

**PAULO HENRIQUE REZENDE**

**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E  
ESPERMATOZOIDES DE TRÊS ESPÉCIES DE PERCEVEJOS DA  
TRIBO ECCRITOTARSINI (HETEROPTERA: MIRIDAE)**

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

Orientador: José Lino Neto

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2019**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Rezende, Paulo Henrique, 1994-  
R467m Morfologia do sistema reprodutor masculino e  
2019 espermatozoides de três espécies de percevejos da tribo  
Eccritotarsini (Heteroptera: Miridae) / Paulo Henrique Rezende.  
– Viçosa, MG, 2019.  
35 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Lino Neto.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 30-35.

1. Cimicomorpha. 2. Bryocorinae. 3. Biologia -  
Classificação. 4. Testículos. 5. Ultraestrutura (Biologia).  
6. Microscopia. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 595.754

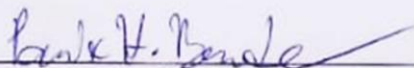
**PAULO HENRIQUE REZENDE**

**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E  
ESPERMATOZOIDES DE TRÊS ESPÉCIES DE PERCEVEJOS DA  
TRIBO ECCRITOTARSINI (HETEROPTERA: MIRIDAE)**

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

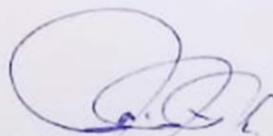
APROVADA: 29 de julho de 2019

ASSENTIMENTO:



---

Paulo Henrique Rezende  
Autor



---

José Lino Neto  
Orientador

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Universidade Federal de Viçosa e a PPG em Entomologia pela oportunidade, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o mestrado.

Aos funcionários do Núcleo de Microscopia e Microanálise, do Departamento de Biologia Geral e do Departamento de Entomologia, pelo excelente serviço prestado e pela disposição em sempre ajudar.

Ao prof. Dr. José Lino, pelos ensinamentos, paciência e principalmente por demonstrar tamanho entusiasmo e paixão pelo que faz, presando sempre pela excelência.

À minha coorientadora, Glenda Dias, pelos inúmeros conselhos, boa vontade, perseverança, espírito de união e por me socorrer quando as coisas estavam “além das minhas habilidades”.

Aos meus amigos de laboratório, Diego, Camila, Pedro, Hélio, Francisco, Shaiene, Mayara, Lídia, Cliver, Jamile, Matheus, Raissa, Fiaz, Paulo Eduardo, Virginia, Geisyane, Dodora, Luanda, Francelina, Amanda e Ana Paula pelo companheirismo, apoio nas horas difíceis e rir dos meus momentos dramáticos.

Ao Johan, Camila, Paola, Silvana, Javier, Viviana e demais amigos e colegas que tive o prazer de conviver durante meu mestrado.

À Janaina e Miller, pelos muitos anos de amizade e me acolherem nos meus primeiros meses em Viçosa.

Ao Edwin e Adelson, por me acolherem como família e sempre me apoiarem e me inspirarem a ser melhor.

Aos meus irmãos João Vitor, Viviana, Aline, Sabrina, aos meus pais, Norma e José, e aos meus sobrinhos, Julia e Luís Felipe pelos quais me mantive firme quando não poderia o fazer por mim mesmo.

## RESUMO

REZENDE, Paulo Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Morfologia do sistema reprodutor masculino e espermatozoides de três espécies de percevejos da tribo Eccritotarsini (Heteroptera: Miridae)**. Orientador: José Lino Neto.

Miridae é a maior e mais diversa família dentro de Heteroptera, com mais de 11.000 espécies. Contudo, há questões referentes à sistemática e filogenética que permanecem incertas para a família, com destaque para as tribos da subfamília Bryocorinae. A organização do sistema reprodutor e a ultraestrutura de espermatozoides apresentam um conjunto de caracteres exclusivos, comumente utilizados na sistemática de grupos animais, incluindo os insetos. Com o intuito de contribuir com mais caracteres que possam auxiliar na análise sistemática de Bryocorinae, descrevemos a morfologia do sistema reprodutor masculino e espermatozoides de três espécies Eccritotarsini (Miridae: Bryocorinae), *Pycnoderes incurvus*, *Sixeonotus brasiliensis* e *Bothrophorella nigra*. Para isso, seis machos foram dissecados e os sistemas reprodutores foram fotografados e medidos. Em seguida, o material foi processado para as microscopias de luz e eletrônica de transmissão (MET). O sistema reprodutor masculino dessas três espécies segue o padrão organizacional observado em outros Miridae, no entanto, elas exibiram apenas um folículo testicular, e em *B. nigra*, mostrou redução de um dos pares de glândulas acessórias laterais. Os espermatozoides apresentaram a região anterior da cabeça espiralada para as três espécies, característica ainda não registrada para Heteroptera. A ultraestrutura dos espermatozoides de *P. incurvus* se mostrou semelhante àquela observada em outros Miridae. O acrossomo exibiu formato de gota em corte transversal, contudo ele foi revestido por um material eletrondenso só observado em *P. incurvus* e *Collaria oleosa* (Mirinae: Miridae). A presença de um adjunto de centríolo longo e cilíndrico formando uma ponte entre o núcleo e os componentes flagelares, até o momento, é característico de Miridae. O flagelo com um axonema de 9+9+2 microtúbulos e dois derivados mitocondriais simétricos, com duas inclusões paracristalinas cada, abraçando e conectado ao axonema por duas pontes, têm sido consideradas características de Heteroptera, apoiando a monofilia da subordem.

Palavras-chave: Cimicomorpha. Bryocorinae. Sistemática. Testículos. Ultraestrutura. Microscopia.

## ABSTRACT

REZENDE, Paulo Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Morphology of the male reproductive system and spermatozoa of three plant bugs species of the tribe Eccritotarsini (Heteroptera: Miridae).** Advisor: José Lino Neto.

Miridae is the largest and most diverse family of Heteroptera, with over 11,000 species. However, there are questions regarding systematics and phylogenetics that remain uncertain for this family, especially for tribes of Bryocorinae subfamily. The reproductive system organization and sperm ultrastructure have a unique set of characters commonly used in the systematics of animal groups, including insects. In order to contribute more characters that may assist in the systematic analysis of Bryocorinae, we described the male reproductive system morphology and sperm of three species Eccritotarsini (Miridae: Bryocorinae), *Pycnoderes incurvus*, *Sixeonotus brasiliensis* and *Bothrophorella nigra*. For this, six males were dissected and the reproductive systems were photographed and measured. Then the material was processed for light and transmission electron microscopy (TEM). The male reproductive system of these three species followed the organizational pattern observed in other Miridae, however, they exhibited only one testicular follicle, and in *B. nigra* showed reduction of one pair of lateral accessory glands. The sperm presented the anterior head region spiral-like for the three species, a characteristic not yet registered for Heteroptera. The ultrastructure of *P. incurvus* sperm was similar to that observed in other Miridae. The acrosome exhibited a cross-sectional droplet shape, however it was coated with an electron-dense material only observed in *P. incurvus* and *Collaria oleosa* (Mirinae: Miridae). The presence of a long, cylindrical centriole adjunct forming a bridge between the nucleus and the flagellar components is so far characteristic of Miridae. The flagella with an axoneme of 9 + 9 + 2 microtubules and two symmetrical mitochondrial derivatives, with two paracrystalline inclusions each, embracing and connected to the axoneme by two bridges, have been considered Heteroptera characteristics, supporting the suborder as monophyletic.

Keywords: Cimicomorpha. Bryocorinae. Systematic Testicles. Ultrastructure. Microscopy.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
1.1 Ordem Hemiptera .....	7
1.2 Subordem Heteroptera .....	7
1.3 Miridae (Cimicomorpha) .....	7
1.4 <i>Pycnoderes incurvus</i> (Distant, 1884).....	8
1.5 <i>Sixeonotus brasiliensis</i> (Carvalho e Gomes, 1971) .....	8
1.6 <i>Bothrophorella nigra</i> (Stål, 1860) .....	9
1.7 Sistema reprodutor masculino em Heteroptera.....	9
1.8 O estudo dos espermatozoides em insetos .....	10
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
2.1 Amostras .....	12
2.2 Morfometria dos espermatozoides .....	12
2.3 Anatomia e histologia do Sistema Reprodutor Masculino (SRM) .....	12
2.4 Ultraestrutura dos espermatozoides de <i>Pycnoderes incurvus</i> .....	13
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>14</b>
3.1 Anatomia do Sistema Reprodutor Masculino .....	14
3.1.1 <i>Pycnoderes incurvus</i> .....	14
3.1.2 <i>Sixeonotus brasiliensis</i> .....	14
3.1.3 <i>Bothrophorella nigra</i> .....	15
3.2 Histologia do sistema reprodutor de <i>Pycnoderes incurvus</i> .....	18
3.3 Morfometria dos espermatozoides .....	20
3.4 Ultraestrutura dos espermatozoides de <i>Pycnoderes incurvus</i> .....	21
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>30</b>

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 Ordem Hemiptera**

Hemiptera é a maior ordem entre os insetos hemimetábolos e a quinta maior entre os insetos em geral. Ela abrange cerca de 89 mil espécies identificadas, divididas em quatro subordens: Sternorrhyncha com 16 mil, Auchenorrhyncha com 35 mil, Heteroptera com 38 mil, Coleorrhyncha com cerca de 30 espécies, com a última ausente no Brasil (Schaefer e Panizzi, 2000; Rafael et al., 2012).

### **1.2 Subordem Heteroptera**

Os Heteroptera (comumente chamados percevejos) constituem um grupo cosmopolita, bastante diversificados em zonas tropicais (Panizzi e Grazia, 2015), e distribuídos nas sete infraordens: Enicocephalomorpha, Dipsocoromorpha, Leptopodomorpha, Pentatomomorpha, Cimicomorpha (terrestres), Gerromorpha e Nepomorpha (espécies aquáticas e semiaquáticas) (Štys e Kerzhner, 1975; Rafael et al., 2012; Panizzi e Grazia, 2015). Os percevejos são caracterizados por partes bucais alongadas, projetadas para perfurarem outros organismos (planta ou animal) e sugarem seus fluidos (Schaefer e Panizzi, 2000). A estrutura corporal mais compacta e o sistema nervoso propiciam maior agilidade de resposta e complexidade comportamental, o que favoreceu seu sucesso evolutivo e ampla distribuição (Gillott, 2005; Rafael et al., 2012).

A importância econômica do grupo é resultado do dano causado as culturas agrícolas e doenças transmitidas ao ser humano e animais domésticos, como por exemplo, os triatomíneos vetores do patógeno causador da doença de Chagas. Além disso, por aproximadamente 40% das espécies serem predadoras, são potenciais agentes no controle biológico de insetos pragas (Schaefer e Panizzi, 2000; Rafael et al., 2012).

### **1.3 Miridae (Cimicomorpha)**

A infraordem Cimicomorpha compreende mais de 20 mil espécies distribuídas atualmente em 17 famílias (Weirauch e Schuh, 2011). Seus representantes são encontrados nos diversos habitats e exibem os mais variados hábitos alimentares, como zoofagia e hematofagia

em Reduviidae, ectoparasitismo em Polyctenidae e Cimicidae, e, preferencialmente fitofagia em Miroidea (Schuh e Slater, 1995; Schuh et al., 2008).

Os Miridae constituem a maior e mais diversa família dentro da subordem Heteroptera. Eles estão distribuídos em cerca de 1.300 gêneros com mais de 11.000 espécies descritas, das quais mais de 3 mil na região neotropical (Wheeler, 2000; Panizzi e Grazia, 2015). Os mirídeos apresentam maior plasticidade trófica do que os Auchenorrhyncha, Sternorrhyncha e outros heterópteros, com hábitos alimentares de zoofagia, fitofagia ou polifagia (Wheeler, 2000; Jung e Lee, 2012). Muitas espécies são importantes pragas agrícolas, apesar de algumas serem predadoras e terem potencial para programas de controle biológico (Panizzi e Grazia, 2015).

#### **1.4 *Pycnoderes incurvus***

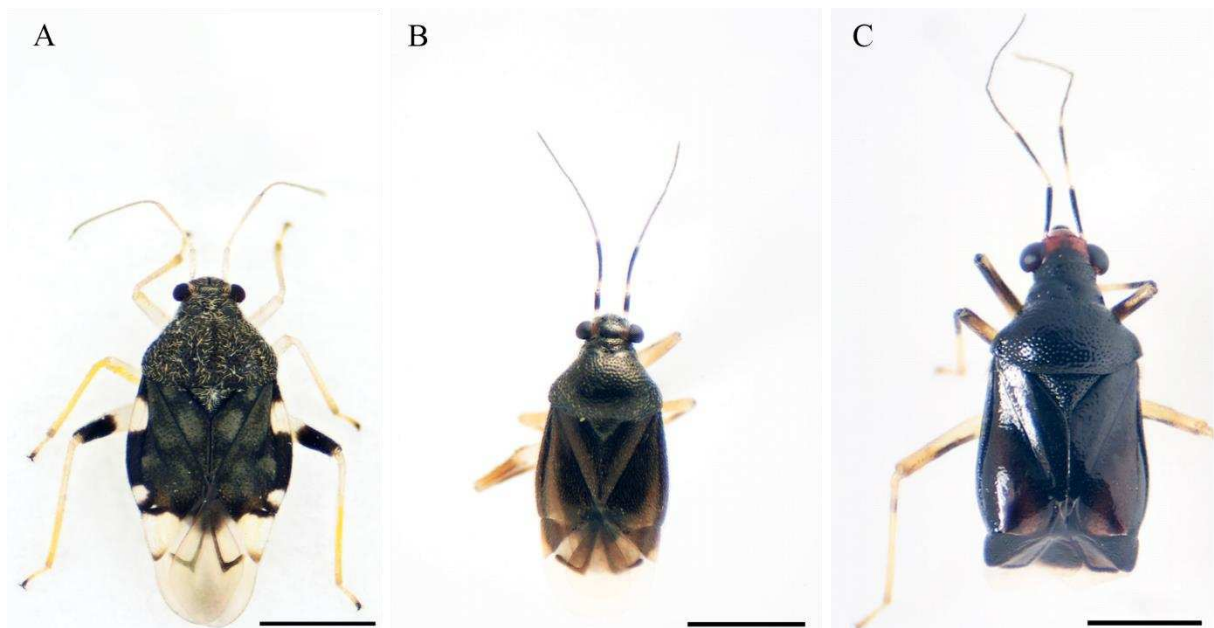
*Pycnoderes incurvus* (Distant, 1884) pertencente à tribo Ecritotarsini (subfamília Bryocorinae), possui comprimento entre 3,3 e 3,9 mm, geralmente de cor preta, manchas sub-basais e subapicais grandes e pálidas, o fêmur posterior de cor preta apicalmente, antena pálida e cuneus hialinos (Ferreira e Henry, 2011) (Fig. 1A). Tem hábito fitófago se alimentando de Cucurbitaceae, como chuchu (*Sechium edule*) e abobrinha (*Cucurbita pepo*) (Ferreira et al., 2001). Essa espécie é encontrada no continente americano em Granada, Guatemala, México, Venezuela (Carvalho, 1957), Colômbia, Equador (Carvalho e Afonso, 1977) e Brasil (Ferreira et al., 2006).

#### **1.5 *Sixeonotus brasiliensis***

*Sixeonotus brasiliensis* (Carvalho e Gomes, 1971), da mesma tribo e subfamília da espécie acima, mede entre 2,0 e 2,6 mm (Fig. 1B). O corpo é de cor preta brilhante, a margem interna dos olhos, a base dos segmentos I, II, III da antena, pernas e rostrum são de cor amarela pálida e os hemiélitros de marrom escuro. Se alimentam de batata doce (*Ipomea batatas*), e a espécie já foi registrada no Brasil (Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Santa Catarina) e na Venezuela (Carvalho e Gomes, 1971).

### 1.6 *Bothrophorella nigra*

*Bothrophorella nigra* (Stål, 1860), da mesma tribo e subfamília das duas espécies acima, mede entre 3,2 e 4,2 mm e geralmente tem cor preta brilhante (Fig. 1C). A cabeça apresenta cor laranja-marrom. Os segmentos I e o ápice do segmento II das antenas são de cor preta. Pernas esbranquiçadas e com uma faixa no fuscous basal ou sub-basal. Não possuem hospedeiros conhecidos e ocorre no Brasil, Colômbia, Costa Rica, Guatemala, Honduras, México e Panamá (Carvalho, 1957) e Suriname (Carvalho e Rosas, 1965; Ferreira et al., 2006). O primeiro registro para essa espécie foi no estado de Minas Gerais, Brasil (Ferreira e Henry, 2011).



**Figura 1.** Exemplares de três espécies da tribo Eccritotarsini (Miridae: Bryocorinae). A- *Pycnoderes incurvus* (Distant, 1884); B- *Sixeonotus brasiliensis* (Carvalho e Gomes, 1971); C- *Bothrophorella nigra* (Stål, 1860). Barra: 1 mm.

### 1.7 Sistema reprodutor masculino em Heteroptera

Em geral, o sistema reprodutor em Heteroptera consiste de um par de testículos ligados a um par de ductos deferentes, ao qual se associam dois pares de glândulas acessórias, e um ducto ejaculatório comum. Nos Heteroptera, geralmente, o número de folículos por testículo é sete, entretanto pode variar de um a oito (Gonçalves et al., 1987; Mróz e Wojciechowski, 2011; Gomes et al., 2013).

Nos casos em que as características externas não conseguem mostrar diferenças taxonômicas, a partir da análise e descrição estrutural de órgãos internos é possível obter informações adicionais que, em geral, permitem resolver tais questões (Mróz e Wojciechowski,

2011). Como o sistema reprodutor apresenta características consistentes no decorrer da evolução, a partir dele tem sido possível, em grande medida, identificar relações taxonômicas entre clados (Mróz e Wojciechowski, 2011).

### **1.8 O estudo dos espermatozoides em insetos**

Os espermatozoides são células altamente especializadas e muito diversificadas entre os insetos, podendo variar em tamanho, formato, número de estruturas e organização ultraestrutural (Phillips, 1970; Jamieson et al., 1999). Tem sido observado que nos Heteroptera, como na maioria dos outros animais, os espermatozoides exibem características morfológicas exclusivas da subordem e também características morfométricas e ultraestruturais típicas de uma dada espécie (Dallai e Afzelius, 1980).

Os espermatozoides dos Heteroptera já estudados apresentaram uma cabeça, formada pelo acrossomo e núcleo, e um flagelo formado apenas por um longo axonema circundado parcialmente por dois derivados mitocondriais simétricos que são ancorados aos microtúbulos do axonema por duas pontes. Na transição cabeça-flagelo, tem sido observado uma estrutura denominada adjunto de centríolo, que mantém a ligação do núcleo com os elementos flagelares (Dallai e Afzelius, 1980; Araújo et al., 2011; Santos e Lino-Neto, 2018). Ainda, duas ou três inclusões paracristalinas, observadas em cada derivado mitocondrial, além da ausência de corpos acessórios, têm sido consideradas sinapomorfias para Heteroptera (Dallai e Afzelius, 1982; Dolder, 1988; Jamieson et al., 1999).

O número de microtúbulos que formam o axonema pode variar entre as subordens de Hemiptera, mas em todos os Heteroptera já analisados esse número tem sido igual a 20, organizados da seguinte forma: nove microtúbulos simples (túbulos acessórios) mais externos, seguidos por nove duplas e um par central, organização essa dita  $9 + 9 + 2$  (Dallai e Afzelius, 1980; Jamieson et al., 1999). Todos esses caracteres podem ser apomorfias ou traços compartilhados, sinapomorfias, que indicam relações próximas entre os taxa (Dallai, 1993). Tais caracteres, podem ser combinados com dados moleculares e de morfologia externa para uma maior compreensão das relações filogenéticas dentro da família, bem como da infraordem Cimicomorpha ou até mesmo da subordem Heteroptera.

A monofilia da subfamília Bryocorinae é apoiada por nove caracteres morfológicos (Konstantinov, 2015), mas não por análises de DNA nuclear e mitocondrial, sendo dividida em dois grupos, Dicyphini e Bryocorini (Jung, 2012). Nesse sentido, descrevemos a morfologia do

sistema reprodutor masculino e espermatozoides de *P. incurvus*, *S. brasiliensis* e *B. nigra*, e a histologia do sistema reprodutor e ultraestrutura dos espermatozoides de *P. incurvus*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Amostras

Os indivíduos de *P. incurvus* foram coletados em plantas de chuchu (*Sechium edule*) e os de *S. brasiliensis* e *B. nigra* em pés de batata-doce (*Ipomea batatas*), no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. Os machos adultos tiveram seus sistemas reprodutores dissecados e processados para as técnicas de microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão.

### 2.2 Morfometria dos espermatozoides

Espermatozoides, extraídos das vesículas seminais de pelos menos quatro indivíduos de cada espécie, foram espalhados sobre lâminas histológicas em presença de tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,2 e fixadas com paraformaldeído a 4% por 15-20 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente e, por último, em água destilada e secas à temperatura ambiente. Para medir o tamanho total dos espermatozoides, parte das preparações foram coradas com Giemsa por 15 min e, em seguida, lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente. As análises e fotodocumentação dos espermatozoides foram feitas em um fotomicroscópio Olympus BX-60. Para medir o comprimento dos núcleos, algumas preparações foram coradas com DAPI (4,6-diamino-2-phenylindole a 0,2 µg/ml em tampão PBS) por 20 minutos e, em seguida, lavadas em água corrente, secas à temperatura ambiente e montadas com sacarose a 50%. Estas lâminas foram examinadas em microscópio Olympus, BX-60 com epifluorescência e equipado com filtro BP360-370 nm. Todas as medidas foram feitas utilizando o programa de análise de imagem *Image-J* (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>).

### 2.3 Anatomia e histologia do sistema reprodutor masculino (SRM)

Para descrever e esquematizar a anatomia, os SRMs de, pelo menos, cinco indivíduos sexualmente maduros de cada uma das três espécies foram dissecados em tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,2, e fixados por 2-4 h em solução de glutaraldeído a 2,5% nesse mesmo tampão. Em seguida, eles foram transferidos para tampão puro e fotografados usando um estereomicroscópio Zeiss Stemi 2000-C ou um microscópio Olympus CX31, ambos com uma câmera digital Nikon D200 acoplada.

Para a histologia, os cinco SRMs de *P. incurvus*, já fixados e lavados no tampão fosfato, foram pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 1%, por 2 h, desidratados em uma série crescente de etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), infiltrados e incluídos em historesina (Leica Historesin). Cortes semifinos (0,5 µm de espessura) foram feitos em micrótomo automático Leica RM 2255 com navalhas de vidro, montados em lâminas histológicas, corados com Giemsa (Merk) e fotografados usando um microscópio Olympus BX60 com uma câmera digital Q-Color3 acoplada.

#### **2.4 Ultraestrutura dos espermatozoides de *Pycnoderes incurvus***

Para descrição ultraestrutural dos espermatozoides de *P. incurvus*, vesículas seminais de machos adultos foram dissecadas em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,2, e fixadas por 5 dias em solução de glutaraldeído a 2,5% contendo 1% de ácido tânico. Em seguida, o material foi lavado com o mesmo tampão, pós-fixado em uranila aquosa a 1%, por 1 h, desidratado em série crescente de acetona, infiltrado e incluído em resina Epoxi (Epon 812). Os cortes ultrafinos (~ 60 nm de espessura) foram feitos em ultramicrótomo automático RMC Products Power Tome-X, com navalha de diamante, coletados em telas de cobre e contrastados com acetato de uranila a 3% e citrato de chumbo a 2%. As análises e os registros fotográficos foram feitos em um microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM 109, do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV, Viçosa, Minas Gerais.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Anatomia do Sistema Reprodutor Masculino

##### 3.1.1 *Pycnoderes incurvus*

O sistema reprodutor masculino (SRM) de *P. incurvus*, localizado na altura do terceiro segmento abdominal, consiste de dois testículos conectados ao ducto ejaculatório por um par de ductos deferentes, e dois pares de glândulas acessórias (Fig. 2A-B). Cada testículo é formado por apenas um folículo de formato elipsoide e revestido por uma cápsula com pigmento esverdeado. Um ducto deferente, inicialmente estreito, parte da base de cada testículo, mas logo se expande formando a vesícula seminal onde os espermatozoides ficam armazenados até a copula. A extremidade final é também estreita e desemboca isoladamente no ducto ejaculatório (Fig. 2A-B). Os dois pares de glândulas acessórias laterais desembocam no ducto ejaculatório, juntamente com os ductos deferentes. Histologicamente, pode-se dizer que elas são simples, pois possuem epitélio formado por uma única camada de células mononucleadas, e um lúmen com secreção heterógena (Fig. 3D-K). As glândulas acessórias internas medem cerca de 1,7 mm de comprimento, alcançando a altura dos testículos (Tabela 1). Elas possuem uma porção ascendente mais grossa e de conteúdo esbranquiçado e uma porção descendente bastante delgada e translúcida, que se curva para cima abraçando distalmente a porção mais estreita do ducto deferente próximo à saída do testículo (Fig. 2A). As glândulas acessórias externas medem aproximadamente de 2,6 mm de comprimento, e a porção ascendente também atinge a base dos folículos. Ela pode ser subdivida em três partes, a primeira menor, mais próxima ao ducto ejaculatório, arredondada e de conteúdo esbranquiçado; a segunda, de conteúdo translúcido, é espessa e alongada, formando a curva entre a porção ascendente e a descendente (Fig. B); a terceira porção (descendente) é também translúcida, inicialmente estreita, e se expandindo gradualmente até a extremidade final curva.

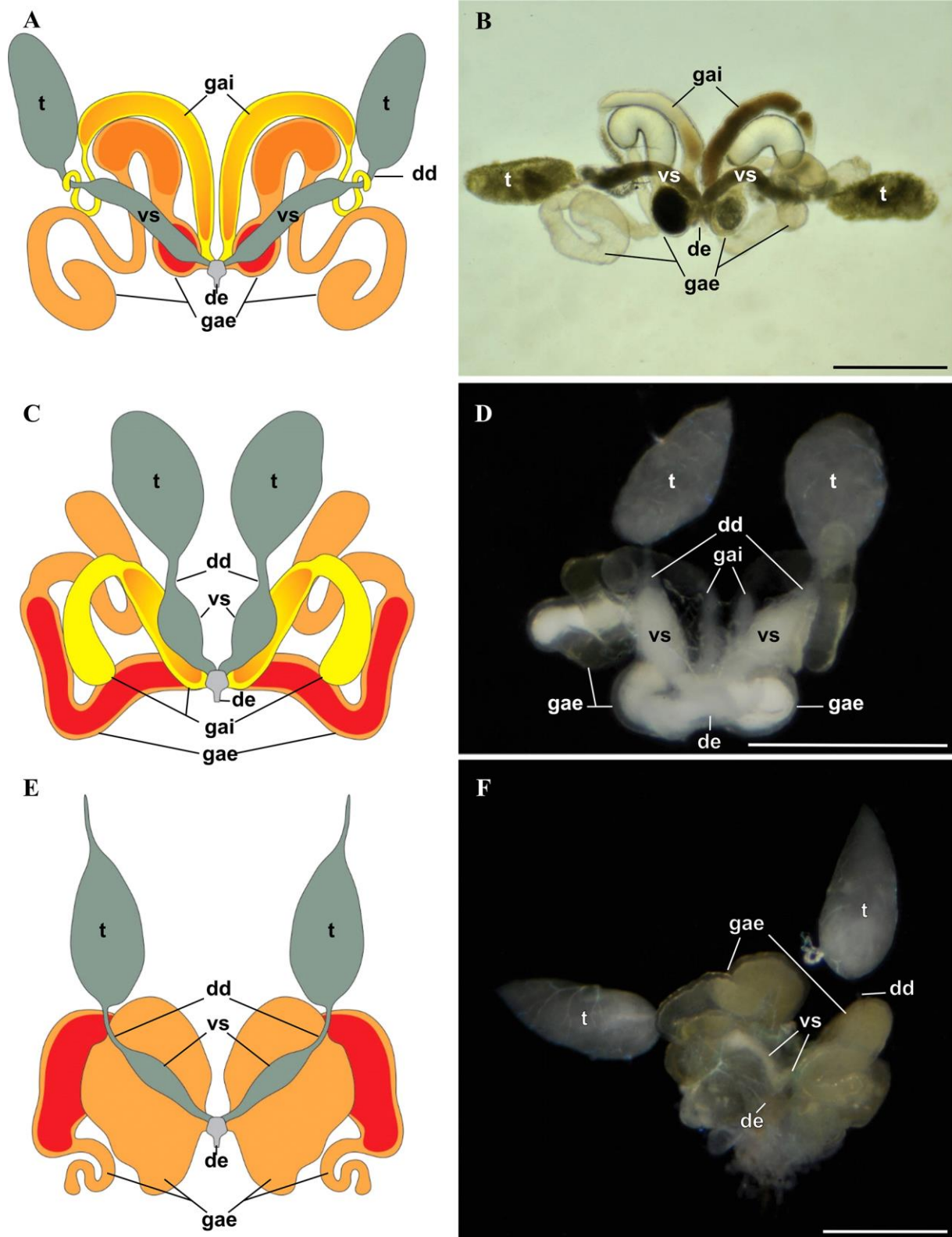
##### 3.1.2 *Sixeonotus brasiliensis*

Nesta espécie o sistema reprodutor é similar ao de *P. incurvus*, com os testículos ovais, esbranquiçados e possuindo um único folículo (Fig. 2C-D). Os ductos deferentes, que saem dos respectivos testículos, são mais curtos do que aqueles da espécie anterior e também começam

com uma pequena porção estreita, mais logo se alargam tornando-se arredondado-fusiformes, constituindo as vesículas seminais, finalmente eles voltam a se estreitar desembocando no ducto ejaculatório. As glândulas acessórias internas medem cerca de 0,7 mm de comprimento e é possível distinguir facilmente duas porções: a proximal, em relação ao ducto ejaculatório, é ascendente, uniformemente mais espessa, de conteúdo esbranquiçado e alcançam a base dos testículos; a segunda porção, que é descendente, iniciando com uma leve constrição, que imediatamente aumenta de diâmetro chegando à sua maior espessura na porção distal (Fig. 2C). As glândulas acessórias externas têm cerca de 1,1 mm de comprimento e também exibem duas porções de aproximadamente mesmo comprimento (Tabela 1). A porção proximal é ascendente, tem diâmetro mais uniforme e conteúdo esbranquiçado; a segunda é descendente, de forma sinuosa, translúcida, começa em uma leve constrição e vai alargando gradualmente até a extremidade distal.

### 3.1.3 *Bothrophorella nigra*

Em *B. nigra*, os testículos são ovais-fusiformes, esbranquiçados e também apresentam apenas um folículo cada e um prolongamento filamentosso no ápice (Fig. 2E-F). Os ductos deferentes são alongados e estreitos, semelhantes aqueles de *P. incurvus*, se alargando em uma porção alongada-fusiforme em que os espermatozoides ficam armazenados (vesículas seminais), finalmente eles tornam-se estreitos, desembocando no ducto ejaculatório (Fig. 2E-F). Diferentemente das duas espécies anteriores, no SRM de *B. nigra* foi observado apenas um par de glândulas acessórias. Apesar de uma morfologia peculiar, o par parece corresponder às glândulas acessórias externas. Elas mediram aproximadamente 2,2 mm de comprimento (Tabela 1), com a porção ascendente (aquela associada ao ducto ejaculatório) bastante volumosa e de forma irregularmente oval. A maior parte da porção descendente é uniformemente mais calibrosa e de conteúdo opaco, em seguida se afila abruptamente formando uma pequena porção final delgada, translúcida e em forma de “S”.



**Figura 2.** Sistema reprodutor masculino (SRM) de três espécies de Ecritotarsini. A e B- SRM de *P. incurvus* exibindo um par de testículos (t), ductos deferentes (dd), vesículas seminais (vs), glândulas acessórias internas (gai) e externas (gae) e ducto ejaculatório (de); C e D- SRM de *S. brasiliensis*. E e F *B. nigra*. Em A, C e E, desenhos esquemáticos do SRM feitos a partir das imagens B, D e F, respectivamente. Cores diferentes nas glândulas indicam conteúdos distintos entre as porções. Barra: 0,5 mm.

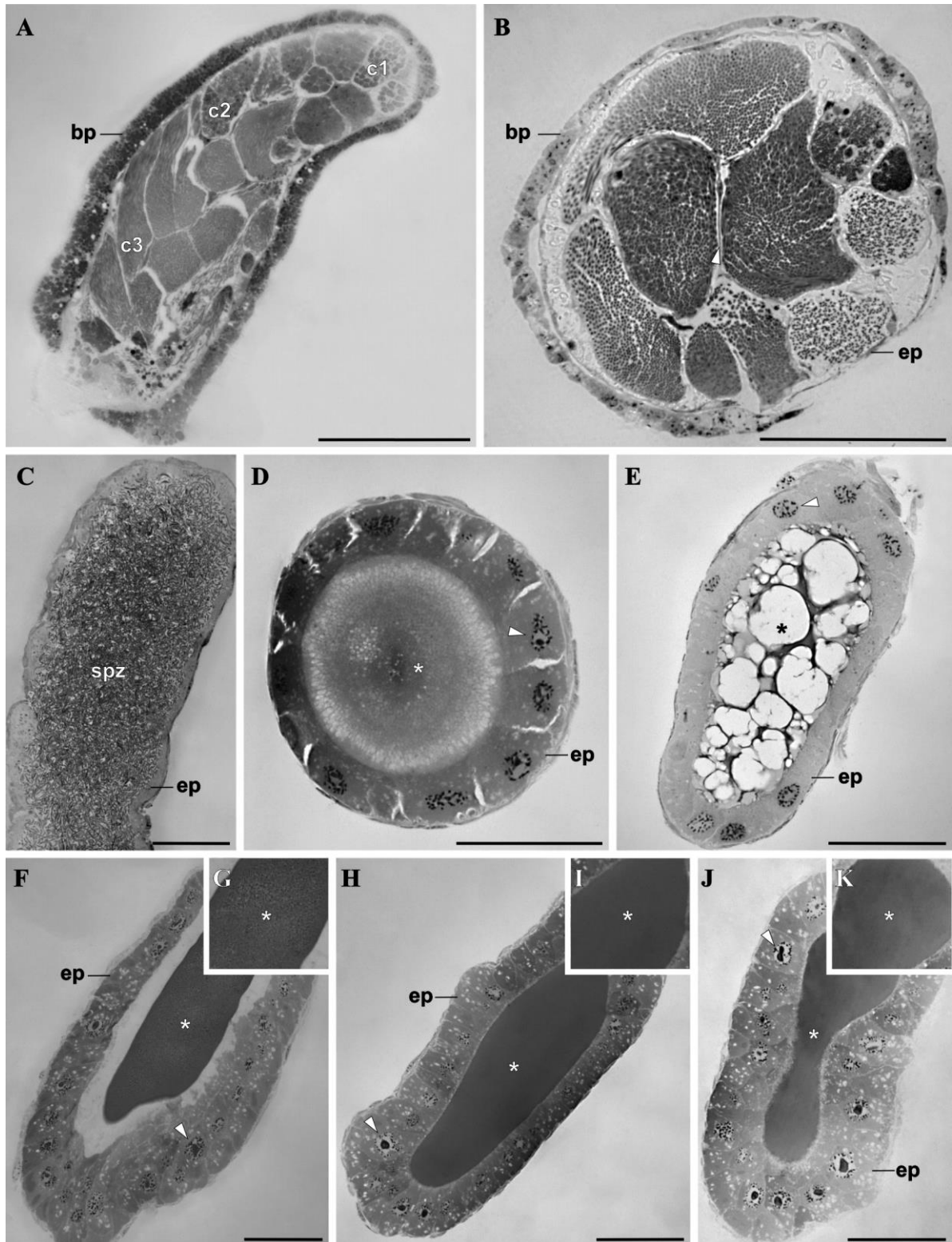
Tabela 1. Medidas das estruturas do sistema reprodutor masculino de três espécies de percevejos pertencentes à tribo Eccritotarsini: Miridae

		<i>Pycnoderes incurvus</i>	<i>Sixeonotus brasiliensis</i>	<i>Bothrophorella nigra</i>
<b>Testículos</b>	<b>Comprimento dos testículos</b>	~ 0,49 mm	~ 0,44 mm	~ 0,72 mm
	<b>Largura dos testículos</b>	~ 0,21 mm	~ 0,21 mm	~ 0,28 mm
<b>Ducto Deferente</b>	<b>Comprimento do Ducto Deferente</b>	~ 0,63 mm	~ 0,35 mm	~ 0,56 mm
	<b>Diâmetro do Ducto Deferente</b>	~ 0,03 mm	~ 0,03 mm	~ 0,04 mm
	<b>Comprimento da Vesícula Seminal</b>	~ 0,55 mm	~ 0,25 mm	~ 0,32 mm
	<b>Diâmetro da Vesícula Seminal</b>	~ 0,07 mm	~ 0,09 mm	~ 0,11 mm
	<b>Comprimento Total</b>	~ 1,67 mm	~ 0,66 mm	-
<b>Glândulas Acessórias Internas</b>	<b>Comprimento da Porção Ascendente</b>	~ 0,93 mm	~ 0,33 mm	-
	<b>Diâmetro da porção Ascendente</b>	~ 0,09 mm	~ 0,07 mm	-
	<b>Comprimento da Porção Descendente</b>	~ 0,74 mm	~ 0,33 mm	-
	<b>Diâmetro da porção Descendente</b>	~ 0,05 mm	~ 0,09 mm	-
	<b>Comprimento Total</b>	~ 2,59 mm	~ 1,13 mm	~ 2,16 mm
<b>Glândulas Acessórias Externas</b>	<b>Comprimento da Porção Ascendente</b>	~ 0,94 mm	~ 0,58 mm	~ 0,76 mm
	<b>Diâmetro da porção Ascendente</b>	~ 0,15 mm	~ 0,11 mm	~ 0,49 mm
	<b>Comprimento da Porção Descendente</b>	~ 1,67 mm	~ 0,55 mm	~ 1,41 mm
	<b>Diâmetro da porção Descendente Proximal</b>	~ 0,06 mm	~ 0,06 mm	~ 0,25 mm
	<b>Diâmetro da porção Descendente Distal</b>	~ 0,11 mm	~ 0,09 mm	~ 0,13 mm

### 3.2 Histologia do sistema reprodutor de *Pycnoderes incurvus*

Cada testículo de *P. incurvus*, contendo apenas um folículo, é circundado por uma membrana peritoneal e preenchido por cistos separados por septos (Fig. 3A-B). Cistos com células germinativas nas diferentes fases da espermatogênese foram observados, indicando produção contínua de espermatozoides. Da região apical à basal esses cistos estavam gradualmente organizados ao longo do folículo; de modo que os cistos com espermatogônias e espermatócitos foram observados na região apical, aqueles com espermátides nas diferentes fases da espermiogênese ocuparam a longa região mediana e aqueles com espermatozoides, a região basal folicular (Fig. 3A). Foram contabilizados de 780 a 1000 espermátides por cisto, indicando que, de espermatogônia a espermatozoides, ocorrem até 10 ciclos de divisões celulares por cisto (Fig. 3B). Ao longo dos folículos, a partir do ápice, as células germinativas dentro dos cistos se diferenciam, maturam e reduzem drasticamente de volume citoplasmático, transformando-se nos espermatozoides. Na base dos folículos, os cistos se rompem e os espermatozoides individualizados são transferidos e armazenados nas vesículas seminais até a cópula. As vesículas seminais são formadas por apenas uma camada de células epiteliais e, indivíduos sexualmente maduros, são dilatadas e o lúmen é preenchido por espermatozoides individualizados, isto é, não em feixes (Fig. 3C).

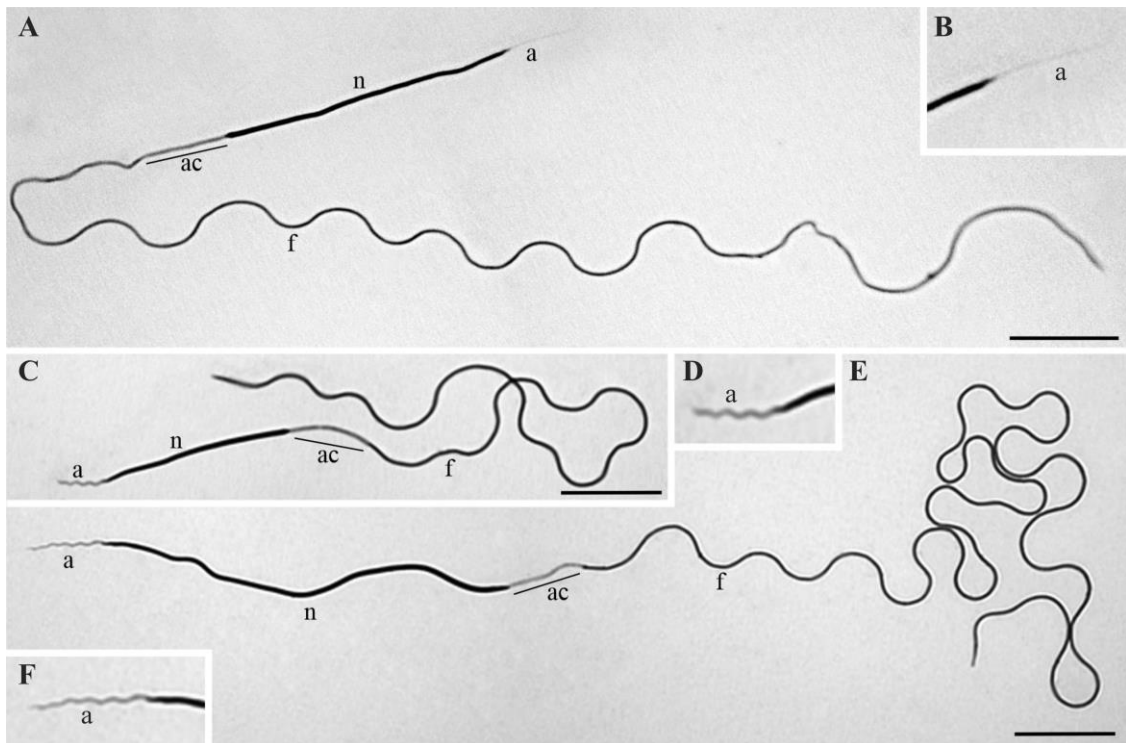
As glândulas acessórias internas são constituídas por tecido epitelial simples cúbico, com as células apresentando núcleo com nucléolo evidente e cromatina descondensada e, no citoplasma, a presença de vesículas secretoras. No lúmen da porção ascendente, o conteúdo estava organizado de maneira heterogênea com vesículas maiores na periferia e diminuindo rumo ao centro, provavelmente de natureza lipídica, sendo que o conteúdo das vesículas não foi marcado com a coloração de Giemsa (Fig. 3D). Na porção descendente, as vesículas são maiores do que na porção ascendente e sem diferença entre a periferia e o centro do lúmen (Fig. 3E). As glândulas acessórias externas também apresentaram o epitélio com uma camada de células cúbicas, contudo, tendendo ao formato prismático nas regiões mais posteriores da glândulas (Fig. 3F, H e J). O núcleo das células epiteliais mostrou nucléolo evidente e cromatina descondensada, e no citoplasma foi observada a presença de muitas vesículas (Fig. 3F, H e K). No lúmen da região proximal da porção ascendente a secreção era de aspecto homogêneo e granuloso (Fig. 3G). Já na região distal e na porção descendente (Fig. 3I e K) o conteúdo se mostrou de aspecto liso e homogêneo.



**Figura 3.** Histologia do SRM de *Pycnoderes incurvus*. A- Testículo em corte longitudinal exibindo cistos em diferentes estágios da espermatogênese (c1, c2 e c3). B- Testículo em corte transversal revestido por bainha peritoneal (bp) e epitélio (ep), e cistos delimitados por septos (cabeça de seta). C- Vesícula seminal em corte longitudinal preenchida por espermatozoides (spz). D e E- Glândulas acessórias internas, mostrando o epitélio (ep) cúbico simples, núcleo com cromatina descompactada (cabeça de seta), em sua porção ascendente e descendente, respectivamente. F- Glândula acessória externa na sua porção ascendente proximal ao ducto ejaculatório, com ep. cúbico simples. H e J- Glândula acessória externa com ep. prismático, em porção ascendente distal e descendente, respectivamente. G, I e K- Detalhe da secreção presente no lúmen. Barra: A= 200 um; B= 100 um; C-H= 50 um.

### 3.3 Morfometria dos espermatozoides

Os espermatozoides das três espécies aqui estudadas se mostraram longos e filiformes. Quando corados com Giemsa foi possível distinguir facilmente as quatro diferentes regiões que o compõem, que são elas: acrossomo e núcleo, que forma a cabeça, na sequência o adjunto do centríolo e finalmente o flagelo (Fig. 4). Em *P. incurvus* os comprimentos dessas diferentes regiões foram 6,7  $\mu\text{m}$ , 26,3  $\mu\text{m}$ , 8,3  $\mu\text{m}$  e 133,4  $\mu\text{m}$ , respectivamente, resultando em um comprimento total de 175  $\mu\text{m}$  (Fig. 4A). Em *S. brasiliensis* os comprimentos foram 5,3  $\mu\text{m}$ , 19,9  $\mu\text{m}$ , 7,7  $\mu\text{m}$  e 102,1  $\mu\text{m}$ , resultando em um comprimento total de 135  $\mu\text{m}$  (Fig. 4C). Já em *B. nigra* os comprimentos foram 8,4  $\mu\text{m}$ , 45,6  $\mu\text{m}$ , 9,3  $\mu\text{m}$  e 218,3  $\mu\text{m}$ , portanto o comprimento total foi de 282  $\mu\text{m}$ , sendo os espermatozoides mais longos das três espécies (Fig. 4E), já os mais curtos são aqueles de *S. brasiliensis* (Tabela 2). A parte anterior da cabeça dos espermatozoides (acrossomo e a ponta do núcleo) se mostrou espiralada nas três espécies (Fig. 4B, D e F). Posteriormente, o núcleo termina em uma porção curta e afilada inserida na extremidade anterior do adjunto de centríolo, o qual atua como uma ponte conectando o núcleo aos componentes do flagelo.



**Figura 4.** Espermatozoides de três espécies da tribo Ecritotarsini. A- Espermatozoide de *Pycnoderes incurvus* formado pela região da cabeça (acrossomo (a) e núcleo (n)), adjunto de centríolo (ac) e flagelo (f); C- *Sixeonotus brasiliensis*; E- *Bothrophorella nigra*; B, D e F- Detalhe da região anterior dos espermatozoides em A, C e E, respectivamente. Barra: 10  $\mu\text{m}$ .

Tabela 2. Medidas dos espermatozoides de três espécies de percevejos pertencentes à tribo Eccritotarsini: Miridae

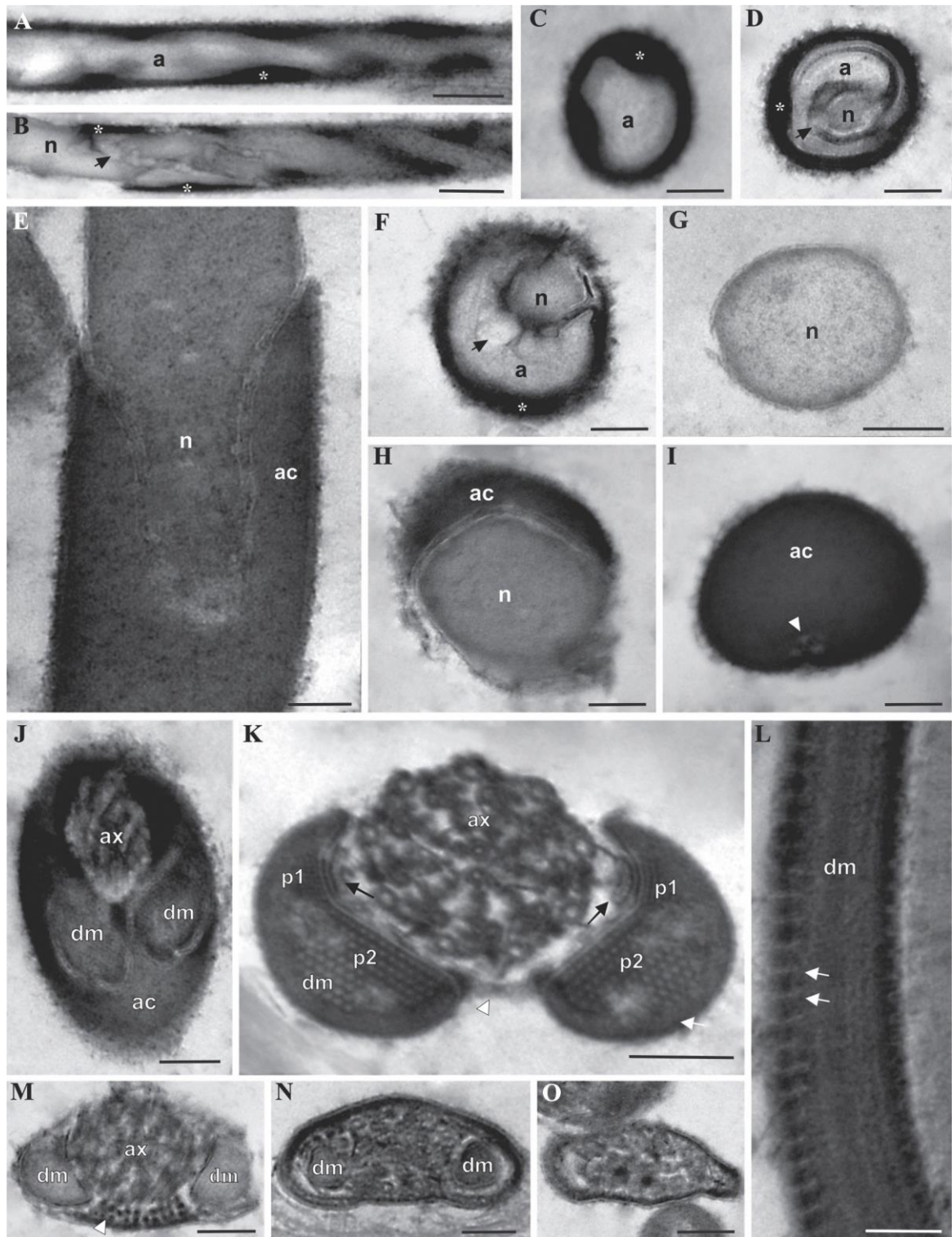
	<i>Pycnoderes incurvus</i>	<i>Sixeonotus brasiliensis</i>	<i>Bothrophorella nigra</i>
<b>Comprimento Total</b>	174 $\mu\text{m} \pm 16,9$	135 $\mu\text{m} \pm 4,4$	282 $\mu\text{m} \pm 9,4$
<b>Acrossomo</b>	6,7 $\mu\text{m} \pm 0,6$	5,3 $\mu\text{m} \pm 0,6$	8,4 $\mu\text{m} \pm 0,6$
<b>Transição Acrossomo/Núcleo</b>	1,2 $\mu\text{m} \pm 0,2$	1,2 $\mu\text{m} \pm 0,2$	1,4 $\mu\text{m} \pm 0,3$
<b>Núcleo</b>	26,3 $\mu\text{m} \pm 2,4$	19,9 $\mu\text{m} \pm 1,7$	45,6 $\mu\text{m} \pm 4,2$
<b>Diâmetro do Núcleo</b>	0,5 $\mu\text{m} \pm 0,1$	1,0 $\mu\text{m} \pm 0,2$	1,6 $\mu\text{m} \pm 0,2$
<b>Transição Núcleo/Adjunto de Centríolo</b>	0,5 $\mu\text{m} \pm 0,1$	0,6 $\mu\text{m} \pm 0,1$	1,4 $\mu\text{m} \pm 0,1$
<b>Adjunto de Centríolo</b>	8,3 $\mu\text{m} \pm 1,2$	7,7 $\mu\text{m} \pm 0,8$	9,3 $\mu\text{m} \pm 1,1$
<b>Flagelo</b>	133,3 $\mu\text{m} \pm 11,1$	102,1 $\mu\text{m} \pm 3,3$	218,3 $\mu\text{m} \pm 11,6$

### 3.4 Ultraestrutura dos espermatozoides de *Pycnoderes incurvus*

Em *P. incurvus*, o acrossomo mostrou-se espiralado (Fig. 5A-B, D), confirmando o que foi observado à microscopia de luz (ML) (Fig. 4), e exibiu o formato de gota em corte transversal (Fig. 5C). A parte posterior (base) do acrossomo se apoia lateralmente à (e envolve) ponta anterior do núcleo por aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  (Fig. 5B) e em corte transversal desta região a vesícula acrossomal exibiu o formato de “meia-lua” envolvendo o núcleo (Fig. 5D e F). Entre o núcleo e vesícula acrossomal foram observados pontos de material eletrólucido (Fig. 5B, D, F-G) e, o acrossomo foi revestido por uma camada de material eletrodensa presente ao longo do acrossomo, que se estendeu até o fim da transição com o núcleo e terminando de forma assimétrica (Fig. 5B-D e F).

O núcleo apresentou forma circular em corte transversal e de cromatina compacta e homogênea (Fig. 5G). Como notado à ML, ele termina posteriormente em uma porção afilada e curta que se insere assimetricamente à extremidade anterior do adjunto de centríolo (Fig. 5E, H). Este é uma estrutura cilíndrica, eletrodensa e quase completamente compacta, com apenas uma pequena região eletrólucida com formato que lembra o trevo de três folhas (Fig. 5I). Como não foi observada qualquer estrutura ao longo de toda a região mediana do adjunto de centríolo, pode-se afirmar que essa estrutura forma literalmente uma ponte que liga o núcleo aos componentes do flagelo. Pois sua extremidade anterior circunda a base afilada do núcleo, como dita acima, e a extremidade posterior circunda a ponta inicial do axonema (corpo basal ou centríolo) e dos dois derivados mitocondriais (Fig. 5J).

No flagelo, os dois derivados mitocondriais são simétricos, têm formato de meia-lua e ambos começam no mesmo nível e inseridos na base do adjunto de centríolo (Fig. 5J). Ao longo do flagelo, eles abraçam aproximadamente dois terços do axonema e se conectam a este por duas pontes (Fig. 5K). Em cada derivado, há duas inclusões paracristalinas, uma maior que ocupa cerca de metade da área e a outra menor próxima à extremidade mais afilada quando observados em corte transversal. Há também duas regiões pontuais eletrônicas em cada derivado (Fig. 5K). As cristas mitocondriais são restritas à periferia da face oposta ao axonema (Fig. 5K e L). O axonema apresenta o padrão de 9+9+2 microtúbulos, sendo nove microtúbulos acessórios externos, seguidos de nove duplas e um par central (Fig. 5K). No fim do flagelo, o qual assume uma forma oval-achatada em corte transversal, os dois derivados mitocondriais reduzem igual e drasticamente de diâmetro e distanciam entre si assumindo uma posição diametralmente oposta (Fig. 5M e N). O espaço deixado pelos derivados ao se distanciarem é preenchido por um material de filamentos longitudinais e interconectados (Fig. 5M). Corte transversal em nível imediatamente posterior mostrou o axonema já desorganizado e os microtúbulos distribuídos no meio de uma massa agora amorfa (Fig. 5N). Em seguida, os derivados não foram mais observados (Fig. 5O).



**Figura 5.** MET dos espermatozoides de *Pycnoderes incurvus*. A- Corte longitudinal do acrossomo (a) revestido por material eletrondenso (\*); B- Corte longitudinal da transição entre acrossomo (a) e núcleo (n); C- Corte transversal do acrossomo exibindo forma de gota; D e F- Transição acrossomo-núcleo com pontos de material eletronucente entre a e n (seta); G- Núcleo; E e H - Transição núcleo-adjunto de centríolo (ac); I- Adjunto de centríolo com pontos eletronucentes na região periférica em forma de trevo (cabeça de seta). J - Transição adjunto de centríolo-flagelo; K- Componentes do flagelo: axonema (ax), pontes conectando o ax aos derivados mitocondriais (dm) simétricos com duas inclusões paracrísticas (p1 e p2) e material conectando os dm (cabeça de seta); L- Derivados mitocondriais (dm) em corte longitudinal evidenciando a região de cristas mitocondriais (seta). M, N e O- Região terminal do flagelo, com pontos de material fibrilar entre os dm e ax (cabeça de seta). Barras: A-B: 250 nm; C-K, M-O: 100 nm; L:125 nm.

## 4 DISCUSSÃO

No sistema reprodutor masculino de Heteroptera, a estrutura testicular e organização dos ductos genitais são relativamente uniformes (Pendegrast, 1957), e entre as principais diferenças estão o número de folículos testiculares (Wieczorek e Mróz, 2006) e de glândulas acessórias (Pendegrast, 1957; Grozeva e Kuznetsova, 1992). Para Miridae, tal como para os demais heterópteros, sete folículos testiculares tem sido considerada a condição plesiomórfica (Leston, 1961), e a variação nesse número, geralmente para menos, e a diversidade morfológica das glândulas acessórias, têm sido consideradas as mais importantes entre todos os Heteroptera do ponto de vista taxonômico (Pendegrast, 1957).

O número reduzido de folículos por testículo nas três espécies da tribo Ecritotarsini aqui analisadas, segue o padrão observado em outros membros da subfamília Bryocorinae, com dois ou três folículos em *Monalocoris americanus* (Wagner e Slater (1952) (Bryocorini), dois em *M. filicis* (Linnaeus, 1758), dois em *Sahlbergella singularis* (Haglund, 1895) (Dicyphini) e três em *Helopeltis antonii* (V. Signoret, 1858) (Dicyphini) (Leston, 1961; Akingbohunge, 1983). Porém, como pode ser notado, *P. incurvus*, *S. brasiliensis* e *B. nigra*, com apenas um, possuem a maior redução possível no número de folículos por testículos. Outras duas subfamílias também com número reduzido de folículos são Orthotylinae e Phylinae, com números modais iguais a dois e três, respectivamente. Por outro lado, em Mirinae, o número modal é sete (Akingbohunge, 1983; Mróz e Wojciechowski, 2011).

Leston (1961) propôs uma organização para Miridae usando o número de folículos como um dos caracteres de sua análise, pois, segundo esse autor, existe uma tendência no processo de oligomerização ou polimerização folicular dentro de um gênero ou subfamília. Entretanto, isso parece ocorrer de forma independente dentro de certas famílias (Mróz e Wojciechowski, 2011), fato observado também em muitos outros membros de Heteroptera (Pendegrast, 1957; Candan et al., 2018). Além disso, Phylinae é considerada a subfamília mais basal em Miridae (Schuh et al., 2009; Jung e Lee, 2012), com predominância de reduzido número folicular (tipicamente três). Tal característica poderia então, ser uma plesiomorfia para Miridae, ponto levantado por Akingbohunge (1983), o oposto do considerado para Heteroptera, onde sete folículos é a condição plesiomórfica. A explicação mais plausível é que a oligomerização no número de folículos ocorra de forma independente (Mróz e Wojciechowski, 2011) e o menor número seria uma característica derivada (Leston, 1961), podendo ou não se estabelecer em nível de subfamília ou tribo.

*Pycnoderes* e *Sixeonotus* são considerados gêneros irmãos (Konstantinov e Knyshev, 2015), o que corresponde à similaridade de organização do SRM entre eles, assim como para outros Miridae, que apresentam um par de testículos, um par de vesículas seminais e dois pares de glândulas acessórias laterais (Mróz e Wojciechowski, 2011; Mróz, 2012). Das 16 espécies de Mirinae analisadas por Mróz e Wojciechowski (2011), 13 exibiram as glândulas acessórias externas (GAE) mais longas que as glândulas internas (GAI), e em *Notostira erratica* (Linnaeus, 1758), as GAI foram as menores dentre todas (GAI ~ 0,96 e GAE ~ 2,86 mm). Em *P. incurvus* e *S. brasiliensis* as GAI também são menores que as GAE (Tabela 1), e em *B. nigra* não mostra um dos pares de glândulas, correspondente as GAI, essa ausência poderia designar uma derivação desse carácter, ou o retorno a um carácter mais primitivo, já que em Tingidae, família irmã de Miridae, há apenas um par de glândulas ectodermais (Pendegrast, 1957).

Nos testículos, as células germinativas se desenvolvem em cistos delimitados por células somáticas (ou císticas), como na maioria dos invertebrados (Phillips, 1974). Em *P. incurvus* foram contabilizadas por volta de 780 a 1000 espermátides por cisto, indicando a ocorrência de 10 ciclos de divisões (oito mitóticas e duas meióticas) por cisto a partir da espermatogônia inicial. O registro de elevado número de espermátides por cisto é mais comum em insetos mais arcaicos, como em Odonata, em que as espermatogônias passam por 16 ciclos de divisões, e grupos mais recentes tendem a produzir cistos com menos espermatozoides, em contrapartida com espermatozoides maiores ou mais cistos por folículo (Jamieson et al., 1999).

As glândulas acessórias podem ser de origem ectodermal ou mesodermal (Masner, 1965), sendo as glândulas acessórias laterais em Miridae ectodermais (Pendegrast, 1957; Mróz e Wojciechowski 2011), com uma camada de células epiteliais que podem variar de forma de acordo com o estágio de desenvolvimento, tipo e volume de secreção (Chapman, 2015). Nas espécies aqui estudadas, com exceção de *B. nigra*, as porções dessas glândulas são tubulares e o diâmetro aproximadamente iguais, diferindo daquelas observadas em *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758, um hematófago da família Cimicidae que é relativamente próxima à Miridae. Nessa espécie onde é encontrada apenas um par e exibe duas porções bem distintas: a mais distal é tubular e ramificada que tem como função produzir e secretar as substâncias; e a porção proximal (que desemboca no ducto ejaculatório) é piriforme e bem dilatada nos indivíduos sexualmente maduros e tem a função de armazenar as substâncias produzidas pela porção distal (Takeda et al., 2019). Ainda, em *Cimex* as células epiteliais de toda a glândula (as duas porções) são binucleadas, enquanto nesses mirídeos elas são mononucleadas. Essas diferenças possivelmente estão relacionadas às divergências na dinâmica de produção de espermatozoides

e no comportamento reprodutivo dos indivíduos dessas duas famílias, pois em *Cimex* a produção de espermatozoides ocorre apenas durante a maturação sexual (Novais, 2017) e o acasalamento é sazonal, por depender de repastos sanguíneos, principalmente as fêmeas (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007). Já nesses mirídeos, a histologia testicular indica que a produção de espermatozoides é contínua ao longo da fase adulta, bem como a cópula, pois provavelmente não há sazonalidade na disponibilidade de alimento.

O fluido seminal de insetos contém, além dos espermatozoides produzidos nos testículos, substâncias variadas tais como proteínas, aminoácidos, lipídeos e sais inorgânicos, que são produzidas pelos ductos deferentes (em geral a região da vesícula seminal) e principalmente pelas glândulas acessórias e ducto ejaculatório. Essas substâncias desempenham funções que podem variar de acordo com o grupo de insetos. Durante a cópula grilos (Orthoptera) e mariposas (Lepidoptera), por exemplo, transferem os espermatozoides em cápsulas proteicas que se tornarão nutrientes para a fêmea (Chapman, 2015; Konagaya e Numata, 2018). Já em outros insetos, como *Drosophila*, um peptídeo produzido pelas glândulas acessórias mesodermais altera o comportamento pós-cópula das fêmeas tornando-as refratárias às cópulas subsequentes (Chen, et al., 1988). Além disso, essas substâncias podem ativar os espermatozoides (Gillot, 2003) e o desenvolvimento ovariano da fêmea (Chapman, 2015; Nation, 2016).

Em *P. incurvus*, o conteúdo dos dois pares de glândulas exibiu aspectos diferentes, indicando que seus produtos podem ter natureza química e funcional distintas. Ainda, as glândulas acessórias externas mostraram diferença na granulose do material presente no lúmen das diferentes porções, o que pode indicar funcionalmente a presença de mais de um tipo celular secretando mais de um tipo de substâncias. Porém, a diferença no aspecto do conteúdo pode indicar que, possivelmente, a porção distal seja responsável pela produção/secreção e a proximal pelo armazenamento. O tamanho relativamente pequeno da porção proximal (com exceção de *B. nigra*) estaria condizente com a dinâmica de cópula dos machos, a qual seria contínua e com uma fêmea por vez, enquanto os machos de *Cimex* estão preparados para copular com várias fêmeas, de forma seguida, logo após o repasto sanguíneo. Ainda, se de fato o número e a morfologia dessas glândulas estão diretamente relacionados ao comportamento reprodutivo, como vários estudos têm mostrado, pode-se esperar que em alguns aspectos reprodutivos *B. nigra* seja diferente de *P. incurvus* e *S. brasiliensis*. De qualquer forma, essas são ainda, questões abertas para futuros estudos com Miridae.

A produção de espermatozoides com apenas um morfotipo nessas três espécies também

foi observada nos Mirinae *Collaria oleosa* Distant, 1883 e *Prepops zetterstedti* Stål, 1860 (Barcellos, 2018), em Anthocoridae (Santos e Lino-Neto, 2018) e Cimicidae (Novais, 2017). Dessa forma, Reduviidae é, até o momento, a única família da infraordem Cimicomorpha que exhibe polimorfismo espermático (Baffa et al., 2017). É interessante observar que Reduviidae ocupa a posição mais basal no cladograma proposto para essa infraordem por Schuh e Štys (1991), e que o polimorfismo espermático tem sido observado em Pentatomomorpha (infraordem Heteroptera: Bowen, 1920; Schrader e Leuchtenberger, 1950; Araújo et al., 2011, 2012; Mercati e Dallai, 2016) e em Auchenorrhyncha (infraordem Cicadomorpha: Chawanji et al., 2005, 2006; Araújo et al., 2010).

A morfometria dos espermatozoides e de suas partes, bem como a proporções entre elas, se mostrou característica para cada uma das três espécies, sendo o comprimento total em *B. nigra* praticamente o dobro daqueles de *P. incurvus* e *S. brasiliensis* (Tabela 2). Em *C. oleosa* e *P. zetterstedti* (Mirinae), os espermatozoides mediram 171 (núcleo 25)  $\mu\text{m}$  e 276 (núcleo 27)  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Barcellos, 2018), esses resultados vêm de encontro com o que foi sugerido por Phillips (1970), em que, no mínimo em princípio, é possível determinar, a partir da análise de uma única célula espermática, filo, ordem, gênero e a espécie do macho no qual está célula foi produzida. Por isso, os espermatozoides têm se mostrado realmente úteis para resolver questões taxonômicas, como pode ser notado em trabalhos como de Pereira et al. (2008), Barcellos et al. (2015) e Cursino et al. (2016).

Nos espermatozoides de muitas ordens de insetos é frequente a presença de uma estrutura densa, afilada, com a base inserida em uma cavidade na ponta do núcleo e revestida pela vesícula acrossomal, denominada perforatorium, como em Hymenoptera (Lino-Neto et al., 2008) e Coleoptera (Dias et al., 2015). Contudo, para Heteroptera ainda não há registro de qualquer estrutura que possa ser identificada como perforatorium (Pentatomomorpha: Dias et al., 2016; Cimicomorpha: Anthocoridae: Santos e Lino-Neto, 2018; Miridae: Barcellos, 2018). Acrossomos que exibem apenas a vesícula acrossomal, como em Heteroptera, têm sido chamados em “monocamada”. Já aqueles com perforatorium, como em Hymenoptera, são ditos em “bicamada”, e em “três camadas” tem sido dito para aqueles que, além do perforatorium, possuem uma camada de material revestindo a vesícula acrossomal, como observado em besouros (Curculionoidea: Burrini et al., 1988; Chrysomelidae: Baccetti e Daccordi, M. 1988; Tenebrionidae: Dias et al., 2013).

Embora nos espermatozoides de Heteroptera ainda não se tenha observado uma estrutura correspondente a um perforatorium, o acrossomo de *P. incurvus*, assim como aquele

de *C. oleosa* (Barcellos, 2018), exhibe claramente duas estruturas: uma menos densa, em forma de gota em corte transversal, que é revestida por uma camada de material que é bem mais densa. A MET mostrou que a estrutura interna (menos densa) é claramente espiralada (também em *C. oleosa*), dando a impressão que ela é a responsável por esta característica. Se assim for, podemos afirmar que ela está presente nas três espécies aqui estudadas, pois nas três o espiralamento foi observado facilmente à ML. É interessante dizer que no acrossomo dos espermatozoides de *P. zetterstedti*, assim como em Cimicidae (Novais, 2017), apenas uma estrutura foi observada (Barcellos, 2018), indicando que a presença de duas estruturas não é comum a todos os mirídeos, portanto nos levando a supor que este pode ser um caráter de importância taxonômica para a família. É também interessante chamar a atenção para a facilidade com que se observa o espiralamento (e, portanto, essa estrutura acrossomal interna) em preparações de espermatozoides para a microscopia de luz, um método muito fácil, rápido e de baixíssimo custo. Embora o acrossomo das três espécies desse estudo, assim como de *C. oleosa*, possa ser dito em bicamada, foi considerado que nenhuma delas é um perforatorium pois, um perforatorium típico tem a sua base inserida em uma cavidade na ponta do núcleo, como dito acima. Já nesses quatro mirídeos, a base da estrutura menos densa, aqui interpretada como a vesícula acrossomal, envolve quase que totalmente a ponta delgada do núcleo e, esses os dois, são envoltos pela camada de material mais eletrondenso, a qual portanto, seria extracrossomal. Contudo, observações mais detalhadas ainda são necessárias para definirmos qual das duas é de fato acrossomo.

A ocorrência de espermatozoides espiralados tem sido registrada para Sternorrhyncha, onde o feixe de espermatozoides é espiralado na porção anterior (*Kerria chinensis* Mahdihassan, 1923, Kerriidae: Seubparu et al., 2018), para Chalcidoidea, nos quais todo o espermatozoide é espiralado (Hymenoptera; Lino-Neto e Dolder, 2001). Essa característica também tem sido observada em outros grupos animais como: Heptathela, Tetragnatha e Pholcus (Chelicerata), que apresentam o núcleo espiralado (Alberti, 1995), alguns anelídeos (Tubicidae: Oligochaeta), com parte no núcleo em espiral (Erséus e Ferraguti, 1995), na ordem Passeriformes, que tem o acrossomo espiralado (Koehler, 1995) e no filo Gastrotricha, que também tem o acrossomo espiralado (Ferraguti e Balsamo, 1995).

O núcleo termina em uma porção curta e afilada envolta pela região anterior do adjunto de centríolo, que ocorre também nas espécies de Mirinae analisadas por Barcellos (2018), que, em seção transversal, apresenta pontos eletrólucos em forma de trevo na periferia, já em Anthocoridae (Santos e Lino-Neto, 2018) e Cimicidae (Novais, 2017), a porção afilada do

núcleo está presente ao longo de todo adjunto de centríolo alcançando o início dos elementos do flagelo. Portanto, até o momento, essa organização é uma característica exclusiva para Miridae entre os Cimicomorpha.

Espermatozoides nos quais o flagelo tem o axonema circundado parcialmente, conectado por pontes aos dois derivados mitocondriais simétricos e, em cada derivado, estão presentes duas inclusões paracristalinas, tem sido consideradas características sinapomórficas para Heteroptera (Dallai e Afzelius, 1980; Dallai e Afzelius, 1982; Dolder, 1988; Jamieson et al., 1999). Os derivados mitocondriais simétricos, como ocorrem nessas três espécies, foram observados em Reduviidae e Cimicidae (Dallai e Afzelius, 1980; Novais, 2017), já em Anthocoridae eles são assimétricos (Santos e Lino-Neto, 2018).

Em conclusão, os sistemas reprodutores masculino de *P. incurvus*, *S. brasiliensis* e *B. nigra* seguem o padrão de organização para outros Miridae, mas com apenas um folículo testicular e a redução de um dos pares de glândulas acessórias em *B. nigra*. Os espermatozoides apresentando a região anterior espiralada nos três membros de Bryocorinae é um aspecto não observado em espécies de Mirinae, e também um registro inédito para os Heteroptera em geral. Ainda, a presença um adjunto de centríolo formando uma ponte entre o núcleo e flagelo, também observado em *C. oleosa* e *P. zetttersdti* (Mirinae) e não em outros Cimicomorpha, vem indicando que este pode ser um caráter sinapomórfico para Miridae. A ultraestrutura dos espermatozoides de *P. incurvus* foi semelhante àquela de *C. oleosa* e *P. zetttersdti*, contudo, um acrossomo com duas estruturas é compartilhado apenas com *C. oleosa*, podendo indicar que essas duas espécies são mais próximas entre si do que qualquer uma delas com *P. zetttersdti*. Finalmente, o flagelo exibindo um axonema ligado por pontes aos dois derivados mitocondriais, os quais abraçam o axonema e possui duas inclusões paracristalinas cada, apoia a condição sinapomórfica para Heteroptera desses três caracteres.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINGBOHUNGBE, A. E. (1983). Variation in testis follicle number in the Miridae (Hemiptera: Heteroptera) and its relationship to the higher classification of the family. **Annals of the Entomological Society of America**. 76, 37-43.
- ALBERTI, G. (1995). Comparative spermatology of Chelicerata: review and perspective. Em Jamieson, B. G. M., Ausio, J., Justine, J. L. (eds). *Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy*. **Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle**. 166, 203-230.
- ARAÚJO, V. A., BÁO, S. N., MOREIRA, J., NEVES, C. A., LINO-NETO, J. (2010). Ultrastructural characterization of the spermatozoa of *Aethalion reticulatum* Linnaeus 1767 (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Aethalionidae). **Micron**. 41 (4), 306-11.
- ARAÚJO, V. A., LINO-NETO, J., RAMALHO, F. S., ZANÚNCIO, J. C., SERRÃO, J. E. (2011). Ultrastructure and heteromorphism of spermatozoa in five species of bugs (Pentatomidae: Heteroptera). **Micron**, 42 (6), 560-567.
- ARAÚJO, V. A., BÁO, S. N. LINO-NETO, J. (2012). Polymorphism of spermatozoa in *Largus rufipennis* Laporte 1832 (Heteroptera: Pyrrhocoroidea: Largidae). **Acta Zoologica**. 93, 239-244.
- BAFFA, A. F. , CAMARA, D. C. P., SANTOS-MALLET, J. R., DA SILVA, E. R. COSTA, J., FREITAS, S. P. C. (2017). Sperm dimorphism in the *Triatoma brasiliensis* species complex and its applications. **Medical and Veterinary Entomology**. 31, 192-199.
- BACCETTI, B., DACCORDI, M. 1988; Sperm structure and phylogeny of the Chrysomelidae. Em: Jolivet, P., Petitpierre, E., Hsiao, T.H. (Eds.) (1988). *Biology of Chrysomelidae*. **Kluwer Academic Publishers Group**. 615 p.
- BARCELLOS, M. S., MARTINS, L. C. B., Cossolin, J. F. S., Serrão, J. E.; Jacques H. C. Delabie, J. H. C., Lino-Neto, J. (2015). Testes and spermatozoa as characters for distinguishing two ant species of the genus *Neoponera* (Hymenoptera: Formicidae). **Florida Entomologist**, 98 (4): 1254-1256.
- BARCELOS, M. S. (2018). Morfologia dos espermatozoides Hemiptera *Dalbulus maidis* (DeLong e Wolcott, 1923) (Cicadelidae), *Collaria oleosa* (Distant, 1883) e *Prepops zetterstedti* (Stål, 1860). Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- BOWEN, R. H. (1920). Studies on insect spermatogenesis. I. The history of the cytoplasmic components of the sperm in Hemiptera. **Biological Bulletin**, 39 (6), 316-362.
- BURRINI, A. G., MAGNANO, L., MAGNANO, A. R., SCALA, C., BACCETTI, B. (1988). Spermatozoa and phylogeny of Curculionoidea (Coleoptera). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**. 17, 1-50.

- CANDAN, S., KOÇAKOĞLU, N. Ö., SULUDERE, Z. (2018). Morphological and histological structure of the male reproductive system of the water strider *Gerris lacustris* (Linnaeus 1758) Gerridae, Heteroptera). **Microscopy Research and Technique**. 1-11.
- CARVALHO, J. C. M. (1957). Catalogo dos mirídeos do mundo, parte I. Catálogo geral de Hemiptera, fascículo 7. Arquivos do Museu Nacional. **Officinas Gráficas do IBGE**. Rio de Janeiro, Brasil. V. XLIV.
- CARVALHO, J. C. M., AFONSO, C. R. S. (1977). Mirídeos neotropicais, CCVIII: Sobre uma Coleção enviada para estudo pela Academia de Ciências da Califórnia (Hemiptera). **Revista Brasileira de Biologia**. 37, 7-16.
- CARVALHO, J. C. M., GOMES, I. P. (1971). Mirídeos neotropicais, CXXX: Novas pesquisas no gênero *Eccritotarsus* Stål (Hemiptera). **Revista Brasileira de Biologia**, 31 (2), 175-188.
- CARVALHO, J. C. M., ROSAS, A.F. (1965). Mirídeos neotropicais, XC: Descrição de duas espécies novas da tribo Bryocorini (Hemiptera). *Revista Brasileira de Biologia*, 22 (3), 247-250.
- CHAPMAN, R. F. (2015). The Insects. Structure and Function (UK). **Cambridge University Press**. 5 ed. 929 p.
- CHAWANJI, A. S., HODGSON, A. N., VILLET, M. H. (2005). Sperm morphology in four species of *African platypleurine cicadas* (Hemiptera: Cicadomorpha: Cicadidae). **Tissue and Cell**, 37 (4), 257-267.
- CHAWANJI, A. S., HODGSON, A. N., VILLET, M. H. (2006). Sperm morphology in five species of cicadettine cicadas (Hemiptera: Cicadomorpha: Cicadidae). **Tissue and Cell**. 38 (6), 373-88.
- CHEN, P. S., STUMM-ZOLLINGER, E., AIGAKI, T., BALMER, J., BIENZ, M., BÖHLEN, P. (1988). A male accessory gland peptide that regulates reproductive behavior of female *D. melanogaster*. **Cell**. 54 (3), 291-298.
- CURSINO, M. S., DUARTE, J. M. B. (2016). Using sperm morphometry and multivariate analysis to differentiate species of gray *Mazama*. **Royal Society Open Science**. 3 (11), 160345.
- DALLAI, R., AFZELIUS, B. A. (1980). Characteristics of the sperm structure in Heteroptera (Hemiptera, Insecta). **Journal of Morphology**. 164 (3), 301-309.
- DALLAI, R., AFZELIUS, B. A. (1982). On zipper-lines or particle arrays within the plasma membrane of hemipteran spermatozoa (Heteroptera, Insecta). **Journal of Ultrastructure Research**. 80 (2), 197-205.
- DALLAI, R., AFZELIUS, B. A. (1993). Axonemal structure and insect phylogeny. **Bolletino Di Zoologia**. 60 (4), 423-429.
- DIAS, G., OLIVEIRA, C. M., LINO-NETO, J. (2013). Sperm morphology and phylogeny of lagriids (Coleoptera, Tenebrionidae). **Arthropod Structure & Development**. 42, 379-384.

- DIAS, G., LINO-NETO, J., MERCATI, D., DALLAI, R. (2015). The sperm ultrastructure and spermiogenesis of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) with evidence of cyst degeneration. **Micron**. 82, 21-27.
- DIAS, G., LINO-NETO, J., MERCATI, D., DALLAI, R. (2016). The sperm structure and spermiogenesis of the heteropteran *Coptosoma scutellatum* (Geoffroy) with emphasis on the development of the centriole adjunct. **Micron**. 82, 33-40.
- DOLDER, H. (1988). Cytoskeletal bridges between organelles in sperm flagellum of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). **Journal of Ultrastructure and Molecular Structure Research**. 101, 159-164.
- ERSÉUS, C., FERRAGUTI, M. (1995). The use of spermatozoal ultrastructure in phylogenetic studies of Tubicidae (Oligochaeta). Em JAMIESON, B. G. M., AUSIO, J., JUSTINE, J. L. (eds). Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. **Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle**. 166, 203-230.
- FERRAGUTI, M., BALSAMO, M. (1995). Comparative spermatology of Gastrotricha. Em JAMIESON, B. G. M., AUSIO, J., JUSTINE, J. L. (eds). Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. **Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle**. 166, 203-230.
- FERREIRA, P. S. F., SILVA, E. R., COELHO, L. B. N. (2001). Miridae (Heteroptera) fitófagos e predadores de Minas Gerais, Brasil, com ênfase em espécies com potencial econômico. **Iheringia, Série Zoologia**. (91), 159-169.
- FERREIRA, P. S. F., PIRES, E. M., PAULA, A. S., COELHO, L. A. (2006). Geographic distribution of Miridae in Minas Gerais State, Brazil (Hemiptera: Heteroptera). **Zootaxa**. 1123, 1-19.
- FERREIRA, P. S. F., HENRY, T. J. (2011). Synopsis and keys to the tribes, genera, and species of Miridae (Hemiptera: Heteroptera) of Minas Gerais, Brazil. Part I: Bryocorinae. **Zootaxa**. 2920, 1-41.
- GILLOTT, C. (2005). Entomology. **Springer**. 3 ed. Dordrecht, Holanda. 831 p.
- GOMES, M. O., CASTANHOLE, M. M. U., SOUZA, H. V., MURAKAMI, A. S., FIRMINO, T. S. S., SARAN, P. S., BANHO, C. A., MONTEIRO, L. S., SILVA, J. C. P., ITOYAMA, M. M. (2013). Morphological aspects of the testes of 18 species of terrestrial Heteroptera from Northwestern São Paulo (Brazil). **Biota Neotropica**. 13 (3).
- GONÇALVES, T. C. M., LENT, H., ALMEIDA, J. R. (1987). Estudo anatomico e morfometrico dos folículos testiculares de Triatominae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 82(4), 543-550.
- GROZEVA, S. M., KUZNETSOVA, V. G. (1992). The reproductive system of some bug families (Heteroptera, Pentatomomorpha). Em: BENNETTOVÁ B., I. GELBIČ, T. SOLDÁN, Eds. Advances in Regulation of Insect reproduction. (1991). **Institute of Entomology, Czech Academy of Sciences**. 97-102.

JAMIESON, B. G. M., DALLAI, R., AFZELIUS, B. A. (1999). Insects: their spermatozoa and phylogeny. **Science Publishers, Inc.** Enfield, NH, U.S.A. 555 p.

JUNG, S., LEE, S. (2012). Molecular phylogeny of the plant bugs (Heteroptera: Miridae) and the evolution of feeding habits. **Cladistics**. 28 (1), 50-79.

KOEHLER, L. D. (1995). Diversity of avian spermatozoa ultrastructure with emphasis on members of the order Passeriformes. Em JAMIESON, B. G. M., AUSIO, J., JUSTINE, J. L. (eds). Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy. **Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle**. 166, 203-230.

KONAGAYA, T., NUMATA, H. (2018). Effect of mating on survival at low temperature in females of the Japanese common grass yellow, *Eurema mandarina*. **Ecological Entomology**.

KONSTANTINOV, F. V., KNYSHOV, A. A. (2015). The tribe Bryocorini (Insecta: Heteroptera: Miridae: Bryocorinae): phylogeny, description of a new genus, and adaptive radiation on ferns. **Zoological Journal of the Linnean Society**. 175 (3), 441-472.

LESTON, D. (1961). Testis follicle number and the higher systematics of Miridae (Hemiptera-Heteroptera). **Proceedings of the Zoological Society of London**. 137 (1), 89-106.

LINO-NETO, J., DOLDER, H. (2001). Redescription of sperm structure and ultrastructure of *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Trichogrammatidae). **Acta Zoologica** (Stockholm). 82, 159-164.

LINO-NETO, J., DOLDER, H., MANCINI, K., MERCATI, D., DALLAI, R. (2008). The short spermatodesm of *Arge pagana* (Hymenoptera: Symphyta). **Tissue and Cell**. 40, 185-193.

MASNER, P. (1965) The Structure, function and the imaginal development of the male inner reproductive organs of *Adelphocoris lineolatus* (Goeze) (Heteroptera: Miridae). **Acta Entomol Bohemoslovaca**. 62 (4), 254-276.

MERCATI, D., DALLAI, R. (2016). A peculiar new virus-spermatozoon association in the bug *Raphigaster nebulosa* (Poda) (Heteroptera-Insecta). **Arthropod Structure & Development**. 45 (1), 64-68.

MRÓZ, E., WOJCIECHOWSKI, W. (2011). The systematic position of the tribe Stenodemini (Heteroptera: Cimicomorpha: Miridae: Mirinae) in the light of the male internal reproductive system. **Journal of Natural History**. 45 (25-26), p. 1563-1588.

MRÓZ, E. (2012). The structure of the male reproductive system of the genus *Psallus* Fieber (Hemiptera: Heteroptera: Miridae). **Polish Journal of Entomology**. 81 (2), p. 107-118.

NATION, J. L. (2016). Insect Physiology and Biochemistry. 3 ed. **CRC Press**, Boca Raton, Florida. Xxi, 644 p.

NOVAIS, A. M. (2017). Morfologia do sistema reprodutor masculino e dos espermatozoides em *Nepomorpha* e *Cimicomorpha* (Heteroptera). Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

- PANIZZI, A. R., GRAZIA, J. (2015). True bugs (Heteroptera) of the Neotropics. **Springer**. Dordrecht, Holanda. 902 p.
- PEREIRA, R. A. S., LINO-NETO, J., PRADO, A. P. (2008). Sperm morphology: A novel way to associate female-males of highly sexual dimorphic fig wasp species. **Symbiosis**. 45, 143-147.
- PENDERGRAST, J. G. (1957) Studies on the reproductive organs of the Heteroptera with a consideration of their bearing on classification. **Transactions of the Royal Entomological Society of London**. 109, 1-63.
- PHILLIPS, D. M. (1970). Insect sperm: their structure and morphogenesis. **The Journal of cell biology**. 44 (2). 243 p.
- PHILLIPS, D. M. (1974). Spermogenesis. **Academic Press**. 1 ed. 74 p.
- RAFAEL, J. A., MELO, G. A. R., CARVALHO, C. J. B., CASARI, S. A., CONSTANTINO, R. (eds.). (2012). Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia. Ribeirão Preto, SP. **Holos Editora**. 810 p.
- REINHARDT, K., SIVA-JOTHY, M. T. (2007). Biology of the bed bugs (Cimicidae). **Annual Review of Entomology**. 52, 351-374.
- Santos, A. B. R., Lino-Neto, J. (2018). Sperm morphology of predatory pirate bugs *Amphiareus constrictus* and *Blaptostethus pallencens* (Heteroptera: Anthocoridae) with phylogenetic inferences. **Micron**. 105, 18-23.
- SCHAEFER C. W., PANIZZI A. R. (Eds.). (2000). Heteroptera of Economic Importance. **CRC Press**. Boca Raton, Florida.
- SCHRADER, F., LEUCHTENBERGER, C. (1950). A cytochemical analysis of the functional interrelations of various cell structures in *Arvelius albopunctatus* (de geer). **Experimental Cell Research**. 1 (3), 421-452.
- SCHUH, R.T., ŠTYŠ, P., (1991). Phylogenetic analysis of Cimicomorphan family relationships (Heteroptera). **Journal Of The New York Entomological Society**. 99, 298-350.
- SCHUH. R. T., SLATER, J. A. (1995). True Bugs Of The World (Hemiptera: Heteroptera): Classification and Natural History. **Cornell University Press**. Ithaca, New York. 336 p.
- SCHUH, R. T., WEIRAUCH, C., HENRY, T. J., HALBERT, S. E. (2008). Curaliidae, a new family of Heteroptera (Insecta: Hemiptera) from the Eastern United States. **Annals of the Entomological Society of America**. 101, 20-29.
- SCHUH, R. T., WEIRAUCH, C., WHEELER, W. C. (2009). Phylogenetic relationships within the Cimicomorpha (Hemiptera: Heteroptera): a total-evidence analysis. **Systematic Entomology**. 34, 15-48.

SEUBPARU, L., NIPITWATHANAPHON, M., WISORAM, W., MERRITT, D., NGERNSIRI, L. (2018). Morphology of testes, spermatogenesis, sperm bundles, and spermatozoa of *Kerria chinensis* (Hemiptera: Kerriidae). **The Canadian Entomologist**. 00, 1-16.

ŠTYS P., KERZHNER, I. M. (1975). The rank and nomenclature of higher taxa in recent Heteroptera. **Acta Entomologica Bohemoslovaca**. 72, 65-79.

TAKEDA, K., YAMAUCHI, J., MIKI, A., KIM, D., LEONG, X. Y., DOGGETT, S. L., ADACHI-YAMADA, T. (2019). Binucleation of male accessory gland cells in the common bed bug *Cimex lectularius*. **Scientific Reports**. 9 (1).

WEIRAUCH, C., SCHUH, R. T. (2011). Systematics and Evolution of Heteroptera: 25 Years of Progress. **Annual Review of Entomology**. 56, 487-510.

WHEELER, A. G., (2000). Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests. Em: Schaefer, C. W.; Panizzi, A. R. Heteroptera of Economic Importance. **CRC Press**. Boca Raton, Florida. 828 p.

WIECZOREK, K., MRÓZ, E. (2006). The structure of the male reproductive system of selected Hemiptera groups. **Acta biologica Cracoviensia**. Series botanica 48 (1), 72.