o que possivelmente reflete o avanço do desenvolvimento reprodutivo e na organização dos ovidutos para o transporte dos ovócitos. Apesar de já ser descrito que a ovogênese em Ephemeroptera é concluída até o último instar ninfal, com ovócitos maduros já presentes nos ovários (Brinck, 1957; Soldán, 1979a; Brittain, 1982; Araújo *et al.*, 2021), em nenhuma das coortes ninfais analisadas foi verificada a presença de ovócitos no interior dos ovidutos, devido ao fato de o pedicelo permanecer fechado ao longo de todo o desenvolvimento ninfal aqui analisado. Sendo assim, é provável que a passagem dos ovócitos aconteça próximo à emergência ou durante os estágios alados (subimago e imago), sugerindo um sincronismo entre a maturação final dos ovócitos e a transição para a fase reprodutiva, de imago. Esse padrão indica que a liberação dos ovócitos pode estar temporalmente regulada, o que pode representar uma adaptação ao curto período de vida adulta de Ephemeroptera. Entretanto, são necessários estudos adicionais para confirmar esse padrão.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo foi o primeiro a fornecer uma descrição detalhada do desenvolvimento pós-embriônico do ovário de *Massartella* sp., destacando modificações morfológicas progressivas associadas à maturação reprodutiva ao longo do desenvolvimento ninfal. Os resultados demonstram que o ovário apresenta organização do tipo panoístico, no qual os ovócitos se desenvolvem sem a presença de células nutridoras.

Nas três coortes analisadas ocorre diferenciação gradual do germário e do vitelário, seguida pelo aumento no tamanho dos ovócitos e pelas alterações histológicas características da maturação da ovogênese. Esse desenvolvimento ovariano foi marcado por mudanças evidentes no formato e citoplasma do ovócito, no posicionamento da vesícula germinativa e na morfologia e organização das células foliculares, incluindo o início da coriogênese em estágios ninfais finais.

No geral, os resultados obtidos indicam que a organização e o desenvolvimento do sistema reprodutor feminino em *Massartella* sp. seguem padrões compartilhados entre Ephemeroptera, sugerindo a conservação de diversos caracteres morfológicos. Em contrapartida, algumas variações observadas, especialmente relacionadas ao desenvolvimento ovocítico, podem refletir adaptações específicas, apresentando um potencial para uso em estudos comparativos.

Dessa forma, este estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre a biologia reprodutiva de Ephemeroptera, particularmente na família Leptophlebiidae, ao fornecer dados inéditos sobre o desenvolvimento ovariano de *Massartella* sp., além de estabelecer uma base para futuros estudos da biologia reprodutiva, comparativa e evolutiva.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREW, R. J.; TEMBHARE, D. B. Surface ultrastructure of the egg chorion in the dragonfly *Ictinogomphus rapax* (Rambur) (Odonata: Gomphidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, v. 21, n. 4, p. 347–350, 1992.
- ARAÚJO, Vinícius Albano; DIAS, Lucimar Gomes; SERRÃO, José Eduardo. Rapid and efficient mating in mayflies (Ephemeroptera): morphological and reproductive strategies in primitive winged insects. *The Science of Nature*, v. 108, n. 2, p. 10, 2021.
- AZLAN, A.; FUKUNAGA, R. MYCBP interacts with Sakura and Otu and is essential for germline stem cell renewal and differentiation and oogenesis. *PLoS Genetics*, v. 21, n. 12, e1011792, 2025.

- BARBER-JAMES, H. M.; GATTOLLIAT, J. L.; SARTORI, M.; HUBBARD, M. D. Global diversity of mayflies (Ephemeroptera, Insecta) in freshwater. *Hydrobiologia*, v. 595, p. 339–350, 2008.
- BARBER-JAMES, H. M.; SARTORI, M.; GATTOLLIAT, J. L.; WEBB, J. World checklist of freshwater Ephemeroptera species. *World Wide Web electronic publication*, 2013. Disponível em: <http://fada.biodiversity.be/group/show/35>. Acesso em: 29 jul. 2024.
- BO, L. I. U. et al. Identification of chorion genes and RNA interference-mediated functional characterization of chorion-1 in *Plutella xylostella*. *Journal of Integrative Agriculture*, v. 21, n. 11, p. 3278-3292, 2022.
- BOLDRINI, R.; CRUZ, P. V. Criação e transporte de ninfas de Ephemeroptera em campo. *EntomoBrasilis*, v. 6, n. 2, p. 168–170, 2013.
- BRINCK, P. Reproductive system and mating in Ephemeroptera. *Opuscula Entomologica*, v. 22, p. 1–37, 1957.
- BRITAIN, J. E. Biology of mayflies. *Annual Review of Entomology*, v. 27, p. 119–147, 1982.
- BÜNING, J. *The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and evolution*. Berlin: Springer, 1994.
- CASTILLO VELÁSQUEZ, Rodolfo Mauricio. Diversidade e distribuição de Plecoptera de Minas Gerais, Brasil. 2023. 102 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2023.
- CHAPMAN, R. F. *The insects: structure and function*. 5. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.
- CHOI, D. Y.; KIM, Y. Transcriptome analysis of female western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, exhibiting neo-panoistic ovarian development. *PLoS ONE*, v. 17, n. 8, e0272399, 2022.
- CORTES, Isabel Cristina Hernández; DIAS, Lucimar Gomes; ARAÚJO, Vinícius Albano. A new species of *Thraulodes* Ulmer (Ephemeroptera: Leptophlebiidae), with additional data on the anatomy of the reproductive tract. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 65, p. e20210014, 2021.
- CRUZ-LANDIM, C. *Abelhas: morfologia e função de sistemas*. São Paulo: UNESP, 2009.
- DA-SILVA, R. M. L. Ordem Ephemeroptera (Arthropoda: Insecta). 2007.
- DA-SILVA, E. R.; SALLES, F. F. Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1891. In: *Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia*. Ribeirão Preto: Holos, 2012. p. 231–244.
- DA-SILVA, E. R.; SALLES, F. F.; NESSIMIAN, J. L.; COELHO, L. B. N. A identificação das famílias de Ephemeroptera (Insecta) ocorrentes no Brasil. *Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia*, n. 508, p. 1–6, 2003.

- DA-SILVA, E. R.; SALLES, F. F. Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1891. In: Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2024.
- DERKA, T. *Massartella devani*, a new mayfly species from Venezuela's Highlands (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae). *Aquatic Insects*, v. 24, n. 4, p. 309–316, 2002.
- DERKA, T.; SVITOK, M.; SCHLÖGL, J. *Massartella hirsuta* sp. nov. (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) and new data on mayflies of Guyana Highlands. *Aquatic Insects*, v. 31, n. 1, p. 83–94, 2009.
- DOMÍNGUEZ, E. et al. *Ephemeroptera of South America*. Sofia: Pensoft, 2006. (Aquatic Biodiversity of Latin America, v. 2).
- EDMUNDS JR., G. F.; JENSEN, S. L.; BERNER, L. *The mayflies of North and Central America*. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1976. 338 p.
- ELOUARD, J. M.; GATTOLLIAT, J. L.; SARTORI, M. Ephemeroptera mayflies. In: GOODMAN, S. M.; BENSTEAD, J. P. (org.). *The natural history of Madagascar*. Chicago: University of Chicago Press, 2003. p. 639–645.
- FARDER-GOMES, C. F.; OLIVEIRA, M. A.; DELLA LUCIA, T. M. C.; SERRÃO, J. E. Morphology of the ovary and spermatheca of the leafcutter ant *Acromyrmex rugosus* queens (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomologist*, v. 102, n. 3, p. 515–519, 2019.
- FERREIRA, M. *Estudo da ordem Ephemeroptera do Córrego Pedregulho – Pedregulho, SP*. 1990. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1990.
- FUNK, D. H.; SWEENEY, B. W.; JACKSON, J. K. Why stream mayflies can reproduce without males but remain bisexual: a case of lost genetic variation. *Journal of the North American Benthological Society*, v. 29, n. 4, p. 1258–1266, 2010.
- GAINO, E. Aquatic stages in the development of *Habrophlebia eldae* Jacob & Sartori, 1984 (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). 1987.
- GAINO, E.; FLANNAGAN, J. Fine external morphology of the eggs of *Ephoron album* (Say) and *Ephoron shigae* (Takahashi) (Ephemeroptera: Polymitarcyidae). *The Canadian Entomologist*, v. 127, n. 4, p. 527–533, 1995.
- GAINO, E.; MAZZINI, M. Ultrastructural organization of the oviducts of the mayfly *Habrophlebia eldae* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). *Italian Journal of Zoology*, v. 57, n. 3, p. 241–246, 1990.
- GAINO, E.; MAZZINI, M. Oogenesis and involvement of chorionic structures in Ephemeropteran taxonomy. In: CAMPBELL, I. C. (org.). *Mayflies and stoneflies: life histories and biology*. Dordrecht: Springer, 1990. p. 95–104.
- GAINO, E.; PIERSANTI, S.; REBORA, M. The oviposition mechanism in *Habrophlebia eldae* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). *Aquatic Insects*, v. 31, supl. 1, p. 515–522, 2009. DOI: 10.1080/01650420902732396.

- GAINO, E.; REBORA, M. Comparative study of the mating apparatus of three species of Leptophlebiidae (Ephemeroptera). *Aquatic Insects*, v. 17, n. 2, p. 95–104, 1995.
- GAINO, E.; REBORA, M. Egg envelopes of *Baetis rhodani* and *Cloeon dipterum* (Ephemeroptera: Baetidae): a comparative analysis between an oviparous and an ovoviviparous species. *Acta Zoologica*, v. 86, n. 1, p. 63–69, 2005.
- GATTI, F. D.; SALLES, F. F.; DERKA, T.; LEITE, Y. L. Evolutionary history of *Massartella* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae) suggests ancient vicariant event between biotas of the Pantepui and Atlantic Forest highlands. *Systematic Entomology*, v. 46, n. 2, p. 386–399, 2021.
- GOTTANKA, J.; BÜNING, J. Mayflies (Ephemeroptera), the most “primitive” winged insects, have telotrophic meroistic ovaries. *Roux’s Archives of Developmental Biology*, v. 203, p. 18–27, 1993.
- GUPTA, K. K.; KAYESTH, S.; SHAZAD, M.; KUMAR, S. Implication of mating on oocyte development in red cotton bug *Dysdercus koenigii* (Fabricius, 1775) (Heteroptera: Pyrrhocoridae). *Polish Journal of Entomology*, v. 88, n. 4, p. 351–360, 2019.
- HERNÁNDEZ CORTES, Isabel Cristina. Revisão taxonômica do gênero *Massartella* Lestage, 1930 (Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) da Mata Atlântica. 2023. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2023.
- HEYMONS, R. Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane von *Phyllodromia (Blatta) germanica* L. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, v. 53, p. 434–536, 1891.
- HEYMONS, R. *Die Embryonalentwicklung von Dermapteren und Orthopteren*. Jena: Gustav Fischer, 1895.
- HOVMÖLLER, Rasmus; PAPE, Thomas; KÄLLERSJÖ, Mari. The Palaeoptera problem: basal pterygote phylogeny inferred from 18S and 28S rDNA sequences. *Cladistics*, v. 18, n. 3, p. 313–323, 2002.
- KOSS, R. W. Morphology and taxonomic use of Ephemeroptera eggs. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 61, p. 696–721, 1968.
- KRUPITSKY, A. V.; KOLESNICHENKO, K. A. Análise integrativa da ultraestrutura do córion do ovo combinada com filogenia multilocus esclarece a taxonomia do subgênero *Thersamolycaena* Verity, 1957 do gênero *Lycaena* Fabricius, 1807 (Lepidoptera: Lycaenidae). *Revista Entomológica Russa*, v. 34, n. 3, p. 343–357, 2025.
- LANDA Y SOLDÁN, T. Distributional patterns, chorology and origin of the Czechoslovak fauna of mayflies (Ephemeroptera). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, v. 82, p. 241–268, 1985.
- LANDA, V.; SOLDÁN, T.; PETERS, W. L. Comparative anatomy of larvae of the family Leptophlebiidae (Ephemeroptera) based on ventral nerve cord, alimentary canal, Malpighian tubules, gonads and tracheal system. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, v. 77, p. 169–195, 1980.

- MARIANO, R.; BOLDRINI, R.; LIMA, L. R. C.; ALVIN, J.B; SALLES, F. F. Lista das espécies: número de registros para a América do Sul: Ephemeroptera da América do Sul. Acesso em: 10 jul. 2026.
- MARTYNOV, A. V. The life cycles of mayflies (Insecta: Ephemeroptera) of the Eastern Ukraine. Second report. *Visnyk Natsionalnoho Naukovo-Pryrodnychoho Muzeiu*, n. 14, p. 86–94, 2016.
- MARULANDA-LOPEZ, J. F.; SERRÃO, J. E.; KALILE, M. O.; MARQUES, V. M.; CORTES, J. Q.; SALLES, F. F. The oology in taxonomic studies of Terpidinae Kluge (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). *Zoologischer Anzeiger*, v. 292, p. 58–63, 2021.
- MAZZINI, M.; GAINO, E. Oogenesis and involvement of chorionic structures in Ephemeropteran taxonomy. In: CAMPBELL, I. C. (org.). *Mayflies and stoneflies: life histories and biology*. Dordrecht: Springer, 1990. p. 95–104.
- MONJARDIM, M.; PARESQUE, R.; SALLES, F. F. Phylogeny and classification of Leptophlebiidae (Ephemeroptera) with an emphasis on Neotropical fauna. *Systematic Entomology*, v. 45, n. 2, p. 415–429, 2020.
- NGERNSIRI, L.; PIYAJARAPRASERT, W.; WISORAM, W.; MERRITT, D. J. Structure of the female reproductive system of the lac insect *Kerria chinensis* (Sternorrhyncha: Coccoidea: Kerridae). *Acta Zoologica*, v. 96, n. 3, p. 312–318, 2015.
- ÖZYURT KOÇAKOĞLU, N.; CANDAN, S.; GÜLLÜ, M. Morphology of the reproductive tract of females of leaf beetle *Chrysomela populi* (Chrysomelidae: Coleoptera). *Biologia*, v. 76, n. 11, p. 3257–3265, 2021.
- PALMÉN, J. A. Reproductive system and mating in Ephemeroptera. Helsingfors: [s.n.], 1884. 107 p.
- PEARSON, J. R. et al. ECM-regulator *timp* is required for stem cell niche organization and cyst production in the *Drosophila* ovary. *PLoS Genetics*, v. 12, n. 1, e1005763, 2016.
- PESCADOR, M. L.; PETERS, W. L. Biosystematics of the genus *Massartella* Lestage (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) from South America. *Aquatic Insects*, v. 12, p. 145–160, 1990.
- RATIA, H.; VUORI, K. M.; OIKARI, A. Caddis larvae (Trichoptera, Hydropsychidae) indicate delaying recovery of a watercourse polluted by pulp and paper industry. *Ecological Indicators*, v. 15, n. 1, p. 217–222, 2012.
- RICHARDS, O. W.; DAVIES, R. G. Ephemeroptera (Plectoptera: Mayflies). In: IMMS, A. D. *Imms' General Textbook of Entomology*. Dordrecht: Springer, 1977. cap. 6. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-017-0472-4_6.
- ROLDÁN-PÉREZ, G. *Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia*. Bogotá: Universidad de Antioquia, 1998. 217 p.
- RUFFIEUX, L.; ELOUARD, J.-M.; SARTORI, M. Sightlessness in mayflies and its relevance to hypotheses on the origin of insect flight. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, v. 265, p. 2135–2140, 1998.

- SALLES, F. F. A ordem Ephemeroptera no Brasil (Insecta): taxonomia e diversidade. 2006.
- SALLES F.F.; BOLDRINI R.; LIMA L.R.C.; ALVIM J.B.; MARIANO R 2026. Ephemeroptera in *Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil*. Available in: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/122>>. Access on: 23 abr. 2026
- SALLES, F. F.; DOMÍNGUEZ, E.; MOLINERI, C.; BOLDRINI, R.; NIETO, C.; GOMES, D. L. Order Ephemeroptera. In: HAMADA, N.; THORP, J. H.; ROGERS, C. (eds.). *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates*. v. 3. Cambridge: Academic Press, 2018. p. 61–117.
- SANTOS, D. C.; GREGÓRIO, E. A. Morphological aspects of cluster formation in the germarium of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). *Neotropical Entomology*, v. 35, p. 644–653, 2006.
- SANTOS, Anna; RAMOS, Isabela. ATG3 is important for the chorion ultrastructure during oogenesis in the insect vector *Rhodnius prolixus*. *Frontiers in physiology*, v. 12, p. 638026, 2021.
- SARIKAYA, D. P.; BELAY, A. A.; AHUJA, A.; DORTA, A.; GREEN II, D. A.; EXTVAVOUR, C. G. The roles of cell size and cell number in determining ovariole number in *Drosophila*. *Developmental Biology*, v. 363, n. 1, p. 279–289, 2012.
- SARIKAYA, D. P.; CHURCH, S. H.; LAGOMARSINO, L. P.; et al. Reproductive capacity evolves in response to ecology through common changes in cell number in Hawaiian *Drosophila*. *Current Biology*, v. 29, n. 11, p. 1877–1884, 2019.
- SARTORI, M.; BRITAIN, J. E. Ordem Ephemeroptera. In: THORP, J. H.; COVICH, A. P. *Invertebrados de Água Doce de Thorp e Covich*. 4. ed. Cambridge: Academic Press, 2015. p. 873–891.
- SAVAGE, H. M. Biogeographic classification of the Neotropical Leptophlebiidae (Ephemeroptera) based upon geological centers of ancestral origin and ecology. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v. 22, n. 4, p. 199–222, 1987.
- SEIDELMANN, Karsten et al. Sequential oogenesis is controlled by an oviduct factor in the locusts *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria*: Overcoming the doctrine that patency in follicle cells is induced by juvenile hormone. *Journal of Insect Physiology*, v. 90, p. 1-7, 2016.
- SIMON, Sabrina; BLANKE, Alexander; MEUSEMANN, Karen. Reanalyzing the Palaeoptera problem—the origin of insect flight remains obscure. *Arthropod structure & development*, v. 47, n. 4, p. 328-338, 2018.
- SNODGRASS, R. E. Morphology of the insect abdomen. IV. The genital ducts and the ovipositor. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, v. 89, n. 8, p. 1–148, 1933.
- SNODGRASS, R. E. *The principles of insect morphology*. London: McGraw-Hill, 1935.
- SOLDÁN, T. The structure and development of the female internal reproductive system in six European species of Ephemeroptera. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, v. 76, p. 353–365, 1979a.

- SOLDÁN, T. Internal anatomy of *Dolania americana* (Ephemeroptera: Behningiidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 72, n. 5, p. 636–641, 1979b.
- SOLDÁN, T. Comparative anatomy of the internal reproductive organs of mayflies (Ephemeroptera). *Československá akademie věd. Studie*, v. 6, p. 5–118, 1981.
- SOUTO, P. M.; DA-SILVA, E. R.; NESSIMIAN, J. L. Description of the nymph of *Massartella alegrettae* Ulmer, 1943 (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) with a key to *Massartella* Lestage, 1930 nymphs. *Zootaxa*, v. 3681, n. 5, p. 583–588, 2013.
- STEFANINI, M.; MARTINO, C. D.; ZAMBONI, L. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature*, v. 216, n. 5111, p. 173–174, 1967.
- STANICZEK, A. H. The mandible of silverfish (Insecta: Zygentoma) and mayflies (Ephemeroptera): its morphology and phylogenetic significance. 2000.
- TANAKA, Érica Donato; HARTFELDER, Klaus. Sequence and expression pattern of the germ line marker vasa in honey bees and stingless bees. *Genetics and molecular biology*, v. 32, p. 582–593, 2009.
- TARIKERE, S.; YLLA, G.; EXTVAVOUR, C. G. Distinct gene expression dynamics in germ line and somatic tissue during ovariole morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 12, n. 2, p. jkab305, 2022.
- TRAUNER, J.; BÜNING, J. Germ-cell cluster formation in the telotrophic meroistic ovary of *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Polyphaga, Tenebrionidae) and its implication on insect phylogeny. *Development Genes and Evolution*, v. 217, n. 1, p. 13–27, 2007.
- TRUMAN, J. W.; RIDDIFORD, L. M. The evolution of insect metamorphosis: a developmental and endocrine view. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 374, n. 1783, 2019.
- TWORZYDLO, W.; KISIEL, E.; JANKOWSKA, W.; BILINSKI, S. M. Morphology and ultrastructure of the germarium in panoistic ovarioles of a basal “apterygoteous” insect, *Thermobia domestica*. *Zoology*, v. 117, n. 3, p. 200–206, 2014.
- VAN EECKHOVEN, Jens; DUNCAN, Elizabeth J. Mating status and the evolution of eusociality: Oogenesis is independent of mating status in the solitary bee *Osmia bicornis*. *Journal of insect Physiology*, v. 121, p. 104003, 2020.
- VERMA, P.; ANDREW, R. Structure of the female reproductive system of the dragonfly *Orthetrum sabina sabina* (Drury, 1770) (Anisoptera: Libellulidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v. 4, n. 5, p. 457–462, 2016.
- ZHANG, H.; GOH, F. G.; NG, L. C.; CHEN, C. H.; CAI, Y. *Aedes aegypti* exhibits a distinctive mode of late ovarian development. *BMC Biology*, v. 21, n. 1, p. 11, 2023.
- ŻELAZOWSKA, M. Structure of the ovary and the differentiation of follicular epithelium in the pig louse, *Haematopinus suis* (Insecta: Phthiraptera). *Folia Biologica (Kraków)*, v. 53, n. 1–2, p. 51–60, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Informações dos espécimes de *Massartella* sp. coletados no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), Minas Gerais, Brasil.

ID do espécime	Estado	Município	Localidade	Coordenadas	Data da coleta	Cohort	Comprimento (mm)	Tecas atingindo o terço	Coloração	Prominência
#20	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Inicial	14 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
#11	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Inicial	16 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
#7	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Inicial	18 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
X	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Inicial	13 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
XI	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Inicial	13 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
IV	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Inicial	15 mm	Início do 1º terço	claras	sem proeminência
#45	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Inicial	10 mm	1/4 do 1º terço	claras	sem proeminência
#26	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Inicial	12 mm	1/4 do 1º terço	claras	sem proeminência
#19	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Inicial	10 mm	1/4 do 1º terço	claras	sem proeminência
Total 9										
#30	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	13 mm	1/2 do 1º terço	claras	sem proeminência
#29	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	15 mm	1/2 do 1º terço	claras	sem proeminência
#28	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	15 mm	Final do 1º terço	claras	sem proeminência
#42	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	15 mm	Final do 1º terço	claras	sem proeminência
#32	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	16,5 mm	Final do 1º terço	claras	sem proeminência
#39	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	16,5 mm	Final do 1º terço	claras	sem proeminência
#12	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Intermediária	19 mm	Final do 1º terço	claras	sem proeminência
#27	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Intermediária	15 mm	Início do 2º terço	claras	sem proeminência
Total 8										
#41	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	15 mm	1/4 do 2º terço	claras	sem proeminência
#9	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	20 mm	Início do 3º terço	claras	sem proeminência
#36	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	Início do 3º terço	claras	sem proeminência
#38	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	1/2 do 3º terço	claras	sem proeminência
#25	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	18 mm	1/2 do 3º terço	claras	sem proeminência
#23	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19 mm	1/2 do 3º terço	claras	sem proeminência
#37	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19 mm	1/2 do 3º terço	claras	sem proeminência
#18	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#35	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#14	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#16	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19,5 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#17	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	19,5 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#10	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	22 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#8	Minas Gerais	Araponga	Trilha das águas	20° 43' 45" S, 42° 28' 11,12" O	12-VIII-2024	Final	22 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#13	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	18 mm	Final do do 3º terço	escuras	proeminentes
#24	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	Final do 3º terço	escuras	proeminentes
#44	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	Final do 3º terço	escuras	proeminentes

ID do espécime	Estado	Município	Localidade	Coordenadas	Data da coleta	Cohort	Comprimento (mm)	Tecas atingindo o tergo	Coloração	Prominência
#31	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17,5 mm	Final do 3º tergo	escuras	proeminentes
#43	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17,5 mm	Final do 3º tergo	escuras	proeminentes
#40	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	16 mm	Final do 3º tergo	escuras	proeminentes
#34	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	16,5 mm	Início do 4º tergo	escuras	proeminentes
#6	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	18 mm	Início do 4º tergo	escuras	proeminentes
#21	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	1/4 do 4º tergo	escuras	proeminentes
#33	Minas Gerais	Araponga	Cachoeira do Moinho	20° 43' 15" S, 42° 28' 45,13" O	12-VIII-2024	Final	17 mm	1/4 do 4º tergo	escuras	proeminentes
Total 24										