

DAYVSON AYALA COSTA

**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E
ESPERMATOZOIDES DE *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* Flint, 1983
(TRICHOPTERA: HYDROPSYCHIDAE)**

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: José Lino Neto

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

C837m
2022
Costa, Dayvson Ayala, 1993-
Morfologia do sistema reprodutor masculino e
espermatóides de *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* Flint,
1983 (Trichoptera: Hydropsychidae) / Dayvson Ayala Costa. –
Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (59 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Lino Neto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2022.

Referências bibliográficas: f. 44-59.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.665>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Mosca d'água - Morfologia. 2. Testículos. 3. Mosca
d'água - Reprodução. 4. Microscopia. I. Lino Neto, José, 1959-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Geral. Programa de Pós-Graduação em Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 595.745

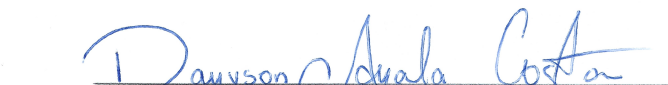
DAYVSON AYALA COSTA


**MORFOLOGIA DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO E
ESPERMATOZOIDES DE *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* Flint, 1983
(TRICHOPTERA: HYDROPSYCHIDAE)**

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: 29 de agosto de 2022.

Assentimento:


Dayvson Ayala Costa
Autor


José Lino Neto
Orientador

*Dedico este trabalho a minha
mãe, que batalhou para que eu alcançasse
esse sonho.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço a Deus, por estar sempre comigo, em minhas orações, nos momentos de felicidade e de luta, e o principal motivo do meu existir.

Agradeço à minha Avó Maria e minhas tias Fátima, Rosalina, Cristina, por serem sempre presentes em minha vida, agradeço do fundo do coração à minha família!

Irmãos são nossos primeiros amigos de verdade e se mantêm ao nosso lado a vida toda. Assim, também deixo um agradecimento especial à minha irmã Fernanda e meus sobrinhos, que mesmo longe, estiveram perto de mim todos os dias.

Agradeço à Maria, Odilon e suas filhas (minhas irmãs) por serem a minha segunda família e que eu amo tanto, sem vocês não seria possível a realização deste sonho.

Aos meus amigos, é um privilégio quando temos ao nosso lado pessoas tão maravilhosas como vocês. Os verdadeiros amigos são aqueles que aparecem nas horas mais difíceis de nossas vidas. Agradeço a todos, em especial a Fabrício, Rodrigo e Eldair, ao longo desses dias, tem sido sempre amigos muito leais, em quem eu realmente posso confiar. Por isso, só posso agradecer pela sua sincera amizade e retribuir todo o carinho e cuidado que vocês têm comigo.

Agradeço a todos do Lab, em especial a Glenda, Camila, Paulo e Rômulo, vocês são as pessoas mais queridas e generosas que algum dia conheci, e tenho muita sorte por aproveitar a vida ao lado de vocês.

Agradeço ao Gleison e Bonfá por todo apoio e ensinamento que adquiri com vocês.

Agradeço ao meu orientador Lino e coorientador Fred. O apoio de vocês, orientações e idéias fizeram desta uma experiência inspiradora para mim.

Por fim deixo um agradecimento a uma estrela lá no céu, não está sendo fácil ser filho sem você Mamãe (*in memoriam*). Eu lembro de tanto que sofremos pra conseguir vencer a graduação, e hoje estou conquistando mais um sonho nosso, só queria seu abraço aqui e dizer que te amo. Esse presente é pra você Mamãe.

Sou feliz e grato porque fui abençoado com um extraordinário conjunto de pessoas únicas com quem posso compartilhar a vida. São essas pessoas, através da sua presença, seus sorrisos, seus abraços, suas palavras, apoio, compreensão, amor e amizade, que dão sentido à minha vida e a tornam mais fácil e prazerosa de viver. Obrigado, meu Deus!

*“Lembra de onde você veio e
aonde que você chegou...”*
(Preto no Branco)

RESUMO

COSTA, Dayvson Ayala, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Morfologia do sistema reprodutor masculino e espermatozoides de *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* Flint, 1983 (Trichoptera: Hydropsychidae)**. Orientador: José Lino Neto.

Trichoptera são insetos holometábolos, aquáticos e possuem ampla distribuição em todos os continentes, exceto Antártida. Estudos sobre espermatologia de Trichoptera se restringiram apenas a espécies do Novo Mundo, elucidando a presença de espermatozoides eupirenes (nucleados), diferentemente de Lepidoptera, os quais produzem, além dos eupirenes, espermatozoides apirenes (anucleados). A ausência de estudos sobre a morfologia do sistema reprodutor e dos espermatozoides de espécies neotropicais, tem levado a uma carência de informações que seriam úteis para a compreensão da sistemática dessas espécies. Assim, neste estudo descrevemos a morfologia da genitália, sistema reprodutor masculino e dos espermatozoides da espécie *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* (Hydropsychidae) a partir da microscopia de luz. A genitália de *S. iguazu* difere daquelas do holótipo e de alguns parátipos, indicando que possivelmente as diferentes populações representem um complexo, não apenas uma espécie como tem sido descrito. O sistema reprodutor masculino é similar aos que já foram descritos em outros Trichoptera, contudo possui apenas um folículo testicular e não há vesículas seminais. Os testículos são piriformes, e através dos cortes histológicos observamos que os espermatozoides estão em feixes restritos à região apical e o restante dele é preenchido por um material filamentosamente denso. Os ductos deferentes são longos e finos em qualquer região com espermatozoides. As glândulas acessórias são longas e possuem duas regiões com conteúdos distintos: a região proximal é preenchida por glóbulos proteicos e a distal por uma substância homogênea, escura avermelhada. Os ductos deferentes desembocam na região apical do bulbo ejaculatório, o qual tem espessa camada muscular, enquanto as glândulas acessórias na sua região basal. Os espermatozoides, com cerca de 40 µm de comprimento, são aflagelados e imóveis, como na maioria dos Annulipalpia. Contudo, difere das espécies já estudadas de Integripalpia. Ressaltamos que este é o primeiro trabalho de histologia do sistema reprodutor masculino realizado com Trichoptera.

Palavras-chave: Sistemática. Testículos. Aflagelado. Microscopia. Moscas d'água.

ABSTRACT

COSTA, Dayvson Ayala, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2022. **Morphology of the male reproductive system and spermatozoa *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* Flint, 1983 (Trichoptera: Hydropsychidae)**. Advisor: José Lino Neto.

Trichoptera are holometabolous, aquatic insects and have a wide distribution on all continents, except Antarctica. Studies on Trichoptera spermatology were restricted to New World species, elucidating the presence of eupyrene (nucleated) sperm, unlike Lepidoptera, which produce, in addition to eupyrenes, apyrene (anucleated) spermatozoa. The absence of studies on the morphology of the reproductive system and spermatozoa of Neotropical species has led to a lack of information that would be useful for understanding the systematics of these species. Thus, in this study we describe the morphology of the genitalia, male reproductive system and of the spermatozoa of the species *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* (Hydropsychidae) using light microscopy. The genitalia of *S. iguazu* differs from those of the holotype and of some paratypes, indicating that the different populations possibly represent a complex, not just a species as has been described. The male reproductive system is similar to those described in other Trichoptera, however it has only one testicular follicle and no seminal vesicles. The testes are piriform, and through the histological sections we observed that the spermatozoa are in bundles restricted to the apical region and the rest of it is filled with a dense filamentous material. The vas deferens are long and thin in any region with sperm. The accessory glands are long and have two regions with distinct contents: the proximal region is filled with protein globules and the distal region is filled with a homogeneous, dark reddish substance. The vas deferens flow into the apical region of the ejaculatory bulb, which has a thick muscular layer, while the accessory glands flow into its basal region. The sperm, about 40 µm long, are flagellate and immobile, as in most Annulipalpia. However, it differs from the previously studied species of Integripalpia. We emphasize that this is the first work on the histology of the male reproductive system carried out with Trichoptera.

Keywords: Systematic. Testes. Aflagellate. Microscopy. Caddisfly.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécies de Trichoptera.....	14
Figura 2 - <i>S. (R.) iguazu</i>	17
Figura 3 - Morfologia de venação da asa de <i>S. (R.) iguazu</i>	18
Figura 4 - Locais de Coleta e Armadilhas.....	22
Figura 5 - Genitália masculina de <i>S. (R.) iguazu</i>	26
Figura 6 - Sistema reprodutor masculino de <i>S. (R.) iguazu</i>	28
Figura 7 - Ilustração do SRM de <i>S. (R.) iguazu</i>	29
Figura 8 - Testículo de <i>S. (R.) iguazu</i> em cortes longitudinais coradas com Giemsa	32
Figura 9 - Órgãos masculinos de <i>S. (R.) iguazu</i>	33
Figura 10 - Ducto deferente de <i>S. (R.) iguazu</i>	35
Figura 11 - Glândulas acessórias de <i>S. (R.) iguazu</i> coradas com Giemsa.....	36
Figura 12 - Corte histológicos de bulbo ejaculatório de <i>S. (R.) iguazu</i>	38
Figura 13 - Espermatozoide de <i>S. (R.) iguazu</i>	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Aspectos Gerais da Ordem Trichoptera Kirby, 1813	12
1.2. Subordem Annulipalpia	14
1.3. Família Hydropsychidae	14
1.4. Subfamília Smicrideinae	15
1.5. Gênero <i>Smicridea</i>	15
1.6. Identificação de Adultos	16
1.7. Espermatogênese	18
1.8. Morfologia do sistema reprodutor masculino	19
2. OBJETIVOS	21
2.1. Objetivo Geral	21
2.2. Objetivos Específicos	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Coleta e preparação do material	21
3.2. Fotografia do inseto adulto	22
3.3. Preparação das genitálias masculinas	22
3.4. Terminologia	23
3.5. Anatomia do sistema reprodutor masculino (SEM)	23
3.6. Microscopia de Luz	23
3.7. Morfometria dos espermatozoides	24
4. RESULTADOS	24
4.1. Descrição da genitália masculina	25
4.2. Anatomia do sistema reprodutor masculino	26
4.3. Histologia do sistema reprodutor masculino	30
4.4. Morfometria dos espermatozoides	38
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais da Ordem Trichoptera Kirby, 1813

A ordem Trichoptera Kirby 1813 compreende os insetos aquáticos holometábolos mais abundantes (Paprocki *et al.*, 2004) e é a ordem de insetos com a maior riqueza de organismos exclusivamente de ambientes aquáticos (Neboiss, 1991). Atualmente, são reconhecidas 16.267 espécies com ampla distribuição em todos os continentes, exceto Antártida (Ward, 1992; Wiggins, 2004; Morse, 2021). Para o Brasil, são reportadas aproximadamente 867 espécies, distribuídas em 16 famílias: Anomalopsychidae, Atriplectididae, Calamoceratidae, Ecnomidae, Glossosomatidae, Helicopsychidae, Hydrobiosidae, Hydropsychidae, Hydroptilidae, Leptoceridae, Limnephilidae, Odontoceridae, Philopotamidae, Polycentropodidae, Sericostomatidae e Xiphocentronidae (Calor, 2011; Santos *et al.*, 2022).

A ordem recebe este nome devido às cerdas que possuem em suas asas (grego: *tricho* = cerda (pelo) e *ptera* = asa), que possivelmente conferem impermeabilização em ambientes aquáticos (Calor, 2007). Juntas, as ordens Trichoptera (moscas d'água), Lepidoptera (que compreende as borboletas e mariposas) e Tarachoptera (ordem recém estabelecida com indivíduos fossilizados em âmbar birmanês) constituem a superordem Amphiesmenoptera (do grego, *amphiesma* = "vestimenta" ou "vestido" referindo-se aos pelos ou escamas) (Kristensen, 1975; Kristensen, 1991; Wheeler *et al.*, 2001; Kjer *et al.*, 2001; Whiting, 2002; Kjer, 2004; Mey *et al.*, 2017).

Atualmente, os Trichoptera são divididos em duas subordens: Annulipalpia Curtis, 1835 e Integripalpia Martynov, 1924 (Thomas *et al.*, 2020). Estes dois táxons são diferenciados a partir de características comportamentais, como a construção de abrigos móveis e as formas pelas quais as larvas empupam. Annulipalpia é uma subordem composta por 9 famílias e suas larvas constroem abrigos fixos ao substrato. Contudo, as larvas empupam fora desse abrigo, mas produzem um revestimento de proteção. Já Integripalpia é composta por 41 famílias cujas larvas constroem abrigos móveis e empupam dentro desse abrigo (Weaver 1984; Frania & Wiggins, 1997; Kjer *et al.*, 2001, 2002; Ivanov, 2002; Malm *et al.*, 2013).

As larvas dos tricópteros habitam quase que exclusivamente ambientes de água doce, como rios, lagos e locais com correntezas leves. Suas peças bucais são bem

desenvolvidas e consistem em um labro, um par de mandíbulas, um par de maxilas e um lábio. As larvas de tricópteros, assim como de Lepidoptera, possuem glândulas salivares modificadas que produzem seda, utilizada para construir abrigos como um refúgio e redes para capturar alimento (Huamantínco & Nessimian, 1999). Na cabeça há uma cápsula cefálica esclerosada com presença de estemas e antenas geralmente curtas. Na região torácica, o primeiro segmento se diferencia do segundo e terceiro na esclerose (Holzenthall *et al.*, 2007a). O abdômen é membranoso e geralmente com brânquias respiratórias externas. Na porção final do abdômen (nono segmento) há um par de falsas pernas providas de ganchos utilizados na locomoção (Angrisano, 1998).

As pupas são aquáticas, exaradas e se desenvolvem em um casulo de seda semipermeável (Calor, 2009). Elas possuem labro com cerdas rígidas e mandíbulas fortes que auxiliam na abertura do casulo pupal, no momento da emergência para a forma adulta. Possuem também pernas com cerdas natatórias hidrofóbicas que auxiliam na saída da água (Angrisano, 1998). Nos tergitos abdominais são encontradas placas de ganchos dorsais, que auxiliam na fixação dentro do casulo e também no processo de ventilação (Holzenthall *et al.*, 2007a).

Os adultos são terrestres, semelhantes a pequenas mariposas (Figura 1), com dois pares de asas cobertas por cerdas de coloração variada (e.g. marrom, verde, cinza, amarelo, bege e cores chamativas em vermelho, laranja, prata e azul em algumas espécies) que auxiliam na camuflagem em meio à vegetação e no comportamento de corte e cópula. Geralmente são encontrados voando próximos aos corpos d'água ou pousados sobre pedras ou vegetação. Os adultos possuem tamanho variado: entre 1,5 e 3,0 mm em Hydroptilidae e alguns Glossosomatidae, chegando até 30-45 mm nas famílias Hydropsychidae e Odontoceridae (Flint, 1978; Paprocki & Holzenthall, 2002; Holzenthall *et al.*, 2007a). As antenas geralmente são longas e filiformes e os palpos maxilares e labiais são bem desenvolvidos, mas há espécies que possuem as peças bucais atrofiadas (Angrisano, 1995). O haustelo é um tipo de probóscide formado pela fusão da porção apical do lábio (pré-lábio) com a hipofaringe, que pode ser utilizado para absorção de água e líquidos açucarados (Holzenthall *et al.*, 2007b).



Figura 1- Espécies de Trichoptera. A – *Ceraclea* sp. (Leptoceridae: Integripalpia). B – *Chimarra* sp. (Philopotamidae: Annulipalpia). C - *Macronema* sp. (Hydropsychidae: Annulipalpia). D - *Smicridea* sp. (Hydropsychidae: Annulipalpia). (Fotografias: Dayvson Costa).

1.2. Subordem Annulipalpia

A subordem Annulipalpia difere da subordem Integripalpia pelas construções de abrigos pelas formas larvais, os quais são fixos ao substrato ou portáteis, respectivamente. Annulipalpia também pode ser distinguida com base nas redes de captura onde o alimento é filtrado ou móveis (Wiggins, 1996, 2004). Annulipalpia recebe este nome devido às estrias transversais encontradas no quinto e último artícolo anelar do palpo maxilar de indivíduos adultos. Esta subordem abriga atualmente três superfamílias: Hydropsychoidea Curtis, 1835 (1 família), Philopotamoidea Stephens, 1829 (2 famílias), e Psychomyioidea Walker, 1852 (9 famílias) (Holzenthal *et al.*, 2011; Thomas *et al.*, 2020).

1.3. Família Hydropsychidae

Hydropsychidae Curtis, 1835 é considerada uma das maiores famílias em número de espécies descritas entre os Annulipalpia (Holzenthal *et al.*, 2007a, 2011).

Atualmente, ela está dividida em cinco subfamílias: Arctopsychinae, Diplectorinae, Hydropsychinae, Macronematinae, Smicrideinae (Flint *et al.*, 1999; Geraci *et al.*, 2005; Scheffer, 1996, 2005). Dentre elas, quatro ocorrem na região neotropical: Diplectorinae Ulmer, 1951, Hydropsychinae Curtis, 1835, Macronematinae Ulmer, 1905, Smicrideinae Flint, 1974. Destas, duas são registradas para o Brasil: Macronematinae (*Synoestropsis* Ulmer, 1905; *Blepharopus* Kolenati, 1859; *Centromacronema* Ulmer, 1905; *Leptonema* Guerin-Meneville, 1843; *Macronema* Pictet, 1836; *Macrostemum* Kolenati, 1859; *Plectromacronema* Ulmer, 1906 e *Pseudomacronema* Ulmer, 1905) e Smicrideinae com três gêneros (*Smicridea* McLachlan, *Smicrophylax* Neboiss e *Asmicridea* Mosely), porém apenas o gênero *Smicridea* McLachlan ocorre no Brasil (Geraci *et al.*, 2005). A família Hydropsychidae é monofilética e dados moleculares e morfológicos sustentam essa monofilia, porém ainda não possui uma classificação estável que confirme o posicionamento das cinco subfamílias (Scheffer 1996, 2005; Geraci *et al.*, 2005; Holzenthal *et al.*, 2007b).

1.4. Subfamília Smicrideinae

Smicrideinae Flint, 1974 é composta por três gêneros: *Smicridea* McLachlan, *Smicrophylax* Neboiss e *Asmicridea* Mosely (Pes & Santos, 2022). O gênero *Smicridea* é encontrado em todo Novo Mundo (Morse, 2021), já os gêneros *Asmicridea* e *Smicrophylax* são táxons restritos, encontrados apenas na região Australiana. A origem do gênero *Smicridea* segundo Flint (1974), se deu a partir do supercontinente Gondwana, por ser considerado o gênero mais rico e abundante da subfamília Smicrideinae, e possuir uma ampla distribuição geográfica. Flint (1974) relata que o motivo da diversidade desse gênero foi o estabelecimento e adaptação de fragmentos da subfamília na região sul da América do Norte, México, América do Sul e Austrália.

1.5. Gênero *Smicridea*

O gênero *Smicridea* McLachlan, 1871 é o mais especioso na região Neotropical com aproximadamente 235 espécies descritas (Morse, 2021). Para o Brasil, são reconhecidas atualmente 72 espécies válidas, das quais 39 são endêmicas (Pes & Santos, 2022). Dois subgêneros são descritos para este gênero, *Smicridea*

(*Smicridea*) McLachlan, 1871 e *Smicridea (Rhyacophylax)* Müller, 1879 (Flint, 1974; Sganga & Fontanarrosa, 2006; Desidério *et al.*, 2020), ambos possuem registro para o Brasil e para o estado de Minas Gerais.

Quanto a diversidade de *Smicridea* para o Brasil, *S. (Smicridea)* são reportadas 29 espécies e de *S. (Rhyacophylax)* são 43 espécies válidas (Pes & Santos, 2022). Os subgêneros de *Smicridea* podem ser distinguidos por quatro caracteres principais: venação da asa posterior, fórmula dos esporões tibiais, processos glandulares abdominais (adultos) e esclerito do esterno VIII (larvas) estabelecidos por Flint (1974, 1989) para adultos e Wiggins (1996) para larvas.

1.6. Identificação de Adultos

Os adultos do subgênero de *Smicridea* medem de 5 a 10 mm de comprimento, possuem, asas de coloração preta, bege, marrom ou cinza, com faixas na região apical de coloração branco, amarelo-claro ou castanho-claro, antenas curtas em relação as asas, portanto, podem ser diferenciados de outros subgêneros visivelmente através destas características (Pes *et al.*, 2014) (Figura 2). Flint (1974, 1989) distinguiu os dois subgêneros a partir da asa posterior com Radial 2+3 e Radial 4+5 (R) com nervura radial transversal (r) presente, mas pouco visível e o sistema radio-mediano bem separado da Cubital (Cu1) em *Smicridea*, já asa posterior com R 4+5 distanciando de R 2+3 sem a nervura transversal radial (r) e o sistema radio-mediano bem próximo da Cubital (Cu1) em *Rhyacophylax* (Figura 3). Pes *et al.* (2014) complementa inserindo mais uma característica: em *Smicridea* encontra-se dois pares de glândulas reversíveis nos segmentos abdominais VI e VII e não possui processos glandulares externos. Enquanto *Rhyacophylax* não possui glândulas reversíveis nos segmentos abdominais VI e VII, no segmento V pode ser encontrado um par de longos processos glandulares ventral externo.



Figura 2 - *S. (R.) iguazu*. A – Adulto (Vista ventral); B – Adulto (Vista dorsal); C – Asa anterior (acima) e asa posterior (abaixo); D – Cabeça (dorsal); E – Abdome evidenciando no V segmento o processo glandular (pg). Barras: 1mm. (Fotografias: Dayvson Costa).

As larvas de *Smicridea* medem até 9,5 mm de comprimento apresentam estrias na região ventral da cabeça, e brânquias na região ventral do corpo com filamentos que bifurcam-se a partir da base. Wiggins (1996) distinguiu os subgêneros da seguinte forma: em *S. (Smicridea)* há um único esclerito mediano no ventre do segmento VIII, e o frontoclípeo e o submento são inteiros, sem fenda mediana; os escleritos pós-

externais do prosterno são diminutos. As larvas em *S. (Rhyacophylax)* têm dois pequenos escleritos ventrais no VIII, o submento é emarginado anteriormente, os escleritos pós-externais do prosterno estão ausentes e a margem anterior do frontoclípeo é entalhada.

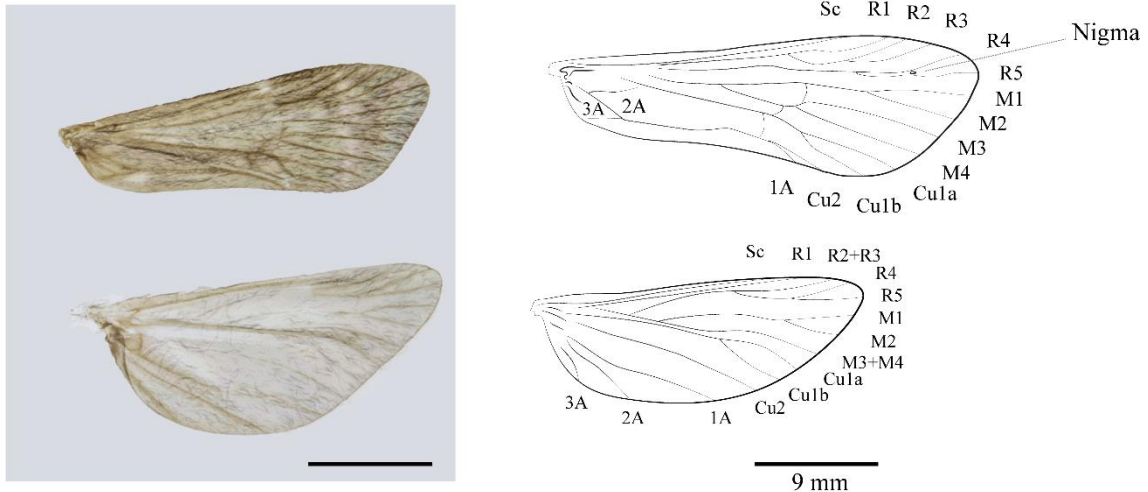


Figura 3- Morfologia de venação da asa de *S. (R.) iguazu*. Veias: Subcostal (Sc), radial (R), mediana (M), cubital (Cu) e anal (A). (Fotografia e Ilustração: Dayvson Costa).

1.7. Espermatogênese

Estudos sobre a espermatogênese e morfologia dos espermatozoides em Trichoptera têm sido desenvolvidos principalmente na década de 70 e 90 (Lutman, 1910; Klingstedt, 1931; Baccetti *et al.*, 1970; Phillips, 1970; Phillips, 1974; Friedlander & Morse, 1982; Friedlander, 1983; Friedlander & Eren Jeger, 1990; Dallai & Afzelius, 1990; Afzelius *et al.*, 1991; Dallai & Afzelius, 1993; Friedlander, 1993; Dallai & Afzelius, 1994; Dallai *et al.*, 1994; Wolf & Klein, 1995a, 1995b; Dallai & Afzelius, 1995; Dallai *et al.*, 1995; Klein & Wolf, 1997; Dallai *et al.*, 2016). Estes trazem um enfoque comparativo entre as próprias espécies ou com os Lepidoptera, a fim de auxiliar na filogenia dos clados entre espécies ou de Amphiesmenoptera (Lepidoptera + Trichoptera + Tarachoptera), respectivamente.

Os espermatozoides de Lepidoptera (grupo-irmão de Trichoptera) apresentam dimorfismo, podendo ser encontrado dentro da ordem espermatozoides com núcleos (eupirenes) e anucleados (apirenes) (Alves *et al.*, 2006; Dallai *et al.*, 2016), o que os diferem daqueles de Trichoptera, visto que as espécies estudadas desta ordem (Friedlander & Morse 1982; Friedlander, 1983) só produzem espermatozoides nucleados. Portanto, Friedlander (1983) sugeriu que a dicotomia de espermatozoides

apirenes-eupirenes derivada da espermatogênese é uma autopomorfia evolutiva de Lepidoptera.

No flagelo dos espermatozoides de Lepidoptera comumente são encontrados dois derivados mitocondriais, em geral com diâmetros diferentes, já em Trichoptera foi observado apenas um derivado mitocondrial (Dallai *et al.*, 2016). Em relação à cabeça dos espermatozoides, em ambas ordens o núcleo é alongado e com cromatina condensada (Dallai *et al.*, 2016), e o acrossomo é ausente em Lepidoptera e, às vezes, em Trichoptera, nesta última, quando presente, ele é geralmente pequeno.

Os trabalhos sobre espermatozoides (Friedlander & Morse, 1982; Friedlander, 1983; Friedlander & Eren Jeger, 1990) também distinguiram os dois grandes grupos de Trichoptera (Annulipalpia e Integripalpia) a partir do padrão de microtúbulos axonemais: Annulipalpia produz espermatozoides com diferentes padrões de axonema, já Integripalpia tem o axonema padrão de 9+2 microtúbulos. Contudo, descrições atuais relatam um axonema com 9 + 9 + 2 microtúbulos em algumas famílias de Integripalpia, com os microtúbulos acessório formados por 18 ou 20 protofilamentos. Um acrossomo pequeno ou ausente, um núcleo alongado e um único derivado mitocondrial (Dallai & Afzelius, 1990, 1993, 1994; Dallai *et al.*, 2016).

Vários trabalhos têm mostrado que, nos insetos em geral, incluindo Lepidoptera (Friedlander & Wahrman, 1971), no início da espermiogênese as duas mitocôndrias das espermátides se agrupam e se fundem formando uma estrutura denominada Nebenkern (Baccetti & Afzelius, 1976). Em Trichoptera também ocorre esse agrupamento mitocondrial, mas não formam um Nebenkern verdadeiro (Friedlander, 1993) resultando em apenas um derivado mitocondrial nos espermatozoides maduros.

Dallai & Afzelius (1993) descreveram que uma característica que distinguia o flagelo dos espermatozoides de tricópteros (Annulipalpia) era a perda dos braços de dineína externos, internos ou ambos. Pesquisas posteriores confirmaram essa observação estudando os espermatozoides de algumas espécies de Annulipalpia, concluindo ainda que o motivo da imobilidade desses espermatozoides é devido a perda dos braços de dineína (Dallai *et al.*, 2016).

1.8. Morfologia do sistema reprodutor masculino

Existe uma carência de estudos com o sistema reprodutor masculino de Trichoptera (Korboot, 1964; Marshall, 1977; Khalifa, 1949), porém, sobre o sistema reprodutor de Lepidoptera são bem caracterizados. Em Lepidoptera é comum encontrar variações na quantidade de folículos, (e. g. 8 folículos – *Utetheisa pulchella* L. (Lepidoptera: Arctiidae) e 4 folículos - *Rhyacionia buoliana* Denis & Schiffermüller, 1775 (Lepidoptera: Olethreutidae) (Shen & Berryman, 1967), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebididae) (Pezenti *et al.*, 2021), *Dione juno* Cramer, 1779 e *Agraulis vanillae* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Nymphalidae) (Mari *et al.*, 2018)), ou então os folículos estão fusionados na fase adulta, e ainda encontra-se um par de ductos eferentes, um par de ductos deferentes, um par de vesículas seminais, um ducto ejaculatório e um par de glândulas acessórias (Ehrlich, 1961). Devido a carência de estudos com a fauna Neotropical de Trichoptera, novos estudos podem fornecer caracteres sobre outras espécies, e somar aos estudos já existentes, cujos resultados também são importantes como subsídio para um enfoque filogenético entre as ordens Trichoptera e Lepidoptera.

Além de contribuir com novas informações dos caracteres espermáticos e histologia do sistema reprodutor, esses resultados podem sanar as lacunas hoje existentes, contribuindo com hipóteses que forneçam informações para a compreensão do relacionamento filogenético das superfamílias e subfamílias de Trichoptera. Os trabalhos realizados por Baccetti *et al.* (1970), Friedlander e Morse (1982), Friedlander (1983), Friedlander e Eren Jeger (1990) relataram a morfologia de espermatozoides de tricópteros, mas ainda carece compreender e analisar os aspectos filogenéticos desta ordem em relação à outros grupos externos.

A redescrição da genitália masculina de *S. (R.) iguazu* se faz importante, pois esta espécie se concentra no conhecido Complexo Iguazu, onde o holótipo foi coletado na província de Misiones (Argentina) e os parátipos foram coletados em outras regiões argentinas e brasileiras (SC e RJ). Flint (1983) considera todos os machos coletados por ele como pertencentes à mesma espécie, mas não é absolutamente certo dessa informação, pois todos diferem na forma das modificações do décimo tergito. Entretanto, a genitália se difere entre eles, possuem poucas informações e a ilustração original não fornece subsídio o suficiente para a identificação da espécie. Portanto, a redescrição da genitália irá contribuir para compreender a morfologia da genitália e suas modificações dentro deste complexo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar e caracterizar a histomorfologia do sistema reprodutor masculino de *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu*, a fim de contribuir com informações que auxiliem na discriminação taxonômica, bem como na compreensão das relações filogenéticas internas de Hydropsychidae, família a qual essa espécie pertence.

2.2. Objetivos Específicos

- Apresentar uma diagnose de *S. (R.) iguazu*;
- Redescrever a genitália do SRM de *S. (R.) iguazu*;
- Descrever anatomicamente o SRM de *S. (R.) iguazu*;
- Descrever histologicamente os SRM de *S. (R.) iguazu*;
- Descrever a morfometria e morfologia dos espermatozoides de *S. (R.) iguazu*;
- Comparar a morfologia espermática entre Trichoptera e Lepidoptera;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Coleta e preparação do material

Para este trabalho foram utilizados machos de *S. (R.) iguazu* coletados, a partir do período crepuscular até ao anoitecer, próximas a cursos d'água em dois pontos: O ponto A é a Cachoeira do Boné (Latitude -20.662023, Longitude -42.449133), inserida no Parque Nacional Serra do Brigadeiro, que está localizado na cidade de Araponga, Minas Gerais, Brasil. O ponto de coleta B é a Cachoeira Grande (Latitude -20.606480, Longitude -42.604340), localizada na cidade de Canaã, também município de Minas Gerais, Brasil (Figura 4).

As coletas foram realizadas, a partir das 17 horas (horário de Brasília) próximas às cachoeiras, com uma armadilha luminosa possuindo uma lâmpada de LED e outra UV, ligadas a duas baterias por cabos de alimentação elétrica (Fig. 4A-D). Os insetos foram coletados utilizando pequenos frascos, e mantidos vivos para a viabilidade de espermatozoides e tecidos dos órgãos internos. Após a coleta, os insetos foram

levados para o laboratório de Ultraestrutura Celular do Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. O material coletado foi identificado através de chaves taxonômicas segundo Albino (2009), Albino *et al.*, (2011), Pes *et al.*, (2005, 2014, 2018) para identificação de indivíduos adultos de *S. (R.) iguazu* e posteriormente colocado etiquetas em cada pote seguindo o modelo:

- Família/gênero – sexo
- Coletor
- Data da coleta



Figura 4- Locais de Coleta. A – Cachoeira do Boné, Araponga, Minas Gerais. B – Cachoeira Grande, Canaã, Minas Gerais. C – Armadilha luminosa utilizada na coleta dos espécimes. (Fotografia: Dayvson Costa)

3.2. Fotografia do inseto adulto

Os adultos foram sexados e três machos transferidos para álcool 70%. Para a fotografia, esses indivíduos foram colocados em uma placa de kline de vidro de 6 cm x 8 cm com álcool 70% em gel. Eles foram fotografados dorsal e ventralmente usando um estereomicroscópio Zeiss Stemi 2000-C com uma câmera digital Canon EOS Rebel T7I acoplada usando o adaptador NDPL 2 (2X). A iluminação foi feita um par de luminárias externa.

3.3. Preparação das genitálias masculinas

Para a confecção dos desenhos, as genitálias foram diafanizadas utilizando protocolos descritos por Blahnik & Holzenthal (2004) e Blahnik *et al.* (2007). Inicialmente, o abdome foi removido, colocado em um tubo de ensaio contendo a

solução de KOH 10% e deixado em banho-maria por 45 minutos à temperatura de 90 °C. Posteriormente, a amostra foi lavada em água destilada, deixada em ácido acético 50% por 15 min e novamente lavada em água destilada. Em seguida, o material passou por banhos em uma série de desidratação alcoólica (50, 70, 100%), com duração de 15 min por banho. Após a diafanização e desidratação, o abdômen foi colocado sobre uma lâmina escavada usando glicerina e a genitália fotografada em um microscópio Olympus CX40 a mesma câmera e o adaptador acima. As genitálias, após fotografadas, foram armazenadas em glicerina e etanol 80%. De cada estrutura, foram obtidas várias imagens, com diferentes distâncias focais, que foram combinadas em uma única com maior profundidade de campo usando o software Zerene Stacker (V1.04) por Zerene Systems. As fotografias da genitália masculina foram vetorizadas no Adobe Illustrator CS6 versão *Trial*.

3.4. Terminologia

A terminologia utilizada nas ilustrações da genitália masculina segue a nomenclatura de Blahnik (1995), Holzenthal & Blahnik (1995) e Desidério *et al.* (2021).

3.5. Anatomia do sistema reprodutor masculino (SRM)

Para descrever e esquematizar a anatomia de *S. (R.) iguazu*, os SRMs de, pelo menos, cinco indivíduos sexualmente maduros 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 utilizando equipamento descrito no item 3.2. Para a confecção dos desenhos esquemáticos foi utilizado o software Adobe Illustrator 2020, gratuita em versão *Trial*.

3.6. Microscopia de Luz

Alguns sistemas reprodutores masculinos (SRM), após fixados e fotografados, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% por 2 h e outros corados com Hematoxilina por 3 min. Em seguida, todos foram desidratados em série alcoólica

crescente: 30%, 50%, 70% e 90%, por 10 minutos em cada um, e finalizando com 3 banhos de 10 minutos em álcool 100%. Posteriormente, infiltrados por 4 h em (i) uma mistura de historesina (base + sachê) e álcool P.A. (1:1) e depois (ii) em historesina pura em temperatura ambiente, nesta última foram deixados em overnight. Então, o material foi emblocado em historesina acrescida do catalisador usando moldes de silicone e transferidos para estufa a 60 °C, por algumas horas para a completa polimerização da resina. Cortes finos de 0,5-1,0 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2155 com navalhas de vidro e transferidos para lâminas histológicas. As lâminas obtidas a partir do material pós-fixado com tetróxido de ósmio foram corados com Giemsa diluído em água destilada (3:15) por 30 min, lavadas em água corrente e fotografados usando um microscópio Olympus BX60 com uma câmera digital Q-Color3 acoplada. Já as lâminas obtidas do material submetido à Hematoxilina foram corar com 0,2 g/ml 4,6-diamino-2-phenylindole (DAPI), por 20 minutos e fotografados usando o microscópio e câmera digital acima, mas equipado com filtro excitação BP 360-370 nm.

3.7. Morfometria dos espermatozoides

Machos adultos de *S. (R.) iguazu* foram dissociados usando estiletes, perfurados e o material interno foi colocado sobre lâminas histológicas, e após secar, lavadas em água corrente. As lâminas foram fotografadas em um fotomicroscópio Olympus BX60 e 50 espermatozoides 50 núcleos foram medidos. Estes últimos também foram medidos a partir de algumas lâminas coradas por 20 min com 0,2 µg/ml 4,6-diamino-2-phenylindole (DAPI), lavadas em água corrente e cobertas com lamínulas usando solução aquosa de sacarose a 50%. Todas as medidas foram feitas usando o programa ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>). Posteriormente, as lâminas foram coradas com Giemsa e fotografadas e medidas.

4. RESULTADOS

Diagnose

Os adultos coletados de *S. (R.) iguazu* possuem um par de processos glandulares no abdome, na região ventrolateral do V segmento; a porção basal do

sistema radiomedial próximo a Cu1 nas asas; a fórmula 1-4-2 dos esporões tibiais encontrado apenas machos coletados.

4.1. Descrição da genitália masculina

A genitália possui segmentos IX e X de coloração bege acastanhado. Os segmentos IX e X não possuem cerdas nas regiões dorsal e lateral, mas com cerdas médias e finas cobrindo toda a região ventral. O segmento XI é longo e o segmento X é curto em relação ao segmento anterior; margem ventrolateral pouco esclerosada sem projeções; ápice arredondado, em vista lateral, tem uma leve depressão e é pronunciado e voltado para cima (Fig. 5A). Apêndices inferiores bissegmentados; segmento basal longo, coberto por cerdas longas e finas, 5-6 cerdas longas na margem subapical; segmento apical curto e fino, ápice afilado a arredondado, curvado medialmente, coberto por cerdas médias e finas (Fig. 5B). Par de lobos apicomesais curtos, estreito em vista lateral, porção basal afilada, curvada, altamente esclerosados, poucas cerdas de tamanho médio e finas, margem subapical com um dente esclerosado, porção apical pequena, 1/3 da porção basal, afilada, ápice afilado, curvado medialmente, esclerosado, ausência de cerdas. Região fálica tubular, porção basal alargada em vista lateral, parte estreita entre a porção apical e basal formando um ângulo de 150°; faloteca com porção apical levemente curvada para cima em vista lateral, presença de duas fileiras de dentes na região dorsal, com cinco dentes em uma fileira e seis em outra, esclerosada; ápice do falo curto em vista lateral, esclerito falotremal pouco esclerosado, semioval, com abas radiais. Ducto ejaculatório pouco esclerosado (Fig. 5C-D).

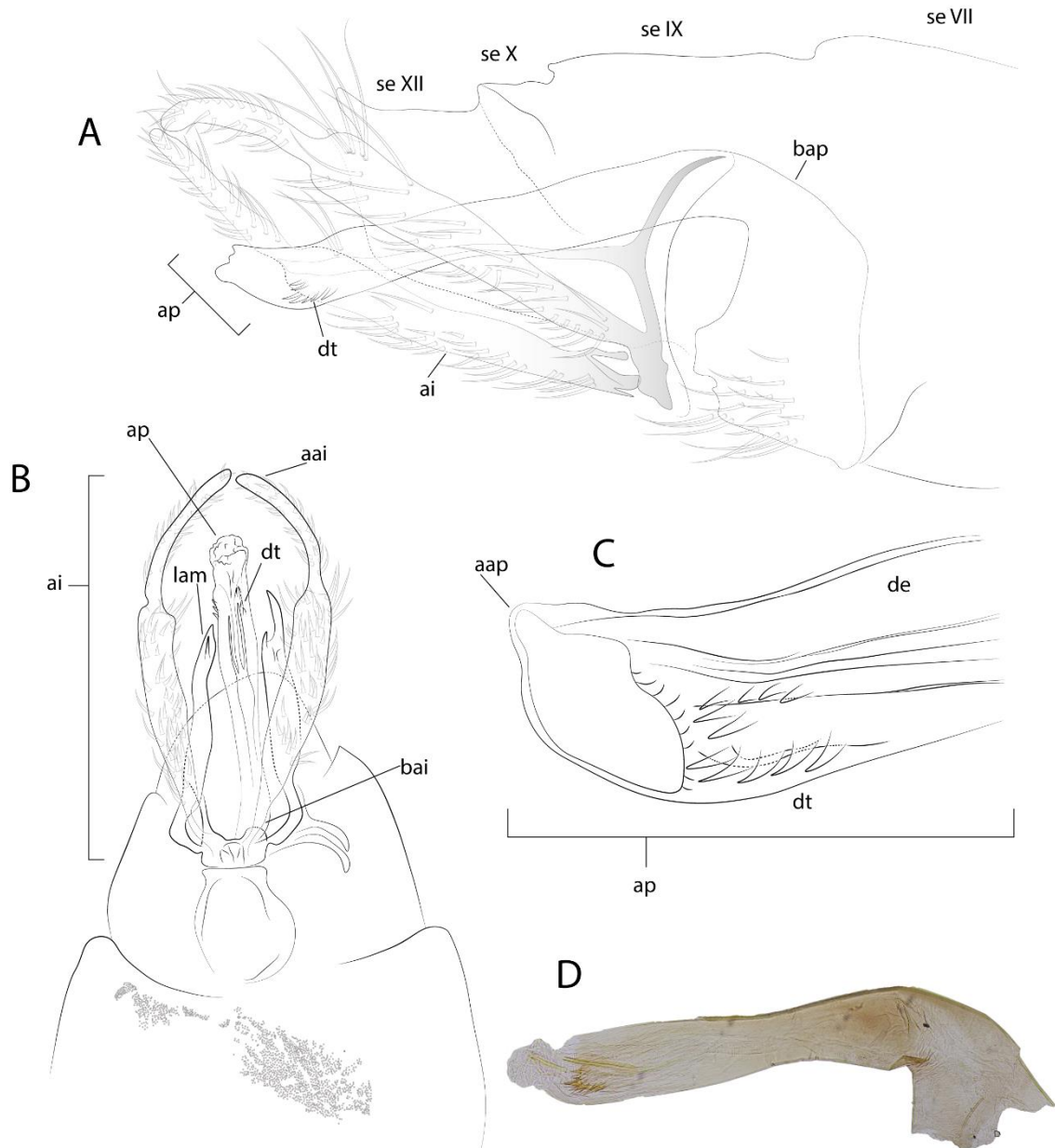


Figura 5- Genitália masculina de *S. (R.) iguazu*. A, B – Aparato fálico em vista lateral e ventral, respectivamente. Ápice (aai) e base (bai) segmentar do apêndice inferior (ai), dentículos (dt), segmento (se), lobo apicomesal (lam). C, D – Aparato fálico (ap). Ducto ejaculatório (de). Barras: 1 mm. (Fotografia e Ilustração: Dayvson Costa).

4.2. Anatomia do sistema reprodutor masculino

O sistema reprodutor masculino de *S. (R.) iguazu* é composto por um par de testículos, um par de ductos deferentes, um par de glândulas, um bulbo ejaculatório, onde se inserem os ductos deferentes, e um ducto ejaculatório (Fig. 6A, 7).

Os testículos (Fig. 6A-B, 7) são pequenos, cada um tem apenas um folículo que varia de piriforme a oval, medindo aproximadamente 0,24-0,30 mm. A região distal é mais esbranquiçada, na qual os cistos espermáticos se concentram. Abaixo dessa região, eles são mais escuros e tem uma substância homogênea que se estende até a abertura do ducto deferente (Fig. 8A-B). A partir de cada testículo, sai um longo (2,0-2,5 mm) e delgado ducto deferente, ambos desembocam na região anterior do bulbo (Fig. 6B, 7). As glândulas são longas e espessas, medem aproximadamente 2,5 mm, e podem ser divididas em três regiões diferentes: um ducto (dc) – que se conecta com o bulbo ejaculatório; proximal (pp) - geralmente mais afilada na porção ascendente e se alarga posteriormente; a região distal (pd) – região final, descendente da glândula, ovalada e túrgida (Fig. 6D). O conteúdo do lúmen das glândulas é homogêneo na porção distal, e é possível observar secreções proteicas que também são visíveis no citoplasma das células do epitélio glandular (Fig. 11).

O bulbo ejaculatório possui um formato de bastonete curto e recurvado, medindo aproximadamente 1,0 mm de comprimento. Ele é revestido por tecido muscular e, na sua extremidade anterior, desembocam os ductos deferentes e na sua base, as glândulas acessórias, a partir de onde começa o ducto ejaculatório (Fig. 6C, 7), o qual é conectado com a base do edeago.

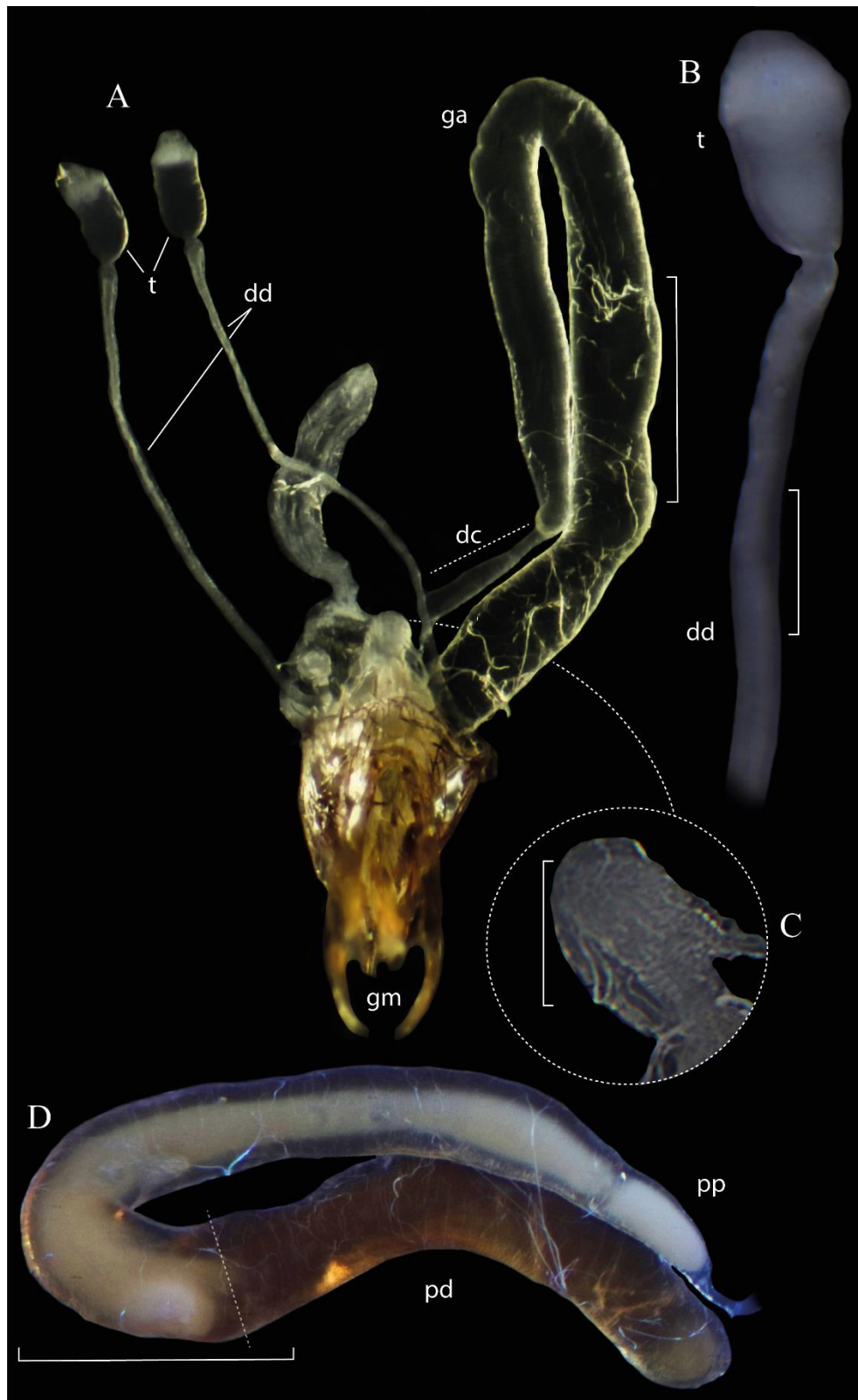


Figura 6 - Sistema reprodutor masculino de *S. (R.) iguazu*. A – Sistema reprodutor masculino em montagem total. B – Testículos (t) e ductos deferentes (dd). Note a porção mais leitosa onde estão os espermatozoides. C – Bulbo ejaculatório. D - Uma glândula acessória, mostrando a diferença de conteúdos entre a porção proximal da

glândula acessória (pp) e porção distal (pd). Genitália masculina (gm). Barras: Figuras A = 1 mm; Figuras B, D = 0,5 mm; Figura C = 0,3 mm. (Fotografia: Dayvson Costa).

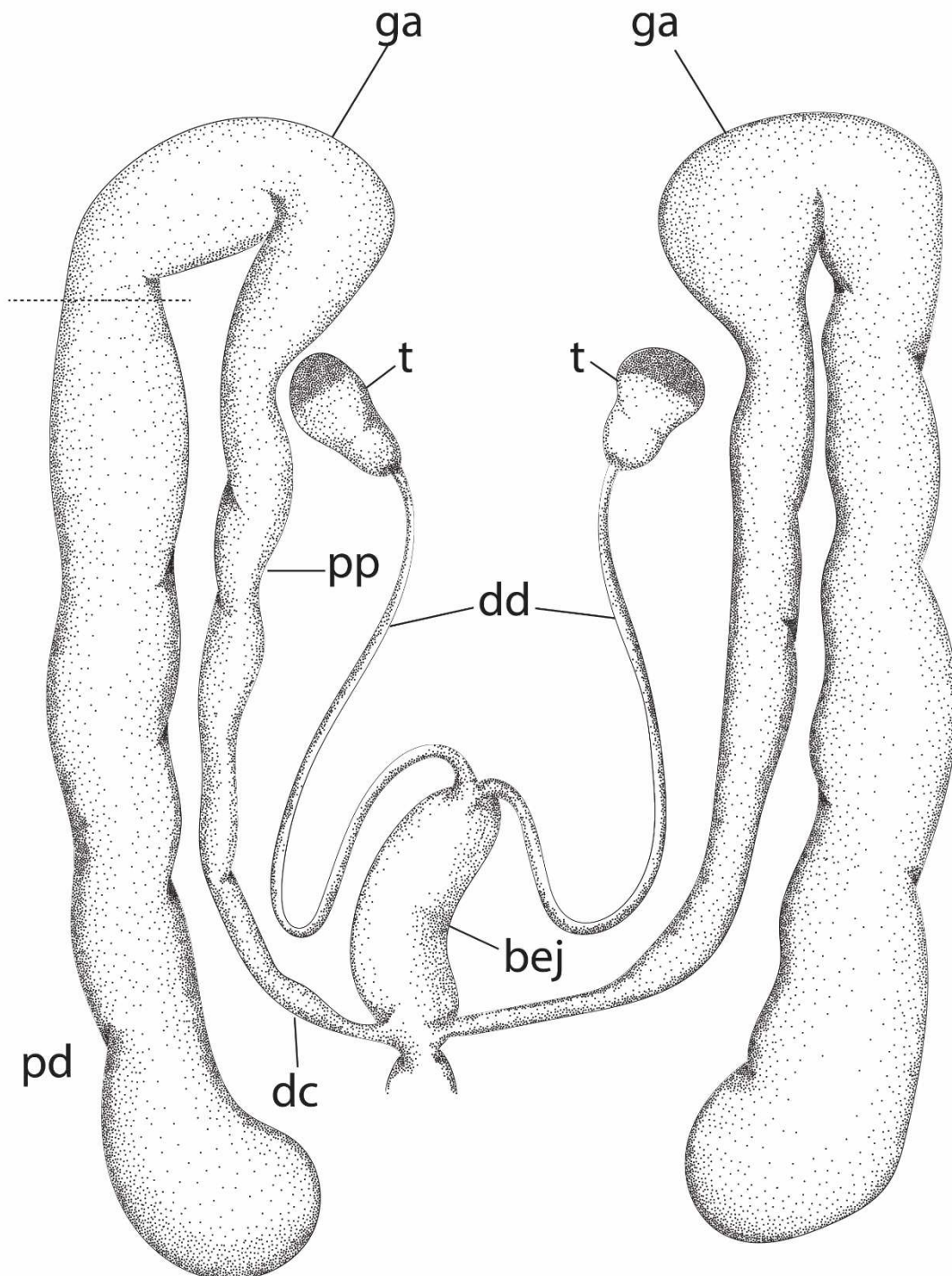


Figura 7 - Ilustração do sistema reprodutor masculino de *S. (R.) iguazu*. Testículos (t), ductos deferentes (dd), bulbo ejaculatório (bej), glândulas acessórias (ga), mostrando os ductos (dc) e as porções proximal (pp) e distal (pd). (Ilustração: Dayvson Costa).

4.3. Histologia do sistema reprodutor masculino

Em DAPI, é possível observar a cromatina do núcleo das células periféricas do tecido conjuntivo (Fig. 8A, 9A) circundando o testículo, e na região apical do testículo os arranjos dos feixes espermáticos (Fig. 8B, 9B) e a cromatina nuclear das células císticas (Fig. 8D, 9C). As células espermáticas possuem um agrupamento único e pequeno (Fig. 8E, 9D). É possível observar que o material filamentososo não possui cromatina (Fig. 8C, 9B, E). Cada testículo de *S. (R.) iguazu* é revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo propriamente denso com núcleo basal do início da formação do epitélio (Fig. 8B) encontradas ao longo de toda a cápsula testicular e ducto deferente. Os cistos espermáticos estão dispostos na região apical do testículo, neles todos os espermatozoides já estão maduros e organizados em pequenos feixes com 40-50 células (Fig. 8A-C, E). As células císticas que delimitam os cistos mostram material citoplasmático e os respectivos núcleos de cada célula, já toda a área testicular abaixo da região apical é uniformemente preenchida por material filamentososo (Fig. 8C).

O ducto deferente é longo e possui um epitélio secretor, simples e com projeções membranosas (microvilosidades) (Fig. 10C-E), externamente, uma fina camada de tecido muscular (Fig. 10A, B) e um lúmen (Fig. 10C) que ao longo da estrutura vai se estreitando até chegar ao bulbo ejaculatório (Fig. 10G-I). Próximo ao bulbo ejaculatório, o núcleo basal se concentra em pequenas regiões globosas próximas da camada muscular (Fig. 10F).

A parede do ducto deferente, é dividida em duas porções, ao se aproximar mais da região proximal do bulbo, ela vai se fundindo, tornando-se apenas uma parede celular (Fig. 12F-I), e logo após se alarga e tomando o formato do lúmen.

O bulbo ejaculatório possui o formato em bastonete curvado, medindo cerca de 1 mm de comprimento. Na sua região apical desembocam os ductos deferentes (Fig. 12D-I), e na sua base, os ductos das glândulas acessórias (Fig. 7). Ele é uma estrutura altamente muscular (Fig. 12B), e um lúmen interiormente (Fig. 12C).

Quanto às glândulas acessórias, observa-se que o epitélio possui células epiteliais com núcleo de cromatina descompactada (Fig. 9F), similar a cromatina encontrada nos testículos. No interior das glândulas acessórias não foi observado nenhum material que possua cromatina, portanto, o material filamentososo e a secreção proteica do interior glandular não sofreram alterações utilizando a técnica de coloração

com Giemsa (Fig. 9G). O epitélio possui uma organização mais homogênea, e os núcleos das células epiteliais estão na posição mais basal (Fig. 9H).

As glândulas acessórias de *S. (R.) iguazu* são volumosas (Fig. 11A) e possuem um conteúdo interno distinto entre as porções distais e proximais. O tecido epitelial de revestimento basicamente é formado por um epitélio simples (Figs. 11B, D), que recobre todo o órgão é composto por células cúbicas, citoplasma expansivo, com alta intensidade de secreções de grânulos proteicos. Possui um epitélio com vilosidades.

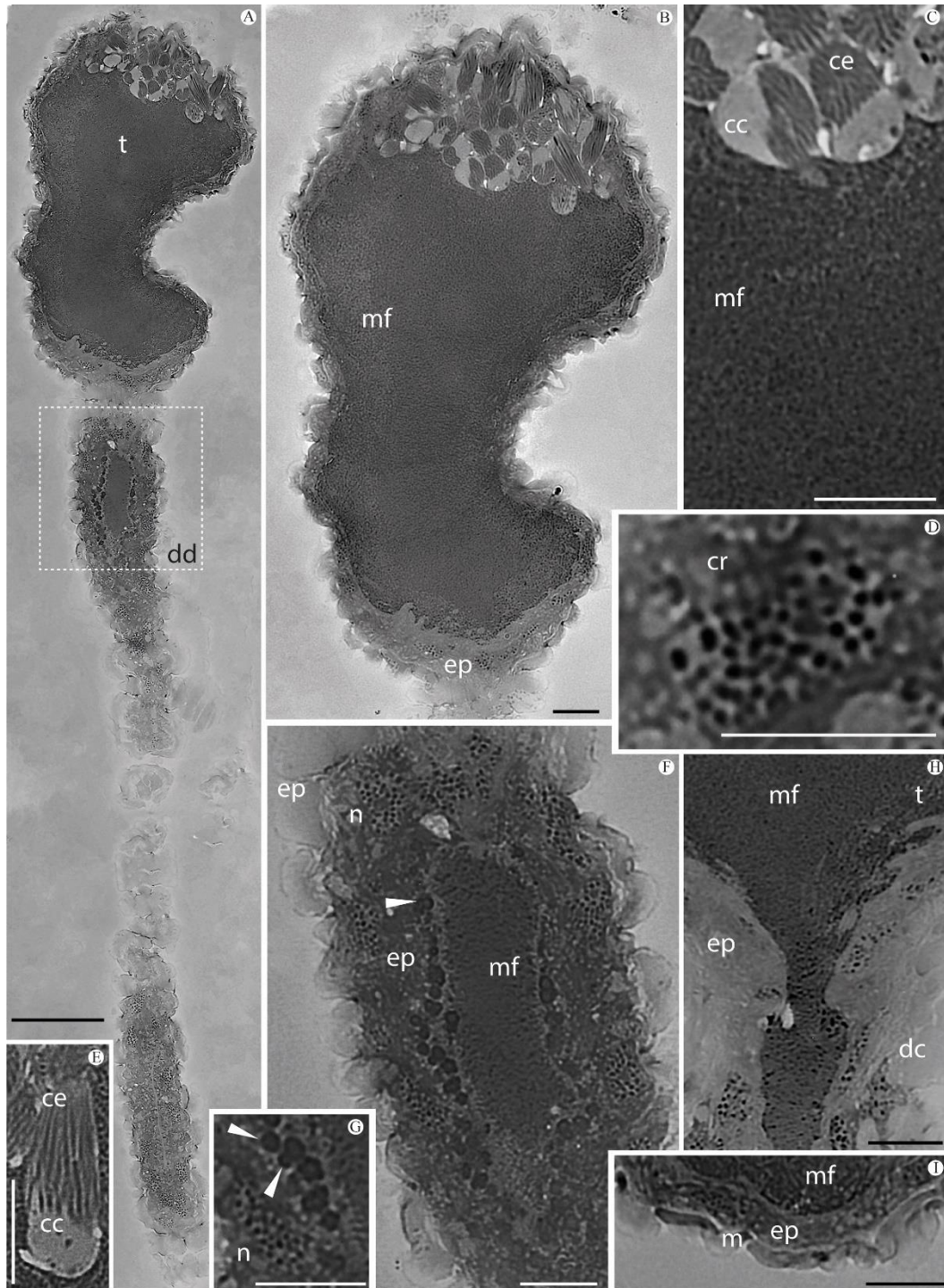


Figura 8 - Testículo de *S. (R.) iguazu* em cortes longitudinais coradas com Giemsa. A – Testículo (t) e ducto deferente (dd). B – O testículo anterior em maior aumento mostrando o material filamento denso (mf) e o epitélio (ep). C – Um detalhe da região apical testicular mostrando feixes de espermatozoides (ce) associados às respectivas células císticas (cc), e da zona de transição com o material filamentoso denso (mf). D – Núcleo de uma célula da ct com cromatina granular (cr). E – Feixe de espermatozoides (fe) e a célula cística (cc). F – Região tracejada em A mostrando do

epitélio (ep) com glóbulos proteicos (cabeça de seta) e o material filamentoso denso em sua luz (mf). Núcleo (n). G – Uma célula epitelial mostrando o núcleo (n) e os glóbulos de secreção proteica (cabeças de setas). H – Transição entre testículo (t) e ducto deferente (dd). Material filamentoso (mf) e Epitélio (ep). I – Detalhe do epitélio (ep) da cápsula testicular revestida por células musculares (m). Material filamentoso denso (mf). Barras: Figuras A – 50 μm ; B – 10 μm ; Figuras C – I – 10 μm .

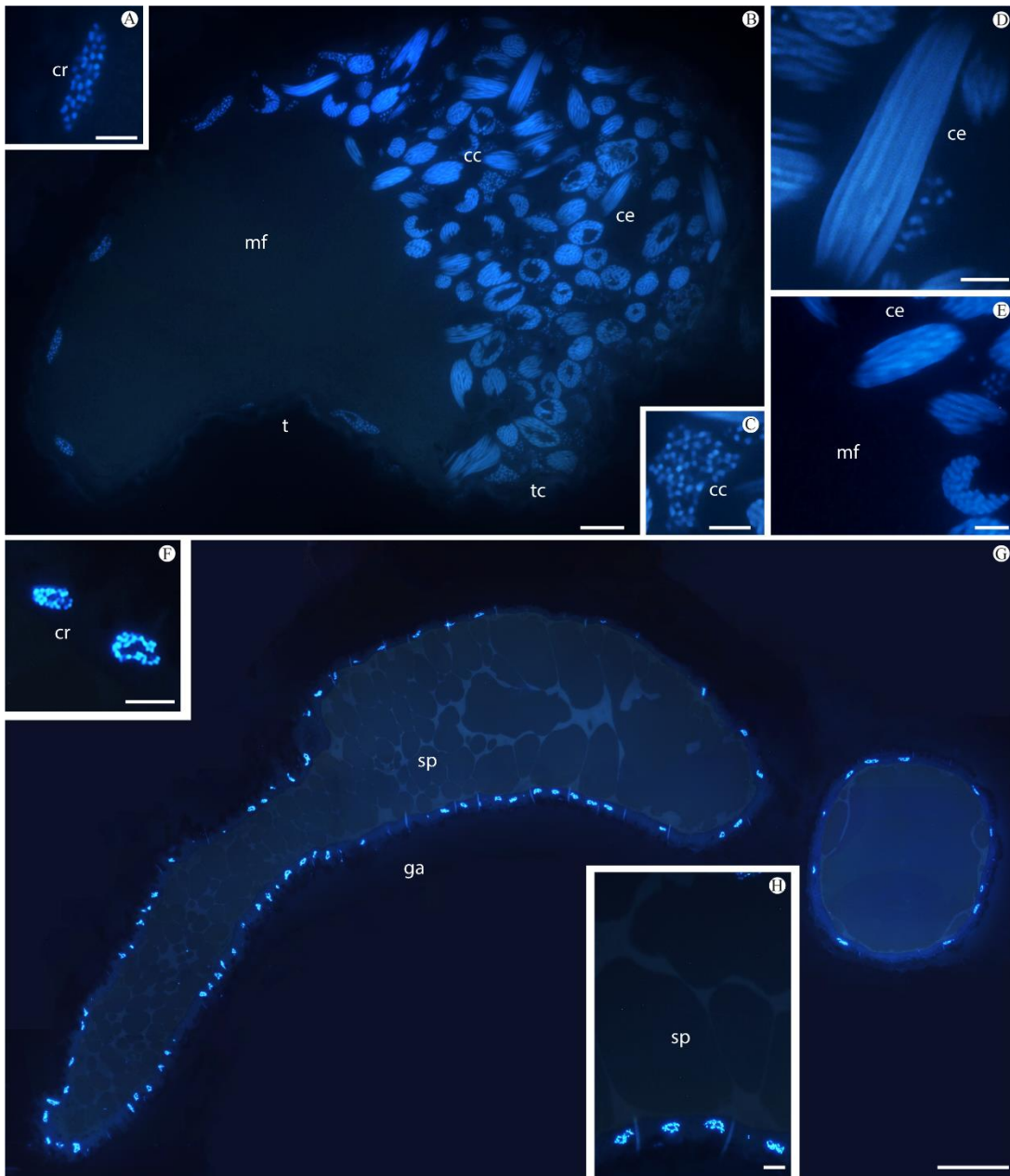


Figura 9 - Testículo e glândula acessória de *S. (R.) iguazu* em cortes longitudinais corados com DAPI. A – Detalhe da cromatina (cr) na cápsula testicular. B – Testículo mostrando os espermatozoides organizados em cistos (ce) pelas células císticas (cc) na região apical. Cápsula testicular (tc), material filamentoso (mf). C – Núcleo de uma

célula da célula cística com a cromatina em grumos. D – Um feixe de espermatozoides (sp) em maior aumento. E – Zona de transição testicular entre a região os cistos espermáticos (ce) e o material filamentososo denso (mf). F – Dois núcleos de células do epitélio glandulares mostrando o aspecto granular da cromatina. G – Glândula acessória evidenciando a posição basal dos núcleos (n) das epiteliais. H – Zona de transição entre o tecido epitelial cúbico (tec) e a secreção proteica (sp). Barras: Figuras A, C, D, E = 4 μ m; Figura B = 10 μ m; Figura F = 4 μ m; Figura G – H = 50 μ m.

Na porção glandular proximal, as células epiteliais possuem, na região apical, grânulos esféricos e intensamente corados (Fig. 11C-E). Através dos cortes transversais, é possível delimitar os grânulos proteicos, além de observar a zona de transição entre a região interna da glândula e o epitélio glandular. Em algumas regiões da porção proximal da glândula acessória, a produção de conteúdo proteico é intensa, e os grânulos se tornam menores (Figs. 11E-G). Entretanto, a porção distal da glândula possui um conteúdo homogêneo, mais denso, e o epitélio glandular possui pouca secreção em relação a região proximal.

Levando em consideração o formato da glândula e suas regiões, o material proteico secretado por ela basicamente é uma mistura de massa gelatinosa proteica, e ao longo da glândula, esse material vai se tornando consistente e globoso e próximo a região de eliminação dessas substâncias, os grânulos proteicos se tornam menores.

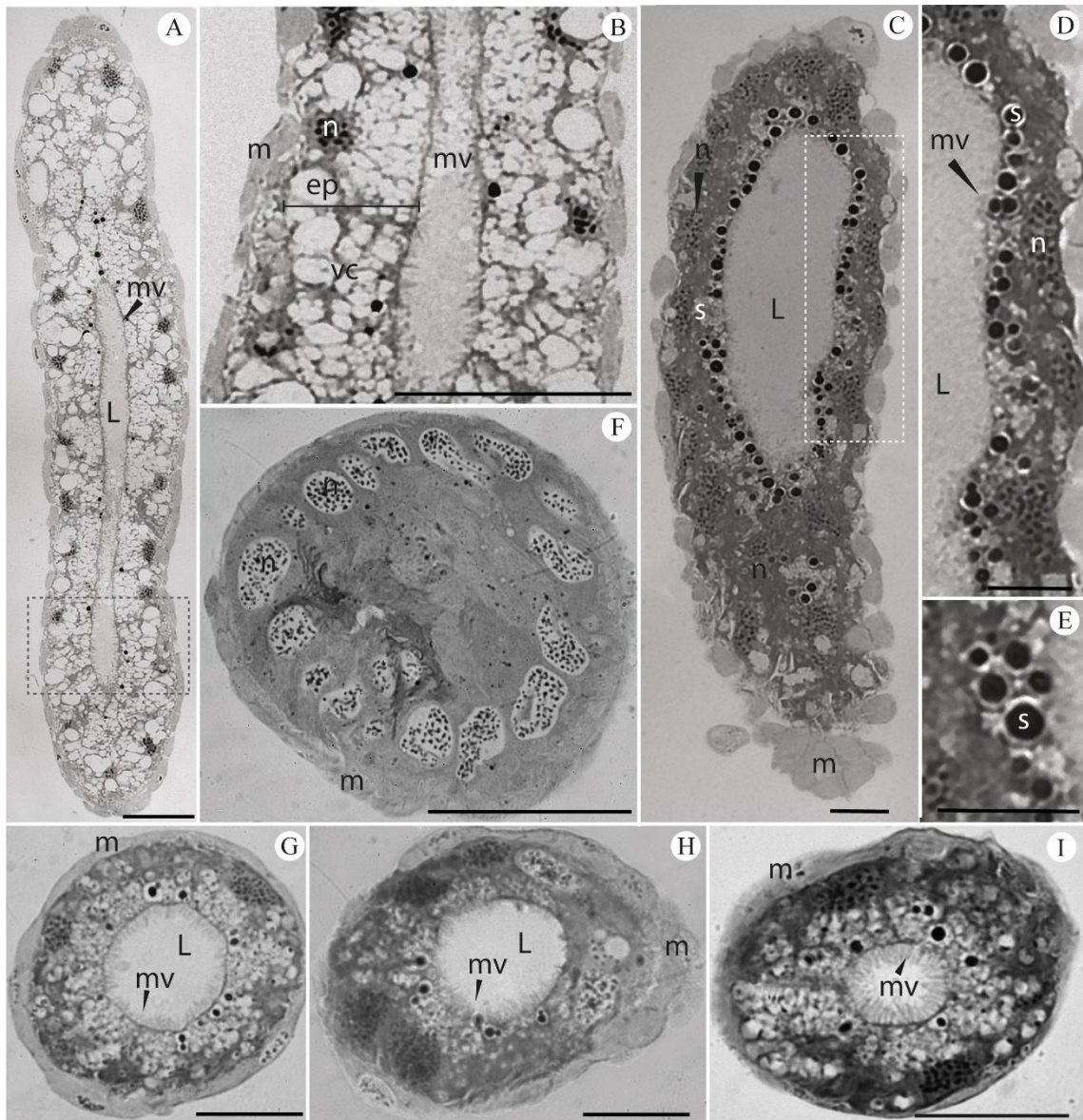


Figura 10 - Ductos deferentes de *S. (R.) iguazu* seccionados em diferentes níveis. A – Corte longitudinal, mostrando o lúmen (L) e o epitélio simples com microvilosidades (mv). B – Região tracejada da figura anterior em maior aumento. Observe a grande quantidade e diversidade em tamanho de vesículas citoplasmáticas (vc) nas células epiteliais (ep). Núcleos (n), células musculares (m). C – Corte longitudinal de uma região mais posterior destacando os grânulos proteicos na região apical das células epiteliais. Lúmen (L), células musculares (m). D – Detalhe do epitélio da região tracejada da figura anterior destacando as células epiteliais com seus núcleos (n) basais e grânulos proteicos (s) na região apical. Lúmen (L). E – Detalhe dos grânulos proteicos (s) na região apical do epitélio. F – Corte transversal na porção próxima ao bulbo ejacutório, mostrando as células epiteliais com núcleos grandes e cromatina granular e uma camada muscular (m) que recobre o ducto. G-I – Corte em diferentes

níveis a partir da região anterior. Observe a redução da luz e o aumento da camada muscular a medida que se aproxima do bulbo ejacutório. Note também a ausência de espermatozoides. Barras: 20 μ m.

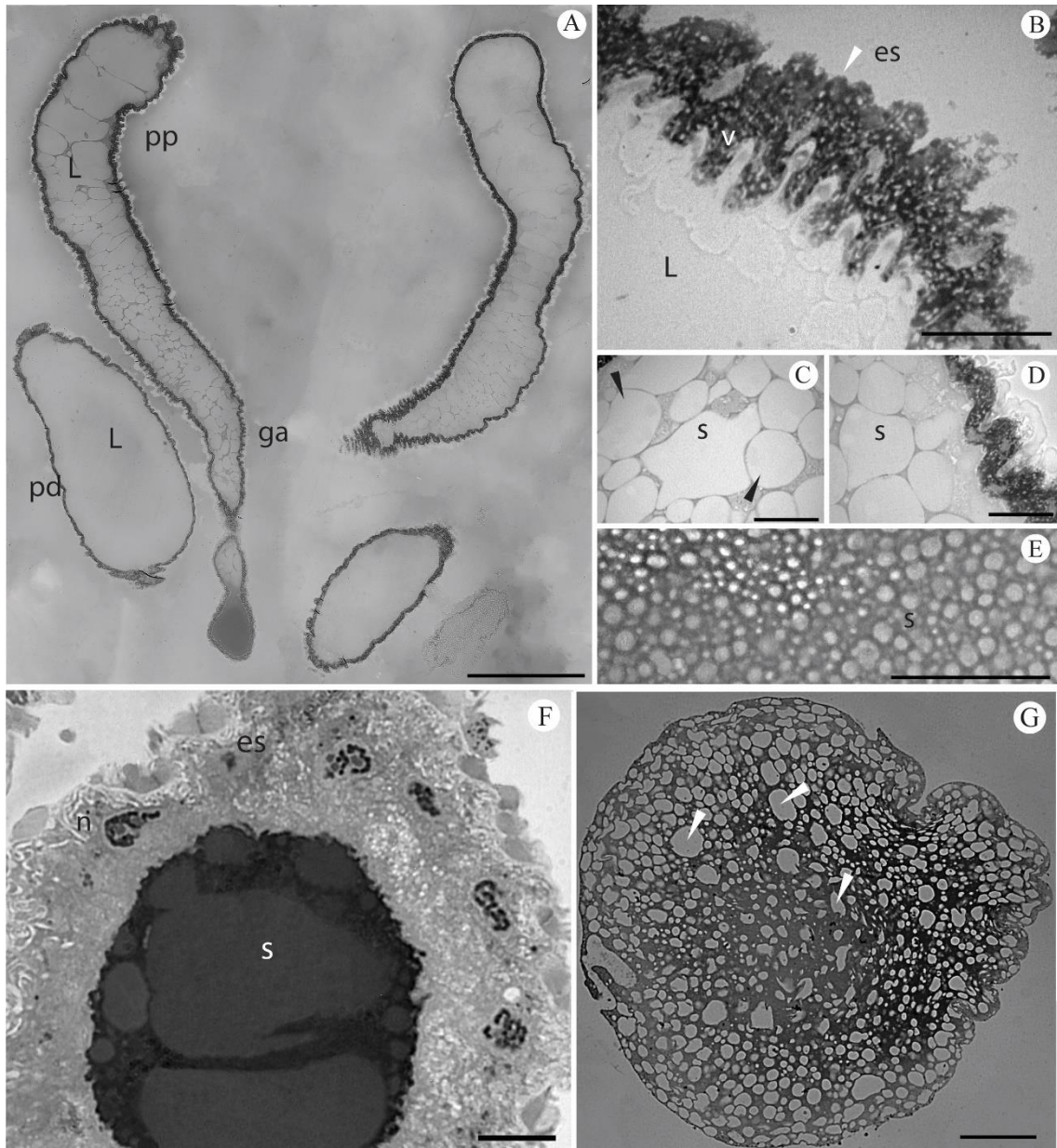


Figura 11 - Glândulas acessórias de *S. (R.) iguazu* coradas com Giemsa. A – Corte longitudinal das porções proximal (pp) e distal (pd). B – Detalhe do epitélio secretor (es) da porção distal (pd) e a zona de transição com a substância gelatinosa do lúmen (L). C, D – Detalhe do da porção proximal destacando os grânulos proteicos (s) na luz. E – Detalhe da luz glandular na região de transição entre as duas porções. Observe a grande quantidade de pequenas secreções proteicas (s). F – Corte transversal da

porção distal. Note os núcleos (n) na região basal das células epiteliais e na luz a secreção heterogêneas (s). G – Corte transversal do ducto glandular mostrando a grande quantidade de grânulos proteicos de diferentes tamanhos e entre eles um material amorfo e bem corado. Barra: Figura A = 200 μ m; Figura B – G = 20 μ m.

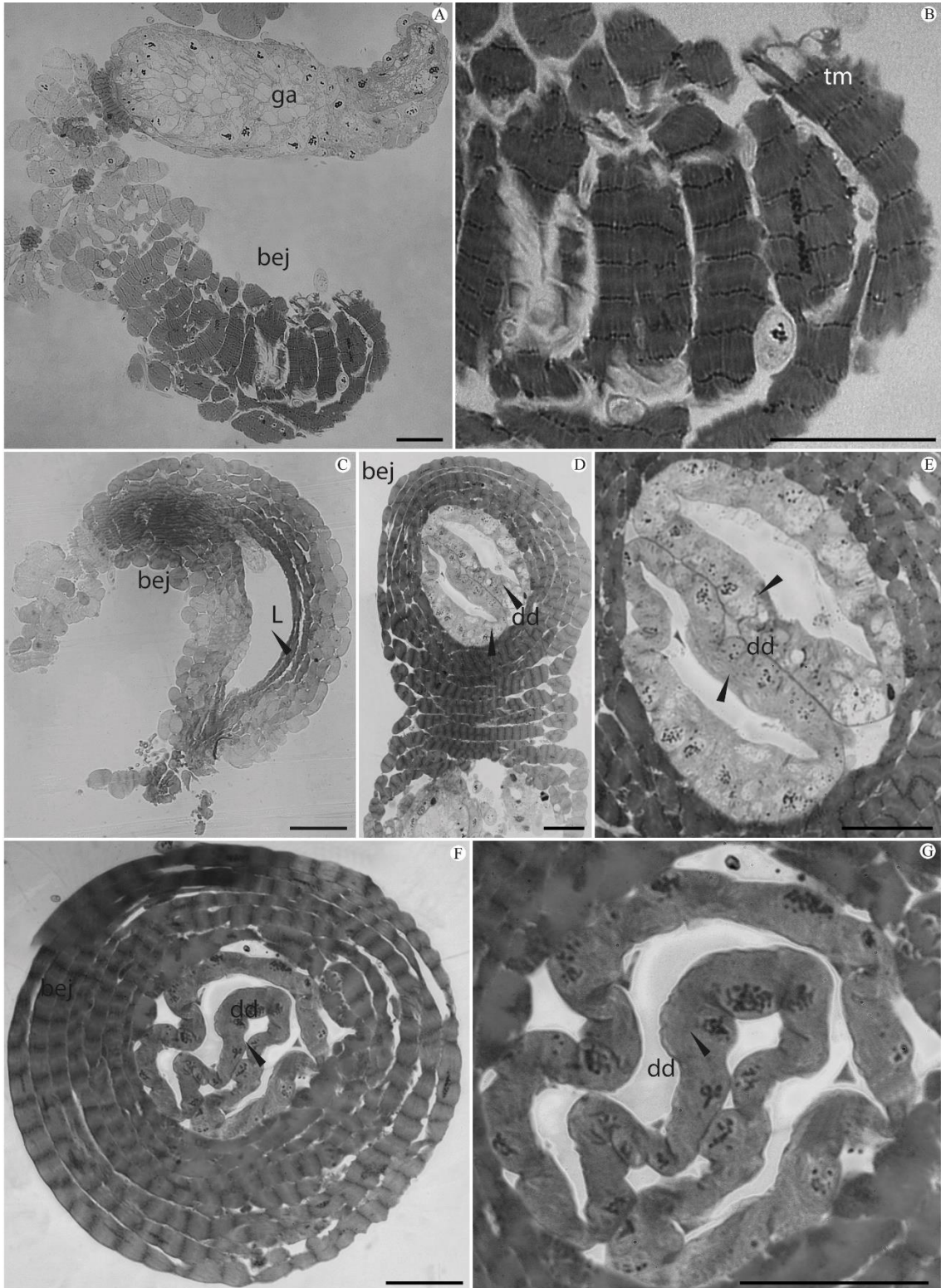


Figura 12 - Bulbo ejaculatório de *S. (R.) iguazu*. A – Corte longitudinal mostrando a camada muscular bem desenvolvida do bulbo ejaculatório (bej) e a região porção proximal de uma glândula acessória (ga). B – Detalhe do tecido muscular (tm). C – Corte longitudinal do bulbo ejaculatório (bej), destacando o lúmen (L) e a espessa camada muscular. D – Corte transversal da região apical do bulbo ejaculatório. Note que as extremidades posteriores dos ductos deferentes (dd) ainda se mantêm individualizadas. E – Corte transversal do bulbo ejaculatório, evidenciando o processo de junção dos ductos deferentes. G – Detalhe do processo de junção dos dois ductos deferentes. Barra: Figuras A – G = 20 μ m.

4.4. Morfometria dos espermatozoides

Os espermatozoides de *S. (R.) iguazu* são aflagelados, filiformes, espiralados e pequenos, medindo em torno de 40 μ m (Fig. 13). Nos machos sexualmente maduros, eles são encontrados em feixes na região distal dos testículos (Fig. 8A-C) e, isoladamente, na porção superior dos ductos deferentes. Os espermatozoides se localizam na porção apical do testículo, mais alargada, e são agrupados em feixes, e na região mais afilada do testículo, não se encontram espermatozoides.

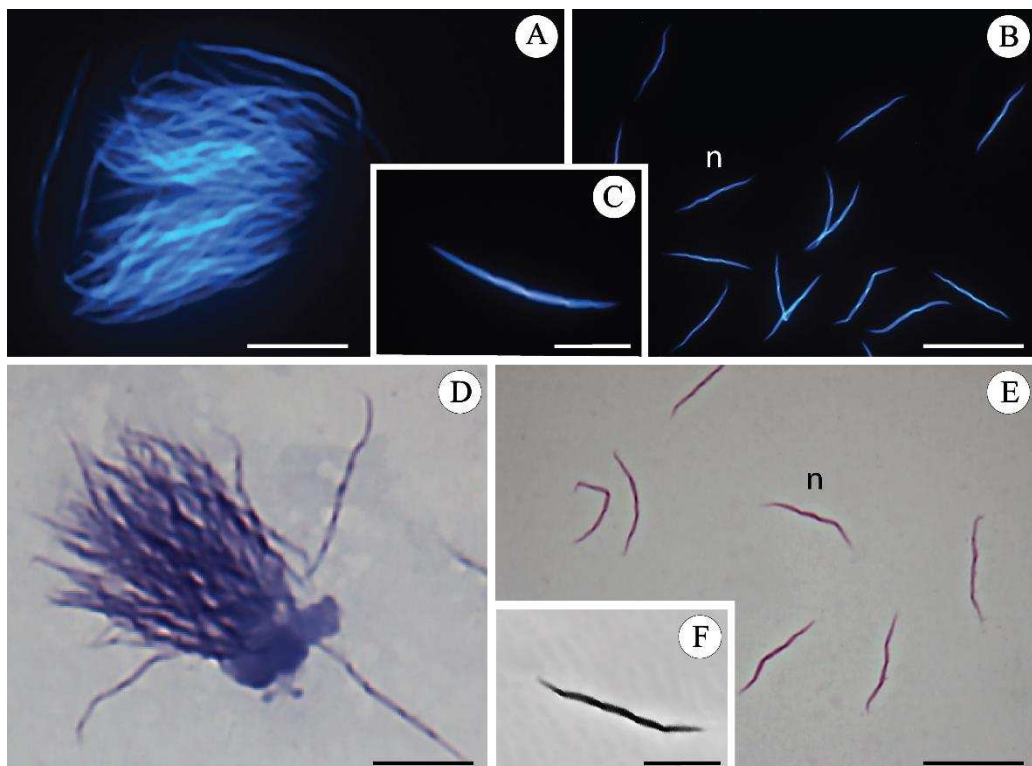


Figura 13 - Espermatozoides de *S. (R.) iguazu* corados com DAPI (A-C) ou com Giemsa (D-F). A, D –Espermatozoides mantidos em feixe por suas regiões anteriores. B, C, E, F – Espermatozoides individualizados. Note que na coloração específica para DNA (DAPI) ou para todo o espermatozoide (Giemsa), essas células possuem o mesmo comprimento, portanto confirmando a ausência de flagelo. Barras: Figuras A-F = 40 μm .

5. DISCUSSÃO

A genitália de *S. (R.) iguazu* possui algumas características morfológicas que a difere da descrição do holótipo apresentado por Flint (1983).

Flint (1983) descreveu *S. (R.) iguazu* mencionando as modificações bizarras no décimo tergito. Ele aponta que não é totalmente ciente que todos os machos coletados por ele (holótipo e parátipos) são da mesma espécie por apresentarem modificações atípicas no décimo tergito em cada região coletada. Vale ressaltar que a genitália da espécie desse trabalho é similar ao parátipo coletado em Nova Teutônia, distrito do município de Seara, Santa Catarina, Brasil, e difere bem das genitálias dos outros parátipos e do holótipo. O espécime coletado em Nova Teutônia e os espécimes em estudo, possuem similaridades como: (i) um nono segmento com um processo anterolateral angulado, (ii) dentículos (dentes) na região ventral do edeago e o (iii) e o formato do edeago. O que denominamos de apêndice inferior de acordo com Desidério *et al.*, (2021), no parátipo que Flint (1983) descreveu de Nova Teutônia, ele chama de clássper. Tanto na ilustração do holótipo quanto nos espécimes aqui estudados, o apêndice inferior é moderadamente longo, de lados paralelos; segmento apical pontiagudo. Assim como descrito por Flint (1983), esta espécie não possui sacos reticulados e no segmento V do abdômen encontram-se os processos glandulares anterolateralmente, mas seguindo Flint (1983), estou tratando essas diferenças como variações intraespecíficas.

O sistema reprodutor masculino de *S. (R.) iguazu* por possuir um par de testículos, um par de ductos deferentes, um par de glândulas acessórias, um bulbo ejaculatório e um ducto ejaculatório, é semelhante ao sistema reprodutor de outras espécies de Trichoptera (Korboot, 1964; Marshall, 1977) e Lepidoptera (Ehrlich, 1961).

A única diferença, é que *S. iguazu* não possui vesículas seminais, o que consequentemente reflete na biologia reprodutiva do inseto.

Os testículos de *S. (R.) iguazu* são piriformes a ovais, com apenas um folículo, localizado dorso-ventralmente nos dois últimos segmentos abdominais, quando comparado a outras espécies de Trichoptera já estudadas, por exemplo, *Cheumatopsyche modica* McLachlan, 1871, outra espécie da família Hydropsychidae (Korboot, 1964). É possível encontrar variações na quantidade de folículos em outras espécies de Trichoptera. Em Hydropsychidae podemos encontrar espécies com apenas um folículo, *Macronema* sp. (Hydropsychidae) e *Smicridea* (*S.*) sp. (Hydropsychidae) (Não publicado). A presença de apenas um folículo não está restrita apenas a Hydropsychidae, como por exemplo, em *Grumichella* sp. (Leptoceridae) (Não publicado). Em outras famílias são encontrados testículos compostos por três pequenos folículos separados como em *Agraylea sexmaculata* Curtis, 1834 (Hydroptilidae) (Marshall, 1977) e em *Triplectides volda* Mosely, 1953 (Leptoceridae), (Korboot, 1964). Portanto, podemos observar que o número de folículos pode variar entre as famílias.

O ducto deferente em *S. iguazu* é longo, semelhante a *C. modica*, *T. volda*, e *Anisocentropus latifascia* Walker, 1852 (Korboot, 1964). Em *A. sexmaculata* o ducto deferente é estreito e com paredes espessas que conduzem os testículos até a região distal do bulbo ejaculatório, porém, esses ductos deferentes se dilatam um pouco antes para formarem o ducto deferente comum mediano. Ao contrário de *S. (R.) iguazu* que não possui um ducto deferente comum, em *A. sexmaculata*, na base do ducto deferente mediano, recebe lateralmente uma glândula acessória (Marshall, 1977).

A glândula acessória presente em *S. (R.) iguazu* é longa, pareada e grande, situada logo na base do bulbo ejaculatório. As glândulas acessórias são uma estrutura que difere entre os insetos, tanto em tamanho, cor, função, forma, localização e número (Khalifa, 1949; Chen, 1984; Happ, 1984; Kaulenas, 1992; Chiang *et al.*, 2012, Gomes *et al.*, 2012; Marchini *et al.*, 2012; Paoli *et al.*, 2014; Dallai *et al.*, 2014). Korboot (1964) descreve as glândulas presentes em *C. modica* com aparência de sacos piriformes membranosos e ocupando grande parte dos segmentos VII e VIII, semelhante a espécie em estudo, porém não pareada, o que é comum em *T. volda* e *A. latifascia*. As glândulas acessórias, por possuírem diferentes formas e tamanhos, também são potencialmente importante caráter taxonômico.

O bulbo ejaculatório presente em *S. (R.) iguazu* é uma estrutura altamente muscular, e é descrito como saco muscular em *C. modica* (Korboot, 1964), em que a presença deste órgão facilita a passagem dos espermatozoides. O ducto ejaculatório em *S. iguazu* é curto e parte basal do bulbo ejaculatório (saco muscular) é conectado ao edeago, como em *C. modica* (Korboot 1964). Korboot (1964) descreve o ducto ejaculatório altamente muscular, e possui uma parede muscular espessa, similar a *A. sexmaculata* (Marshall, 1977; Khalifa, 1949) entretanto, existem variações no tamanho do ducto ejaculatório, como observado em *T. volda* e *A. latifascia* em que o ducto ejaculatório é longo (Korboot 1964).

Nos testículos de todos os indivíduos de *S. (R.) iguazu* que coletamos havia apenas espermatozoides maduros, indicando uma íntima relação com a biologia reprodutiva do inseto. Pois os machos adultos de Trichoptera sobrevivem somente por curto período (Svennson, 1972), apenas o necessário para o encontrar a parceira sexual e acasalar. Contudo, em *Glyphopsyche irrorata* Fabricius, 1781 (Limnephilidae) observou-se que os testículos ainda são imaturos quando emergem (Berté & Pritchard, 1983), o que provavelmente possui uma relação com as condições ambientais. Diferente de muitos outros insetos, nos quais os folículos testiculares possuem cistos nas diferentes fases da espermiogênese (sinspermiogênicos), indicando que produzem espermatozoides ao longo de toda a vida adulta (e. g. Miridae (Pires *et al.*, 2007; Mróz & Wojciechowski, 2011; Mróz, 2012; Rezende *et al.*, 2021), Cimicidae (Davis, 1956), Pentatomidae (Rodrigues *et al.*, 2008; Özyurt *et al.*, 2015), Membracoidea (Jamieson *et al.*, 1999; Araújo *et al.*, 2020), Belostomatidae (Munhoz *et al.*, 2021), Naucoridae (Munhoz *et al.*, 2022)). Em Trichoptera, tudo indica que a produção de espermatozoides é restrita a fase de maturação sexual, a qual provavelmente acontece na fase de pupa (Fiorillo *et al.*, 2008), e os folículos testiculares provavelmente funcionam como um local de armazenamento dos espermatozoides, uma vez que o sistema reprodutor masculino desta espécie não possui vesículas seminais. A presença exclusivamente de espermatozoides em machos adultos e a degeneração testicular observada em *S. (R.) iguazu* também foi relatado em Ephemeroptera (Brito *et al.*, 2011) e em alguns Hymenoptera (Allard *et al.*, 2010; Araújo *et al.*, 2010). Em algumas espécies de Trichoptera, é comum a ocorrência de múltiplas cópulas em tempo muito curto e após a emergência (Khalifa, 1949). Isso é comum em insetos que possuem uma fase adulta reprodutiva muito curta, pois ao emergirem, as vesículas seminais já estão cheias de espermatozoides

e os testículos se encontram atrofiados e histoanatomicamente desorganizados (Damiens & Boinvin, 2005; Fiorillo *et al.*, 2008). A ausência de vesículas seminais em *S. (R.) iguazu* também já foi relatado em outras espécies de Trichoptera (Khalifa, 1949). Segundo Khalifa (1949), nestas espécies os espermatozoides somente são eliminados dos testículos no momento da cópula. A presença do material filamentososo denso nos testículos provavelmente atua como um material de preenchimento fibroso, que sustenta e conduz os espermatozoides até o ducto deferente.

As glândulas acessórias de *S. (R.) iguazu*, sendo longas e possuindo na região proximal um conteúdo homogêneo e na distal, glóbulos proteicos grandes, são similares aquelas de *Anabolia nervosa* Curtis, 1834 (Limnophilidae) (Khalifa, 1949). Khalifa, (1949) também observou duas regiões: uma região proximal, de coloração leitosa, com um grande número de corpos proteicos largos ovais, e outra distal contendo uma secreção vermelha escura gelatinosa. As glândulas acessórias de *S. (R.) iguazu* possuem epitélio simples, de células cúbicas como núcleo elíptico com aglomerados densos de cromatina, como também foi observado em *Hydroptila aegyptia* Ulmer, 1963 (Cianficconi *et al.*, 2016). Contudo, a morfologia dessas células e tipos de secreções podem variar entre as diferentes espécies (Lai-Fook, 1982; Dallai *et al.*, 1999, Marchini *et al.*, 2003; Marchini *et al.*, 2009; Sukontason *et al.*, 2009; Freitas *et al.*, 2010, Moreira *et al.*, 2012; Krüger *et al.*, 2014; Paoli *et al.*, 2014; Özyurt *et al.*, 2015). As glândulas acessórias possuem diversas funções, como, maturar, nutrir e facilitar a passagem do espermatozoide para o ducto ejaculatório, e fluidos com nutrientes que podem alterar a fisiologia ou comportamento da fêmea (Leopold 1976;) desenvolvendo secreções que funcionam como tampões pós cópula (Bishop 1920; Bairati e Perotti, 1970) ou espermatóforos (Tuzet 1977), Em insetos, as glândulas acessórias são classificadas de acordo com a origem embrionária e esta é indicada pela associação delas aos ductos espermáticos: mesadenias quando de origem mesodérmica e então desembocando nos ductos deferentes, e ectadenias quando de origem ectodérmica desembocando no ducto ejaculatório (Leopold, 1976; Gullan e Cranston, 2014). Dessa forma, as glândulas acessórias de *S. (R.) iguazu* são consideradas ectadenias, pois estão associadas ao bulbo ejaculatório. Isso difere dos Lepidoptera (Lai-Fook, 1982), os quais possuem dois pares de glândulas acessórias: um de origem mesodérmica e outro ectodérmica.

Espermatozoides aflagelados e imóveis, como ocorre em *S. (R.) iguazu*, também foram observados na subordem Integripalpia em espécies dos gêneros

Hydroptila, *Orthotrichia* e *Stactobia* (Hydroptilidae). Contudo, em outras espécies de Hydropsychidae (Annulipalpia), foram encontrados espermatozoides flagelados, embora aberrantes devido a presença de muitas duplas de microtúbulos no axonema (Friedlander & Morse, 1982; Dallai & Afzelius, 1995). Segundo Dallai e Afzelius (1995), em estudos ultraestruturais, os espermatozoides de espécies da subordem Integripalpia são flagelados e móveis, já da subordem Annulipalpia são aflagelados e imóveis, o que contrasta com a espécie em estudo.

A ausência do flagelo não é algo incomum entre os insetos, tendo sido relatados nas ordens: Ephemeroptera (Gaino & Mazzini, 1991), Hemiptera (Báo *et al.*, 1997) e na maioria de cupins (Blattodea – Isoptera) (e.g. *C. gestroi*) (Grassé, 1949; Jamieson, 1987). em Coccoidea, os espermatozoides possuem motilidade, porém são descritos como “bizarros” devido aos arranjos dos microtúbulos na cauda, sendo classificado, portanto como aflagelado (Robinson, 1966; Ross & Robinson, 1969; Robinson, 1972). A ausência de acrossomo observada em *S. (R.) iguazu* também foi descrita por Baccetti, *et al.*, (1970) em outro Trichoptera, *Mystacides azurea* Linnaeus, 1761 (Integripalpia: Leptoceridae). Essa característica é incomum, mas tem sido observada esporadicamente em insetos de outras ordens como, por exemplo, Hymenoptera (Lino-Neto & Dolder, 2001), Coleoptera (Furieri, 1963 apud Baccetti, *et al.*, 1970) e Neuroptera (Baccetti, 1969 apud Baccetti, *et al.*, 1970).

Quanto ao comprimento, os espermatozoides em Trichoptera possuem medidas variáveis, como é comum nos insetos em geral, mas podem ser considerados bastante curtos quando comparados, por exemplo, com seu grupo-irmão Lepidoptera. Em *S. (R.) iguazu*, essas células, com cerca de 40 µm de comprimento, são relativamente longas para a ordem, visto que em *Orthotrichia costalis* Curtis, 1834 (Hydroptilidae) mediram cerca de 7-10 µm, em *Stactobia caspersi* Ulmer, 1950 (Hydroptilidae) 7-8 µm e em *Hydropsyche pellucidula* Curtis, 1834 (Hydropsychidae) por volta de 25 µm (Dallai & Afzelius, 1995). Em Lepidoptera, os espermatozoides variam de 100 µm (*Micropterix* sp. (Sonnenschein, & Häuser, 1990) a 2.500 µm (*Leucoptera coffela* Guérin-Méneville, 1842 (Alves *et al.*, 2006).

O polimorfismo espermático é comumente observado nos Lepidoptera, nestes são encontrados espermatozoides nucleados (eupirenes) e anucleados (apirenes) no mesmo indivíduo (Phillips, 1971; Jamieson, 1987; Jamieson *et al.*, 1999; Swallow & Wilkinson, 2002; Alves *et al.*, 2006). Isso contrasta com os Trichoptera, nos quais se encontram apenas espermatozoides eupirenes. A presença de espermatozoides

eupirenes possivelmente seja uma condição sinapomórfica em Amphiesmenoptera, visto que o grupo-irmão dos demais Lepidoptera, *Micropterix* (Micropterigidae), apresenta também apenas espermatozoides eupirenes (Sonnenschein & Hauser, 1990; Hamon & Chauvin, 1992).

De acordo com os dados morfoanatômicos e espermáticos descritos acima, observou-se uma grande variação intraespecífica em Trichoptera. Esses dados sobre a morfologia e as semelhanças compartilhadas poderão minimizar as incertezas e lacunas sobre as relações filogenéticas entre as espécies e famílias das subordens Annulipalpia e Integripalpia com a ampliação de novos estudos.

6. CONCLUSÃO:

- A diagnose de *Smicridea (Rhyacophylax) iguazu* apresenta as mesmas informações segundo a descrição de Flint (1983).

- *S. (R.) iguazu*, através de uma nova representação da genitália, demonstrou que se trata do parátipo descrito por Flint (1983), corroborando com informações mais detalhadas.

- O sistema reprodutor de *S. (R.) iguazu* é similar àqueles já encontrados em Trichoptera e Lepidoptera, porém, exceto pela ausência de vesículas seminais.

- Os testículos são preenchidos por apenas espermatozoides maduros na fase adulta e por uma matriz filamentosa densa.

- As informações aqui descritas sobre o SRM de *S. (R.) iguazu* são subsídios para uma melhor compreensão da biologia reprodutiva de Trichoptera.

- Os espermatozoides de *S. (R.) iguazu* são monotipo, aflagelados e imóveis. A presença de espermatozoides eupirenes possivelmente seja uma condição sinapomórfica em Amphiesmenoptera.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afzelius, B.A., Bellon, P.L., Dallai, R. & Lanzavecchia, S. (1991). Diversity of microtubular doublets in insect sperm tail: a computer aided image analysis. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 19, 282-89.

- Albino, J. (2009). Taxonomia do gênero *Smicridea* McLachlan (Trichoptera: Hydropsychidae) de três estados da Amazônia. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 100pp.
- Albino, J.L.D., Pes, A.M., & Hamada, N. (2011). *Smicridea* (Trichoptera, Hydropsychidae) from 3 Brazilian Amazonian states: new species, larval taxonomy and bionomics. *Zootaxa*, 3113(1), 1-35.
- Allard, D., Ito, F., Aikawa, Y., Gotoh, A., & Billen, J. (2011). Testes degeneration in ants: a histological study of *Gnamptogenys bicolor*. *Acta Zoologica*, 92(4), 372-376.
- Alves, L., Mancini, K., Lino-Neto, J., & Dolder, H. (2006). Morphology of the male reproductive system and sperm ultrastructure of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Acta Zoologica*, 87(2), 131-139.
- Angrisano, E.B. (1995). Insecta Trichoptera. In: Lopretto, E.C.; Tell, G. (Eds). *Ecosistemas de Aguas Continentales: metodologias para su estudio*. Ediciones Sur, La Plata, Argentina. 3, 1199-1237.
- Angrisano, E.B. (1998). Trichoptera. In: Morrone, J.J., Coscarón, S. *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos: Una Perspectiva Biotaxonomica*. Ediciones Sur, La Plata, Argentina. 374-384.
- Araújo, V. A., Bacca, T., & Gomes-Dias, L. (2020). Histological structure of the treehopper male reproductive system *Aethalium reticulatum* (Hemiptera: Aethalionidae). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 24(2), 127-137.
- Araújo, V.A., Freitas, F.V., Moreira, J., Neves, C.A., & Lino-Neto, J. (2010). Morphology of male reproductive system of two solitary bee species (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 39, 595-600.
- Baccetti, B. (1969). The spermatozoon of Arthropoda. III. The lowest holometabolic insects. *Journal Microscopy*, Paris, 8, 233-248.
- Baccetti, B., Afzelius B.A. (1976). The biology of the sperm cell. *Monographs in Developmental Biology*, (10), 1-254.

- Baccetti, B., Dallai, R. & Rosati, F. (1970). The Spermatozoon of Arthropoda: VII. Plecoptera and Trichoptera, *Journal of Ultrastructure Research*, 31(3–4), 212-228.
- Bairati, A., & Perotti, M. E., (1970). Occurrence of a compact plug in the genital duct of *Drosophila* females after mating, *Drosophila Inj. Servo* 45, 67-68.
- Báo, S.N., Kitajima, E.W., Callaini, G., Lupetti, P., & Dallai, R. (1997). Spermiogenesis in three species of whitefly (Homoptera, Aleyrodidae). *Acta Zoologica*, 78(2), 163-170.
- Berté, S.B., & Pritchard, G. (1983). The life history of *Glyphopsyche irrorata* (Trichoptera, Limnephilidae): a caddisfly that overwinters as an adult. *Ecography*, 6(1), 69-73.
- Bishop, G. H., (1920). Fertilization in the honey-bee. I. The male sexual organs: Their histological structure and physiological functioning, *J. Exp. Zool.* 31, 225-265.
- Blahnik, R.J. (1995). New species of *Smicridea* (subgenus *Smicridea*) from Costa Rica, with a revision of the fasciatella complex (Trichoptera: Hydropsychidae). *Journal of the North American Benthological Society*, 14(1), 84-107.
- Blahnik, R.J., & Holzenthal, R.W. (2004). Collection and curation of Trichoptera, with an emphasis on pinned material. *Nectopsyche, Neotropical Trichoptera Newsletter*, 1, 8-20.
- Blahnik, R.J., Holzenthal, R.W., Prather, A.L., Bueno-Soria, J., Barba-Álvarez, R., & Armitage, B.J. (2007). The lactic acid method for clearing Trichoptera genitalia. In *Proceedings of the 12th International Symposium on Trichoptera*. The Caddis Press, Columbus, Ohio, 9-14.
- Brito, P., Salles, F.F., & Dolder, H. (2011). Characteristics of the male reproductive system and spermatozoa of Leptophlebiidae (Ephemeroptera). *Neotropical Entomology*, 40(1), 103-107.
- Calor, A.R. (2007). Trichoptera. In: *Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo*. Froehlich, C.G. (org.). Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>

- Calor, A.R. (2009). Considerações Acerca da Filogenia de Trichoptera Kirby 1813: da Análise dos Dados para as Hipóteses ou dos Cenários para os Dados. *EntomoBrasilis*, 2(1), 1-10.
- Calor, A.R. (2011). Checklist dos Trichoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, 11(1), 619-630.
- Chen, P.S. (1984). The functional morphology and biochemistry of insect male accessory glands and their secretions. *Annual Review of Entomology*, 29(1), 233-255.
- Chiang, R.G., Chiang, J.A., Sarquis, O., & Lima, M.M. (2012). Morphology of reproductive accessory glands in eight species of blood-feeding Hemiptera (Hemiptera, Reduviidae) insect vectors of Chagas disease. *Acta Tropica*, 122(2), 196-204.
- Cianficconi, F., Corallini, C., Tucciarelli, F., & Bicchierai, M. C. (2016). The genus *Hydroptila* Dalman 1819 in Italy: Ecology and morphology. *Zoosymposia*, 10, 117-147.
- Dallai R., Gottardo, M. & Beutel, R.G. (2016). Structure and Evolution of Insect Sperm: New Interpretations in the age of phylogenomics. *Annual Review of Entomology*, 61, 1-23.
- Dallai, R. & Afzelius, B.A. (1993). Substructure of the Axoneme of Pterygote Insect Spermatozoa: Phylogenetic Considerations. *Int. Journal of Insect Morphology and Embryology*, 22(2-4), 449-458.
- Dallai, R. & Afzelius, B.A. (1995). Sperm Structure of Trichoptera. II. The Aflagellated Spermatozoa of *Hydroptila*, *Orthotrichia* and *Stactobia* (Hydroptilidae). In: *Journal of Insect Morphology and Embryology*, 24(2), 161-170.
- Dallai, R., & Afzelius, B.A. (1994). Sperm structure of Trichoptera. I. Integripalpia: Limnephiloidea. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 23(3), 197-209.
- Dallai, R., Frati, F., Lupetti, P., & Fanciulli, P.P. (1999). Ultrastructure of the male accessory glands of *Allacma fusca* (Insecta, Collembola). *Tissue and Cell*, 31(2), 176-184.

- Dallai, R., Gottardo, M., Mercati, D., Machida, R., Mashimo, Y., Matsumura, Y., & Beutel, R.G. (2014). Giant spermatozoa and a huge spermatheca: a case of coevolution of male and female reproductive organs in the ground louse *Zorotypus impolitus* (Insecta, Zoraptera). *Arthropod Structure & Development*, 43(2), 135-151.
- Dallai, R., Lupetti, P. & Afzelius, B.A. (1994). Sperm Structure of Trichoptera. III. Hydropsychidae, Polycentropodidae and Philopotamidae (Annulipalpia). *Ent. Journal of Insect Morphology and Embryology*, 24: 171-183.
- Dallai, R., Lupetti, P., & Afzelius, B.A. (1995). Sperm structure of Trichoptera. IV. Rhyacophilidae and Glossosomatidae. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 24(2), 185-193.
- Dallai, R. & Afzelius, B.A. (1990). Microtubular diversity in insect spermatozoa. Results obtained with a new fixative. *Journal of Structural Biology*. 103: 164-79.
- Damiens, D., & Boivin, G. (2005). Male reproductive strategy in *Trichogramma evanescens*: sperm production and allocation to females. *Physiological Entomology*, 30(3), 241-247.
- Davis, N. T. (1956). The morphology and functional anatomy of the male and female reproductive systems of *Cimex lectularius* L. (Heteroptera, Cimicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 49(5), 466-493.
- De Queiroz, J. F., Ferraz, J., Silveira, M. P., Sitton, M., Marigo, A. L. S., Carvalho, M. P., & Ribacinko, D. B. (2008). Avaliação preliminar da qualidade da água em duas microbacias do Rio Mogi (SP). Embrapa Meio Ambiente-Circular Técnica (INFOTECA-E).
- Desidério, G. R., Rázuri-Gonzales, E., Pes, A. M., & Hamada, N. (2020). *Smicridea* (*Smicridea*) *nigripennis* species group (Trichoptera: Hydropsychidae) from Brazil: new species, new distributional records and an identification key. *Austral Entomology*, 59(2), 265-279.
- Desidério, G.R., Pes, A.M., Andrade-Souza, V., & Hamada, N. (2021). The *Smicridea* (*Smicridea*) *fasciatella* species group (Trichoptera: Hydropsychidae) in Brazil: six new species and new distributional records. *European Journal of Taxonomy*, 750, 156-196.

- Ehrlich, P. (1961). Comparative morphology of the male reproductive system of the butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea). *Microentomology*, 24, 135–166.
- Fiorillo, B.S., Lino-Neto, J., & Bao, S.N. (2008). Structural and ultrastructural characterization of male reproductive tracts and spermatozoa in fig wasps of the genus *Pegoscapus* (Hymenoptera, Chalcidoidea). *Micron*, 39(8), 1271-1280.
- Flint, O.S. (1974). Studies of Neotropical caddisflies XVII: the genus *Smicridea* from North and Central America (Trichoptera: Hydropsychidae).
- Flint, O.S. (1978). Studies of Neotropical caddisflies. XXII: Hydropsychidae of the Amazon basin (Trichoptera). *Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systematis Fluminis Amazonas*, 6(3), 373-421.
- Flint, O.S. (1983). Studies of Neotropical caddisflies, XXXIII: new species from austral South America (Trichoptera). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 377, 60-61.
- Flint, O.S. (1989). Studies of Neotropical caddisflies, XXXIX: the genus *Smicridea* in the Chilean Subregion (Trichoptera: Hydropsychidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 472, 1-45.
- Flint, O.S., R.W. Holzenthal, & S.C. Harris. (1999). Catalog of the Neotropical caddisflies (Insecta: Trichoptera). Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio. 239pp.
- Frania, H.E. & Wiggins, G.B. (1997). Analysis of morphological and behavioural evidence for the phylogeny and higher classification of Trichoptera (Insecta). *Life Sciences Contributions, Royal Ontario Museum*, 160, 1–67.
- Freitas, S.P.C., Gonçalves, T.C.M., Serrao, J.E., Costa, J., & Santos-Mallet, J.R. (2010). Male reproductive system structure and accessory glands ultrastructure of two species of *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Micron*, 41(5), 518-525.
- Friedlander, M. & Eren Jeger, R. (1990). Phylogenesis of Spermatogenesis in Annulipalpia Caddisflies: An Ultrastructural Analysis on Phylopotamidae Spermogenesis. *Journal of Ultrastructure Research*, 105, 75-79.

- Friedlander, M. (1983). Phylogenetic branching of Trichoptera and Lepidoptera: an ultrastructural analysis on comparative spermatology. *Journal of Ultrastructure Research*, 83(2), 141-147.
- Friedlander, M. (1993). Phylogenetic Position of Rhyacophiloid Caddisflies (Insecta, Trichoptera): A Spermatological Analysis of Rhyacophilidae and Glossosomatidae. *Zoologica Scripta*, 22(3), 299-304.
- Friedlander, M., & Morse, J. C. (1982). The aberrant spermatozoa of Hydropsychidae caddisflies (Trichoptera): An electron microscope analysis on spermiogenesis. *Journal of Ultrastructure Research*, 78(1), 84-94.
- Friedlander, M., & Wahrman, J. (1971). The number of centrioles in insect sperm: a study in two kinds of differentiating silkworm spermatids. *Journal of Morphology*, 134(4), 383-397.
- Furieri, P. (1963). Aspetti morfologici della spermiogenesi di *Oryctes grypus* Illig. *Redia*, 48, 29-40.
- Gaino, E., & Mazzini, M. (1991). Aflagellate sperm in three species of Leptophlebiidae (Ephemeroptera). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 20(3), 119-125.
- Geraci, C. J., Kjer, K. M., Morse, J. C., & Blahnik, R. J. (2005). Phylogenetic relationships of Hydropsychidae subfamilies based on morphology and DNA sequence data. In: *Proceedings of the 11th International Symposium on Trichoptera*. Tokai University Press, Kanagawa, Japan, 131-136.
- Gomes, L.F., Badke, J.P., Zama, U., Dolder, H., & Lino-Neto, J. (2012). Morphology of the male reproductive system and spermatozoa in *Centris* Fabricius, 1804 (Hymenoptera: Apidae, Centridini). *Micron*, 43(6), 695-704.
- Grassé, P. P. (1949). Ed. *Traite de zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Tome VI. Onychophores, Tardigrados, Arthropodes, Trilobtomorphes, Gbélécérates*. Ed. *Traite de zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Tome VI. Onychophores, Tardigrados, Arthropodes, Trilobtomorphes, Gbélécérates*, 408-544.

- Gullan, P.J., & Cranston, P.S. (2014). *The insects: an outline of entomology*. John Wiley & Sons.
- Hamon, C., & Chauvin, G. (1992). Ultrastructural analysis of spermatozoa of *Korscheltellus lupulinus* L. (Lepidoptera: Hepialidae) and *Micropterix calthella* L. (Lepidoptera: Micropterigidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 21(2), 149-160.
- Happ, G. M. (1984). Structure and development of male accessory glands in insects. In *Insect Ultrastructure* Springer. 365-396.
- Happ, G.M. (1984). Structure and development of male accessory glands in insects. *Insect Ultrastructure*, 365-396.
- Holzenthahl, R.W., & Blahnik, R.J. (1995). New species of *Smicridea* (*Rhyacophylax*) (Trichoptera: Hydropsychidae) from Costa Rica. *Entomological News*, 106(5), 213-223.
- Holzenthahl, R.W., Blahnik, R.J., Prather, A.L., Kjer, K.M. (2007a). An update on the phylogeny of caddisflies (Trichoptera), 143-153 In: Bueno-Soria, J., Barba-Álvarez, R., Armitage B. (Eds.). *Proceedings of the 12th International Symposium on Trichoptera*. The Caddis Press. 378pp.
- Holzenthahl, R.W., Blahnik, R.J., Prather, A.L., Kjer, K.M. (2007b). Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies. *Zootaxa*, 1668, 639–698.
- Holzenthahl, R.W., Morse, J.C., & Kjer, K. M. (2011). Order Trichoptera Kirby, 1813. In: Zhang, Z.Q. (Ed.) *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa*, 3148(1), 209-211.
- Huamantínco, A.A., Nessimian, J.L. (1999). Estrutura e Distribuição Espacial da Comunidade de Larvas de Trichoptera (Insecta) em um Tributário de Primeira Ordem do Rio Paquequer, Teresópolis, RJ. *Acta Limnológica Brasiliensia*, 11, 1-16.
- Ivanov, V.D. (2002). Contribution to the Trichoptera phylogeny: new family tree with considerations of Trichoptera-Lepidoptera relations. *Nova Supplementa Entomologica* (Proceedings of the 10th International Symposium on Trichoptera), 15, 277–292.

- Jamieson, B.G., & Jamieson, J.B.G. (1987). The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa. Cambridge University Press Archive. 320pp.
- Jamieson, B.G.M., Dallai, R. & Afzelius, B.A. (1999). Insects: their spermatozoa and phylogeny. Enfield, New Hampshire: Science Publishers Inc., 555pp.
- Kaulenas, M.S. (1992). Structure and function of the female accessory reproductive systems. In: Insect Accessory Reproductive Structures. Springer, Berlin, Heidelberg, 33-121.
- Khalifa, A. (1949). Spermatophore production. In: Trichoptera and some other insects. Transactions of the Royal Entomological Society of London. 100, 449-471.
- Kjer, K. M., Blahnik, R. J., Holzenthal, R. W. (2001). Phylogeny of Trichoptera (Caddisflies): Characterization of Signal and Noise Within Multiple Datasets. Systematic Biology, 50, 781–816.
- Kjer, K.M. (2004). Aligned 18S and Insect Phylogeny. Systematic Biology. 53, 506–514.
- Kjer, K.M., Blahnik, R.J., Holzenthal, R.W. (2002). Phylogeny of caddisflies (Insecta, Trichoptera). Zoologica Scripta, 31, 83–91.
- Klein, C. & Wolf, K.W. (1997). Spermatoocytes of the caddisfly *Potamophylax rotundipennis* (Trichoptera, Insecta): a fine structure study with emphasis on synaptonemal complex plates associated with chromatin. Tissue & Cell, 29 (3), 283-291.
- Klingstedt, T. H. (1931). Digamete beim Weibchen der Trichoptere *Limnophilus decipiens* Kol.: Nebst Erörterungen zur Theorie der Geschlechtsvererbung. Acta Zoologica Fennica, 10, 1-69.
- Korboot, K. (1964). Comparative studies of the external and internal anatomy of three species of caddisflies (Trichoptera). University of Queensland Papers, 2(1), 1-44.
- Kristensen, N.P. (1975). The Phylogeny of Hexapod "Orders". A Critical Review of Recent Accounts. Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung 13, 1–44.

- Kristensen, N.P. (1991). Phylogeny of Extant Hexapods. In: C.S.I.R.O. (Ed.) *The Insects of Australia*, Cornell University Press, Ithaca. 125–140.
- Krueger, S., Ferenz, H.J., Randall, M., & Hodgson, A.N. (2014). Structure of the male reproductive accessory glands of *Pterostichus nigrita* (Coleoptera: Carabidae), their role in spermatophore formation. *Invertebrate Reproduction & Development*, 58(2), 75-88.
- Lai-Fook, J. (1982). Structure of the accessory glands and duplex of the internal male reproductive system of *Calpodes ethlius* (Hesperiidae, Lepidoptera). *Canadian Journal of Zoology*, 60(6), 1202-1215.
- Leopold, R. A., (1976). The role of male accessory glands in insect reproduction, *Annual Review of Entomology*. 21, 199-221.
- Leopold, R.A. (1976). The role of male accessory glands in insect reproduction. *Annual Review of Entomology*, 21, 199-221.
- Lino-Neto, J., & Dolder, H. (2001). Ultrastructural characteristics of the spermatozoa of Scelionidae (Hymenoptera, Platygastridae) with phylogenetic considerations. *Zoologica Scripta*, 30(2), 89-96.
- Lutman, B.F. (1910). The spermatogenesis of the caddisfly (*Platyphylax designatus* Walker) *Biology Bulletin*, 19, 55-72.
- Malm, T., Johanson, K.A. & Wahlberg, N. (2013). The evolutionary history of Trichoptera (Insecta): A case of successful adaptation to life in freshwater. *The Royal Entomological Society. Systematic Entomology*, 38, 459–473.
- Marchini, D., Brundo, M.V., Sottile, L., & Viscuso, R. (2009). Structure of male accessory glands of *Bolivarius siculus* (Fischer) (Orthoptera, Tettigoniidae) and protein analysis of their secretions. *Journal of Morphology*, 270(7), 880-891.
- Marchini, D., Del Bene, G., Cappelli, L., & Dallai, R. (2003). Ultrastructure of the male reproductive accessory glands in the medfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and preliminary characterization of their secretions. *Arthropod structure & development*, 31(4), 313-327.
- Marchini, D., Del Bene, G., Viscuso, R., & Dallai, R. (2012). Sperm storage by spermatoduses in the spermatheca of *Trioza alacris* (Flor, 1861) Hemiptera,

- Psylloidea, Triozidae: a structural and ultrastructural study. *Journal of Morphology*, 273(2), 195-210.
- Mari, I. P., Gigliolli, A. A. S., Nanya, S., & de Brito Portela-Castro, A. L. (2018). Histological and electron microscopy observations on the testis and spermatogenesis of the butterfly *Dione juno* (Cramer, 1779) and *Agraulis vanillae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae). *Micron*, 109, 11-21.
- Marshall, J.E. (1977). Studies on the Hydroptilidae (Trichoptera), Morphology, Phylogeny, Taxonomy and Distribution – London – Thesis – Department of Entomology, British Museum (Natural History), 1-629.
- Merritt, Richard W. & Cummins, Kenneth W. (1996). An introduction to the aquatic insects of North America. Kendall Hunt.
- Mey, W., Wichard, W., Müller, P., & Wang, B. (2017). The blueprint of the Amphiesmenoptera–Tarachoptera, a new order of insects from Burmese amber (Insecta, Amphiesmenoptera). *Fossil Record*, 20(2), 129-145.
- Moreira, J., Brito, P., Mancini, K., Dolder, H., & Lino-Neto, J. (2012). The descriptions of new microanatomical structures of the male reproductive system and sperm of *Myschocyttarus cassununga* (Hymenoptera: Vespidae). *Micron*, 43(2-3), 292-297.
- Moretti, M. S., Gonçalves, J. F., Ligeiro, R., & Callisto, M. (2007). Invertebrates colonization on native tree leaves in a neotropical stream (Brazil). *International Review of Hydrobiology*. 92 (2), 199-210.
- Morse, J.C. (2021). Trichoptera World Checklist. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> [Accessed 28 May 2021.]
- Mróz, E. (2012). The structure of the male reproductive system of the genus *Psallus* Fieber (Hemiptera: Heteroptera: Miridae). *Polish Journal of Entomology*, 81(2), 107.
- 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), 1563-1588.

- Munhoz, I. L. A., Serrão, J. E., Dias, G., Lino-Neto, J., de Melo, A. L., & Araújo, V. A. (2021). Anatomy and histology of the male reproductive tract in giant water bugs of the genus *Belostoma* Latreille, 1807 (Heteroptera, Belostomatidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 41(1), 303-311.
- Munhoz, I. L. A., Serrão, J. E., Melo, A. L. D., Martins, L. C. B., & Araújo, V. A. (2022). Anatomy and histology of the male reproductive tract in creeping water bugs (Heteroptera: Naucoridae). *Acta Zoologica*, 103(4), 433-441.
- Neboiss, A. (1991). Trichoptera. In: Nauman, I.D., Carne, P.B., Laurence, J.F., Nielsen, E.S., Spradbury, J.P. (Eds.). *The Insects of Australia: A Textbook for Students and Researchs Workers*, Ithaca: NY: Cornell University Press, 2, 787-816.
- Oliveira, A., Morgan, F. L., Moreno, P., & Callisto, M. (2005). Inventário da fauna de insetos aquáticos na estação Ambiental de Peti (CEMIG). *Anais da ANEEL–projeto Peti/UFMG*. Belo Horizonte, EDUFMG. 25-30.
- Özyurt, N., Candan, S., & Suludere, Z. (2015). Ultrastructure of male reproductive system of *Eurydema ventrale* Kolenati 1846 (Heteroptera: Pentatomidae). *Microscopy Research and Technique*, 78(8), 643-653.
- Paoli, F., Dallai, R., Cristofaro, M., Arnone, S., Francardi, V., & Roversi, P.F. (2014). Morphology of the male reproductive system, sperm ultrastructure and γ -irradiation of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera: Dryophthoridae). *Tissue and Cell*, 46(4), 274-285.
- Paprocki, H. & Holzenthal, R. W. (2002). A review of the brazilian genus *Barypenthus* Burmeister (Trichoptera: Odontoceridae). *Nova Supplementa Entomologica*, 15, 223-230.
- Paprocki, H., Holzenthal, R.W., Blahnik, R. (2004). Checklist of the Trichoptera (Insecta) of Brazil. *Biota Neotropica*, 4(1), 1-22.
- Pes, A.M., Holzenthal, R.W., Sganga, J.V., Santos, A.P., Barcelos-Silva, P., & Camargos, L.M. (2018). Order Trichoptera. In: Thorp and Covich's *Freshwater Invertebrates Academic Press*, 237-324.

- Pes, A.M., Santos, A.P.M., Barcelos-Silva, P., Camargos, L.M. (2014). Ordem Trichoptera. In: Hamada, N., Nessimian, J.L., Querino, R.B. (Eds). Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia. Editora do INPA, Manaus, Amazonas, 391-433.
- Pes, A.M.O., Hamada, N., Nessimian, J.L. (2005). Chaves de identificação de larva para famílias e gêneros de Trichoptera (Insecta) da Amazônia Central, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(2), 181-204.
- Pes, A.M.O., Santos, A.P.M. (2022). Hydropsychidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/14819>>. Acesso em: 21 Jul. 2022
- Pezenti, L. F., Levy, S. M., de Souza, R. F., Sosa-Gómez, D. R., & da Rosa, R. (2021). Testes morphology and the identification of transcripts of the hormonal pathways of the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae). *Arthropod Structure & Development*, 65, 101111.
- Phillips, D.M. (1970). In: Baccetti, B. (Ed.), *Comparative Spermatology*, Academic Press, 263-273.
- Phillips, D.M. (1971). Morphogenesis of the laciniate appendages of lepidopteran spermatozoa. – *Journal of Ultrastructural Research* 34, 567–585.
- Phillips, D.M. (1974). *Spermiogenesis*, Academic Press, New York.
- Pires, E.M., Ferreira, P.S., Guedes, R.N., & Serrão, J.E. (2007). Morphology of the phytophagous bug *Platyscytus decempunctatus* (Carvalho) (Heteroptera: Miridae). *Neotropical Entomology*, 36, 510-513.
- Rezende, P. H., Dias, G., Folly, C., & Lino-Neto, J. (2021). Male reproductive system and sperm morphology of Eccritotarsini plant bugs (Heteroptera: Miridae). *Zoomorphology*, 140(2), 257-267.
- Robison Jr, W.G. (1966). Microtubules in relation to the motility of a sperm syncytium in an armored scale insect. *The Journal of Cell Biology*, 29(2), 251-265.
- Robison Jr, W.G. (1972). Microtubular patterns in spermatozoa of coccid insects in relation to bending. *The Journal of Cell Biology*, 52(1), 66-83.

- Rodrigues, A. R., Serrao, J. E., Teixeira, V. W., Torres, J. B., & Teixeira, A. A. (2008). Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisus nigrispinus*. *Journal of Insect Physiology*, 54(12), 1543-1551.
- Rosenberg, D. M. & Resh, V. H. (1993). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates* Chapman and Hall. New York. 1-488.
- Ross, J., & Robison Jr, W.G. (1969). Unusual microtubular patterns and three-dimensional movement of mealybug sperm and sperm bundles. *The Journal of Cell Biology*, 40(2), 426-445.
- Santos, A.P.M., Dumas, L.L., Henriques-Oliveira, A.L., Souza, W.R.M., Camargos, L.M., Calor, A.R., Pes, A.M.O (2022). Trichoptera. In: *Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil*. PNUD. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/278>>. Acesso em: 21 Jul. 2022
- Santos, A.P.M., Dumas, L.L., Jardim, G.A., Silva, A.L.R. & Nessimian, J.L. (2016) *Brazilian Caddisflies: Checklists and Bibliography*. Available from: <https://sites.google.com/site/braziliancaddisflies> (accessed 26 September 2022).
- Scheffer, P.W. (1996). Phylogenetic relationships among subfamily groups in the Hydropsychidae (Trichoptera) with diagnoses of the Smicrideinae, new status, and the Hydropsychinae. *Journal of the North American Benthological Society*, 15(4), 615-633.
- Scheffer, P.W. (2005). Re-evaluation of genera in the subfamily Hydropsychinae (Trichoptera: Hydropsychidae). *Aquatic Insects*, 27(2), 133-154.
- Sganga, J.V., & Fontanarrosa, M.S. (2006). Contribution to the knowledge of the preimaginal stages of the genus *Smicridea* McLachlan in South America (Trichoptera: Hydropsychidae: Smicrideinae). *Zootaxa*, 1258(1), 1-15.
- Shen, S. K., & Berryman, A. A. (1967). The male reproductive system and spermatogenesis of the European pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Olethreutidae), with observations on the effects of gamma irradiation. *Annals of the Entomological Society of America*, 60(4), 767-774.

- Sonnenschein, M., & Häuser, C.L. (1990). Presence of only eupyrene spermatozoa in adult males of the genus *Micropterix* Hübner and its phylogenetic significance (Lepidoptera: Zeugloptera, Micropterigidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 19(5-6), 269-276.
- Sukontason, K.L., Chaiwong, T., Chaisri, U., Vogtsberger, R.C., & Sukontason, K. (2009). Ultrastructure of male accessory glands of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Vector Ecology*, 34(2), 294-303.
- Svensson, B.W. (1972). Flight periods, ovarian maturation, and mating in Trichoptera at a South Swedish stream. *Oikos*, 370-383.
- Swallow, J.G., & Wilkinson, G.S. (2002). The long and short of sperm polymorphisms in insects. *Biological Reviews*, 77(2), 153-182.
- Thomas, J.A., Frandsen, P.B., Prendini, E., Zhou, X., & Holzenthal, R.W. (2020). A multigene phylogeny and timeline for Trichoptera (Insecta). *Systematic Entomology*, 45(3), 670-686.
- Tuzet, O., (1977). Les spermatophores des insectes, *Traite Zool.* 8(5A):277-330.
- Ward, J.V. (1992). *Aquatic Insect Ecology: 1 Biology and Habitat*. New York. John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. 438p.
- Weaver, J.S., III. (1984). The Evolution and Classification of Trichoptera. Part I: The Groundplan of Trichoptera. In: Morse, J.C. (Ed.) *Proceedings of the 4th International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk, The Hague, 413–419.
- Wheeler, W.C., Whiting, M. F., Wheeler, Q. D., Carpenter, J. M. (2001). The phylogeny of extant insect orders. *Cladistics*. 17, 113-169.
- Whiting, M.F. (2002). Phylogeny of the holometabolous insect orders: Molecular evidence. *Zoological Scripta*, 31, 3–15.
- Wiggins, G.B. (1996). Larvae of the North American caddisfly genera (Trichoptera). In *Larvae of the North American Caddisfly Genera (Trichoptera)*. University of Toronto Press.
- Wiggins, G.B. (2004). *Caddisflies: the underwater architects*. University of Toronto Press, Toronto. 292p.

- Wolf, K. W. & Klein, C. (1995a). Development of the sperm head in the caddisfly *Potamophylax rotundipennis* (Trichoptera, Insecta). *Zoomorphology*, 115, 109-115.
- Wolf, K. W. & Klein, C. (1995b). The basal bodies in spermatids of a caddisfly, *Potamophylax rotundipennis* (Limnephilidae, Trichoptera), Possess a Central Pair of Microtubules. *Journal of Structural Biology*, 115, 60-67.