

KAREN ANDREA SALAZAR NIÑO

**MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS REPRODUTIVAS MESO  
E ECTODÉRMICAS FEMININAS E MASCULINAS EM  
PASSALIDAE (COLEOPTERA) DA MATA ATLÂNTICA DE  
MINAS GERAIS, BRASIL**

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*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2015

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

T

S159a  
2015

Salazar Niño, Karen Andrea, 1988-  
Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e  
ectodérmicas femininas e masculinas em *Passalidae*  
(Coleoptera) da Mata Atlântica de Minas Gerais, Brasil /  
Karen Andrea Salazar Niño. - Viçosa, MG, 2015.  
xii, 61f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : José Eduardo Serrão.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.58-61.

1. *Passalidae*. 2. Morfologia animal. 3. Anatomia  
animal. 4. Aparelho reprodutor feminino. 5. Ovário.  
6. Aparelho reprodutor masculino. 7. Testículo. 8. Filogenia.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Biologia Geral. Programa de Pós-graduação em  
Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 595.76

KAREN ANDREA SALAZAR NIÑO

**MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS REPRODUTIVAS MESO  
E ECTODÉRMICAS FEMININAS E MASCULINAS EM  
PASSALIDAE (COLEOPTERA) DA MATA ATLÂNTICA DE  
MINAS GERAIS, BRASIL**

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: 13 de maio de 2015.

---

Luciane Cristina Oliveira Lisboa

---

Paulo Sérgio Fiuza Ferreira

---

José Eduardo Serrão  
(Orientador)

*À minha família, por ser minha guia e inspiração em cada volta do sol.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa e ao programa de pós-graduação em Entomologia por me conceder a possibilidade de continuar minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Organização dos Estados Americanos (OEA) pela bolsa de estudo concedida.

Ao Núcleo de Microscopia Eletrônica e Microanálise (UFV) e aos laboratórios de Orthopterologia e Citogenética de Insetos do Departamento de Biologia Geral (UFV) pelo suporte técnico e empréstimo dos equipamentos para a realização das fotografias.

Ao professor José Eduardo Serrão, por ter me recebido no seu laboratório e me permitir ser parte de sua equipe de trabalho. Pela sua orientação, dicas, sugestões e ajuda durante a realização de meu mestrado.

Ao professor Stéphane Boucher pela sua amizade, orientação e exemplo de trabalho. Sua ajuda, conselhos e ensinamentos constantes ao longo destes anos durante minha formação acadêmica, sem dúvida têm sido muito valiosos.

Ao professor Fernando Vaz-de-Mello (Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Biociências, Departamento de Biologia e Zoologia), pela ajuda durante a estadia no seu laboratório e empréstimo dos espécimes de Passalidae.

A todos os professores por seus ensinamentos durante a realização de meu mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Ultraestrutura Celular (UFV), pelo aprendizado e as sugestões que foram de grande ajuda durante a execução do meu projeto. Ademais de se tornarem meus amigos e serem meus professores de português.

Às minhas colegas Daniela Santos e Deia Novais pela sua ajuda e tempo dedicado na revisão do texto da minha dissertação.

Ao senhor José Luis Monteiro, pela sua ajuda no campo durante as coletas dos passalídeos.

A minha família, pelo amor, confiança e apoio sempre. Com cada um de vocês aprendo a nunca desistir, a ter constância e saber que posso lograr todos os meus desejos.

A todos meus compatriotas que estando fora de nossa bela Colômbia se tornaram minha família, por sua amizade, por cada momento compartilhado e por me fazer sentir como na minha casa.

Finalmente agradeço a todas aquelas pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização de meu projeto.

Muito obrigada a todos!

## SUMARIO

LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE ABREVIACOES .....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	xi
<b>1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. A família Passalidae .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Estruturas reprodutivas.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2.1. Antecedentes dos estudos sobre as estruturas reprodutivas .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. A fauna Passalidae da região sudeste do Brasil .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Comentrios do gnero <i>Passalus</i> Fabricius .....</b>	<b>4</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERIAL E MTODOS .....</b>	<b>6</b>
<b>3.1. Nomenclatura atual e origem das espcies estudadas .....</b>	<b>6</b>
<b>3.2. Dissecao .....</b>	<b>8</b>
<b>3.3. Microscopia de luz .....</b>	<b>9</b>
<b>3.4. Microscopia eletrnica de transmissão .....</b>	<b>10</b>
<b>3.5. Terminologia .....</b>	<b>10</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>10</b>
<b>4.1. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodrmicas “internas” masculinas de <i>Spasalus robustus</i> .....</b>	<b>10</b>
<b>4.1.1. Observaes .....</b>	<b>11</b>
<b>4.2. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodrmicas “internas” femininas de <i>Veturius sinuatus</i> .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2.1. Observaes .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas ectodrmicas (genitália) masculinas e femininas e caracteres dos adultos .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3.1. Observaes .....</b>	<b>27</b>
<b>5. DISCUSSO.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodrmicas “internas” masculinas de <i>Spasalus robustus</i> .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodrmicas “internas” femininas de <i>Veturius sinuatus</i> .....</b>	<b>49</b>
<b>5.3. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas ectodrmicas (genitália) masculinas e femininas e caracteres dos adultos .....</b>	<b>51</b>
<b>5.3.1. Consideraes das relaes filogenticas.....</b>	<b>53</b>
<b>6. CONCLUSOES GERAIS .....</b>	<b>56</b>
<b>7. REFERNCIAS CITADAS.....</b>	<b>58</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	12
<b>Figura 2.</b> Estruturas reprodutivas mesodérmicas masculinas (testículos) de <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	14
<b>Figura 3.</b> Detalhes da espermiogênese em <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	16
<b>Figura 4.</b> Estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas de <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	17
<b>Figura 5.</b> Estruturas reprodutivas ectodérmicas masculinas (ducto ejaculatório) de <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	18
<b>Figura 6.</b> <i>Veturius sinuatus</i> (Eschscholtz).....	20
<b>Figura 7.</b> Estruturas reprodutivas mesodérmicas femininas (ovários) de <i>Veturius sinuatus</i> (Eschscholtz).....	22
<b>Figura 8.</b> Detalhes ultraestruturais dos ovários de <i>Veturius sinuatus</i> (Eschscholtz).....	23
<b>Figura 9.</b> Estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas femininas de <i>Veturius sinuatus</i> (Eschscholtz).....	24
<b>Figura 10.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Passalus coniferus</i> Eschscholtz; e-g, <i>P. peruvianus</i> (Kuwert).....	28
<b>Figura 11.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Passalus glaberrimus</i> Eschscholtz; e-g, <i>P. perplexus</i> (Kaup).....	29
<b>Figura 12.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-c, <i>Passalus morio</i> Percheron; d-e, <i>P. nasutus</i> Percheron; f-g, <i>Passalus sp. 1</i> .....	30
<b>Figura 13.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Passalus denticollis</i> (Kaup); e-f, <i>P. quadricollis</i> Eschscholtz.....	33
<b>Figura 14.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Passalus binominatus</i> Percheron; e-h, <i>Paxillus brasiliensis</i> (Le Peletier & Serville).....	34
<b>Figura 15.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Passalus ferenudus</i> (Kuwert); e-h, <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	35
<b>Figura 16.</b> Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – a-d, <i>Pertinax latifrons</i> (Percheron); e-h, <i>Veturius simillimus</i> Kuwert.....	38
<b>Figura 17.</b> Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – a, <i>Passalus coniferus</i> Eschscholtz; b, <i>P. peruvianus</i> (Kuwert); c, <i>P. binominatus</i> Percheron; d, <i>Paxillus brasiliensis</i> (Le Peletier & Serville).....	39
<b>Figura 18.</b> Genitália ectodérmicas femininas (ventral e lateral). – a-b, <i>Passalus glaberrimus</i> Eschscholtz; c-e, <i>P. perplexus</i> (Kaup).....	40

<b>Figura 19.</b> Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – a, <i>Passalus nasutus</i> Percheron; b, <i>Passalus sp. 1</i> ; c, <i>P. morio</i> Percheron.....	44
<b>Figura 20.</b> Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – a, <i>Passalus ferenudus</i> (Kuwert); b, <i>P. denticollis</i> (Kaup); c, <i>Spasalus robustus</i> (Percheron).....	45
<b>Figura 21.</b> Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – a, <i>Pertinax latifrons</i> (Percheron); b, <i>Veturius sinuatus</i> (Eschscholtz); c, <i>V. simillimus</i> Kuwert.....	46

## LISTA DE ABREVIÇÕES

### - Estruturas reprodutivas:

#### “Internas” mesodérmicas

##### Femininas

*bp*: bainha peritoneal  
*ca*: cálice do ovário  
*cf*: células foliculares  
*ci*: células intersticiais  
*cci*: células internas  
*cn*: células nutridoras  
*cpf*: células pré-foliculares  
*ft*: filamento terminal  
*gv*: grânulos do vitelo  
*lb*: lâmina basal  
*mi*: mitocôndria  
*n*: núcleo  
*oo*: ovócito  
*pd*: pedicelo do ovário  
*tf*: tampão folicular  
*tr*: trofário  
*vge*: vesícula germinativa  
*vi*: vitelo  
*vit*: vitelário

##### Masculinas

*acr*: acrossoma  
*bp*: bainha peritoneal  
*cis*: cistócitos  
*de*: ducto eferente  
*esp*: espermatogônias  
*f*: flagelo  
*fe*: feixe  
*fo*: folículo testicular  
*gm*: germário  
*lb*: lâmina basal  
*n*: núcleo  
*sep*: septo testicular  
*t*: testículo  
*z*: espermatozoides

#### “Internas” ectodérmicas

##### Femininas

*cs*: células secretoras  
*depm*: ducto da espermateca  
*dgle*: ducto da glândula da espermateca  
*e*: epitélio  
*epm*: espermateca  
*gle*: glândula da espermateca  
*l*: luz

*lbmd*: lóbulo médio dorsal  
*lbpd*: lóbulo proximal dorsal  
*lbv*: lóbulo ventral  
*m*: músculo  
*n*: núcleo  
*ovdl*: oviduto lateral  
*ovdc*: oviduto comum  
*se*: secreção  
*vg*: vagina

##### Masculinas

*e*: epitélio  
*dd*: ducto deferente  
*ej*: ducto ejaculatório  
*gl*: glândula acessória  
*l*: luz  
*m*: músculo  
*n*: núcleo  
*se*: secreção  
*vs*: vesícula seminal

#### “Externas” ectodérmicas

##### Femininas

*ant*: antecosta  
*ltg*: laterotergito  
*mbtg*: membrana do tergito  
*mtg*: mediotergito

##### Masculinas

*ant*: antecosta  
*cmb2*: segunda membrana conectiva  
*ed*: edeago  
*go*: gonóporo  
*ltg*: laterotergito  
*op*: opérculo do falo  
*ph*: falo  
*phb*: falobase  
*pm*: parâmeros  
*pt*: prega terminal do saco interno  
*s*: suporte da falobase e parâmeros  
*scl*: esclerito  
*si*: saco interno do edeago

#### - Outras abreviações

*D*: dorsal  
*L*: lateral  
*proc*: proctodeo  
*V*: ventral

## RESUMO

SALAZAR NIÑO, Karen Andrea, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2015. **Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas femininas e masculinas em Passalidae (Coleoptera) da Mata Atlântica de Minas Gerais, Brasil.** Orientador: José Eduardo Serrão. Coorientador: Stéphane Boucher.

Na primeira parte, descreve-se a nível morfoanatômico, histológico e ultraestrutural os órgãos reprodutivos meso e ectodérmicos “internos” de passalídeos com ocorrência na região sudeste do Brasil, enfatizando nas espécies do estado de Minas Gerais. A sua finalidade é fornecer novas informações destas estruturas e contribuir à compreensão da sua organização e função. Como exemplificação para as masculinas estudou-se a *Spasalus robustus* (Percheron 1835) e para as femininas *Veturius sinuatus* (Eschscholtz 1829). A constituição geral do sistema reprodutor de ambos os sexos é semelhante à descrita para outros representantes americanos. Nas fêmeas de *V. sinuatus* ressaltam-se diferenças estruturais no filamento terminal em relação ao presente nos ovários de tipo meroístitico telotrófico em Polyphaga. Considera-se que esta região do filamento tentativamente pode estar relacionada com as células germinativas. Nos machos de *S. robustus* o testículo divide-se em septos e o ducto eferente é intrafolicular na maior parte, o que reflete no arranjo da espermiogênese, a qual não segue um padrão de organização definido como em outros insetos. Neste passalídeo, cada cisto contém 128 espermatozoides de aspecto filiforme, com núcleos pequenos em relação ao tamanho do flagelo. Na segunda parte, a morfoanatomia das genitália ectodérmicas “externas” (machos) e “internas” (fêmeas) foram estudadas para 16 espécies de Passalidae com esta distribuição: *Passalus coniferus* Eschscholtz 1829, *P. binominatus* Percheron 1835, *P. denticollis* (Kaup 1869), *P. ferenudus* (Kuwert 1898), *P. glaberrimus* Eschscholtz 1829, *P. perplexus* (Kaup 1869), *P. peruvianus* (Kuwert 1898), *P. quadricollis* Eschscholtz 1829, *P. nasutus* Percheron 1835, *P. latifrons* Percheron 1841, *P. morio* Percheron 1835, *Passalus sp. 1*, *Paxillus brasiliensis* (Le Peletier & Serville 1825), *S. robustus*, *Veturius simillimus* Kuwert 1891 e *V. sinuatus*. Os caracteres morfológicos destas estruturas reprodutivas, em conjunto com caracteres externos do corpo dos adultos evidenciaram e apoiaram as ideias atuais de que a composição sistemática da fauna desta região do país é distinta à que tem sido considerada, igualmente ideias da heterogeneidade filogenética no que respeita ao gênero *Passalus* Fabricius. Assim, sete grupos de espécies foram propostos dentro de *Passalus s. autores*, nomeados:

“*coniferus-peruvianus*”, “*binominatus*”, “*ferenudus*”, “*glaberrimus-perplexus*”, “*morio*”, “*nasutus-sp. I*”, “*quadricollis*”. Só o grupo “*coniferus-peruvianus*” representa realmente a *Passalus s. str.* Como consequência, todos os demais grupos pertencem aos gêneros *incertae sedis*. Por outro lado, como foi indicado na literatura recente, *Pertinax latifrons* pertence a este gênero distinto e com *Paxillus brasiliensis* constata-se a estreita relação entre *Paxillus* e *Passalus s. str.* Com estas considerações, novas ideias foram inferidas sobre as possíveis relações filogenéticas entre os táxons ao nível genérico da fauna do sudeste do Brasil.

## ABSTRACT

SALAZAR NIÑO, Karen Andrea, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2015. **Morphoanatomy of meso and ectodermal reproductive structures in female and male in Passalidae (Coleoptera) from Minas Gerais Atlantic Forest, Brazil.** Adviser: José Eduardo Serrão. Co-Adviser: Stéphane Boucher.

The first part describes the anatomical, morphological, histological and ultrastructural level the meso and ectodermal "internal" reproductive organs to passalid occurring in southeastern Brazil, emphasizing the species of Minas Gerais state. Its purpose is to provide new information of these structures, to contribute in understanding of the organization and function. For example for males studied to *Spasalus robustus* (Percheron 1835) and for female to *Veturius sinuatus* (Eschscholtz 1829). The general constitution of the reproductive system of both sexes is similar as compared to the American's Passalidae. In *V. sinuatus* females we emphasize the structural differences in the terminal filament in relation to meroisitic telotrophic type of ovaries in Polyphaga. We considered that this region of filament can tentatively be related to the germ cells. In males of *S. robustus* the testicle is divided into septa and the efferent duct is intrafollicular mostly reflecting the arrangement of spermatogenesis, which does not follow the pattern of organization defined as in other insects. In this passalid, each cyst contains 128 sperm thread-like appearance, with small nuclei relative to the size of the flagellum. In second part, the morphoanatomy of ectodermal "external" (males) and "internal" (females) genitalia were studied for 14 more species Passalidae with this distribution: *Passalus coniferus* Eschscholtz 1829, *P. binominatus* Percheron 1835, *P. denticollis* (Kaup 1869), *P. ferenudus* (Kuwert 1898), *P. glaberrimus* Eschscholtz 1829, *P. perplexus* (Kaup 1869), *P. peruvianus* (Kuwert 1898), *P. quadricollis* Eschscholtz 1829, *P. nasutus* Percheron 1835, *P. latifrons* Percheron 1841, *P. morio* Percheron 1835, *Passalus sp. 1*, *Paxillus brasiliensis* (Le Peletier & Serville 1825) and *V. simillimus* Kuwert 1891. The morphological characters of these reproductive structures, together with external characters of the adult body showed and supported the current ideas that systematic fauna composition of this region of the country is different to that which has been considered, also ideas of phylogenetic heterogeneity with regard to genre *Passalus* Fabricius. Thus, seven groups of species have been proposed in *Passalus s. authors*, named: "coniferus-peruvianus", "binominatus", "ferenudus", "glaberrimus-perplexus", "morio", "nasutus- sp. 1", "quadricollis". Only the group "coniferus-peruvianus" really represent to *Passalus s. str.* As a consequence, all other

groups belong to genres *incertae sedis*. On the other hand, as indicated in the recent literature, *Pertinax latifrons* belongs to this distinct genre, also with *Paxillus brasiliensis* indicates the close relationship between *Paxillus* and *Passalus s. str.* With these considerations, new ideas were inserted for possible phylogenetic relationships among taxa to generic level of fauna the southeast Brazil.

## 1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1. A família Passalidae

Os Passalidae são besouros subsociais, que vivem em grupos familiares geralmente em um sistema de galerias em troncos em processo de decomposição e contribuem para a decomposição deste material orgânico (ver síntese e compilação em Reyes-Castillo & Halffter 1983; Castillo & Reyes-Castillo 2003). A distribuição geográfica dos passalídeos é pantropical com algumas exceções de espécies que se distribuem a certa distância dos trópicos (ver síntese e mapa em Boucher 2006). Para a família há um total de 700 espécies reconhecidas, estimando-se um número aproximado de 1000 (Boucher 2006).

### 1.2. Estruturas reprodutivas

As estruturas reprodutivas nos insetos constituem-se por órgãos mesodérmicos, como as gônadas (ovários-testículos) e ectodérmicos, como os outros órgãos associados (fêmeas: ovidutos laterais, oviduto comum, glândulas acessórias, vagina, *bursa copulatrix*, espermateca e sua glândula; machos: ductos deferentes, vesícula seminal, ducto ejaculatório, glândulas acessórias, órgão copulador) (Snodgrass 1935; Chapman 2013). Pela sua posição topográfica podem dividir-se também em órgãos “internos” e “externos”, estes últimos incluem além do órgão copulador dos machos, os segmentos abdominais que tem funções acessórias na reprodução em ambos os sexos (Snodgrass 1935).

No que respeita a Passalidae, as estruturas reprodutivas femininas “internas” estão formadas por dois ovários do tipo meroístico telotrófico, cada um com dois ováriolos, os quais estão conectados aos ovidutos laterais pelo pedicelo. Os ovidutos laterais continuam para formar o oviduto comum, o qual desemboca na vagina. A espermateca é única e apresenta uma glândula associada (Williams 1945; Krause 1946; Bryan 1954; Baker 1973). A vagina é de forma tubular, com íntima cuticular lisa e apresenta de um a três lóbulos vaginais, os quais são reconhecidos por sua posição topográfica, conformação, conexão com os outros lóbulos e outros órgãos como a espermateca e a sua glândula (Boucher 2006).

As masculinas “internas” constituem-se por um par de testículos com um ou dois folículos testiculares de forma arredondada para o primeiro caso ou de forma fusiforme para o segundo. De cada folículo parte um estreito ducto, os quais posteriormente conduzem para a vesícula seminal (a qual parece não estar presente em alguns grupos) e para o ducto deferente. Os ductos deferentes de cada lado unem-se ao ducto ejaculatório. Dentro destas estruturas também estão dois pares de glândulas acessórias que podem ser diferenciadas por seu comprimento e sua coloração, sendo um par de glândulas longas e cor translúcida e outro par mais curto e cor branca opaca (Williams 1945; Krause 1946; Virkki 1961; Baker 1973).

Entre as estruturas reprodutivas masculinas “externas”, está um órgão que é totalmente evaginado no momento da cópula, o edeago, que tem forma tubular e é fortemente esclerotizado, sendo dividido em três partes principais: falobase, parâmeros e falo as que correspondem às indicadas com outra terminologia por Percheron (1835) e Sharp and Muir (1912) entre outros. Em repouso, no interior do falo, encontra-se o endofalo (saco interno), que é uma estrutura membranosa, mais ou menos esclerosada e com (ou não) microestruturas diversificadas (Boucher 2006).

O pós-abdômen para a família pode se resumir ao segmento VIII o qual é visível a maior parte, e os segmentos IX-X que são mais tipicamente internos e participam como parte das genitália “externas” (Boucher 2006).

### **1.2.1. Antecedentes dos estudos sobre as estruturas reprodutivas**

Entre a literatura pioneira sobre as estruturas reprodutivas masculinas “externas” (edeago) para Passalidae e base para seu posterior estudo estão os trabalhos do Percheron (1835) e Sharp & Muir (1912) entre outros. Posteriormente, Baker (1973), comparou o edeago de três espécies de *Pentalobus* Kaup (África), anotando as diferenças observadas em alguns dos caracteres que estudou no saco interno. Bührnheim (1978), estudou o edeago para várias espécies com distribuição no Brasil. Recentemente Boucher (2006) estudou as genitália ectodérmicas completas masculinas para espécies representantes de todos os gêneros de Proculini, mais cinco espécies de Passalini (América) e dois gêneros de Solenocyclini (África). No seu trabalho mostrou a constituição e diversificação do endofalo, assim como o seu interesse filogenético e a sua utilidade para a procura das homologias.

Entre as referências quanto aos segmentos genitais masculinos e femininos está o trabalho de Percheron (1835) e Tanner (1927) que reportaram a sua estrutura para

*Passalus interruptus* (Linneo) (macho) e *Odontotaenius disjunctus* (Illiger) (fêmea) respectivamente. Boucher (2006) no seu trabalho detalha a confirmação dos laterotergitos IX e antecostas (em termos de homologia), que correspondem às estruturas descritas com outra terminologia para ambos os sexos na literatura mencionada. Além de reportar a possível existência de um mediotergito IX.

Quanto aos “internos”, William (1945) relatou a conformação geral da morfologia das estruturas reprodutivas femininas e masculinas de *O. disjunctus*. Krause (1946, 1947) fez um trabalho detalhado sobre a estrutura e desenvolvimento das gônadas de ambos os sexos para *O. disjunctus*, além de mencionar aspectos sobre a espermiogênese. De igual maneira Bryan (1954) estudando a ovogênese em *O. disjunctus*, aportou informação que tem ajudado ao entendimento da conformação e estrutura dos ovariolos para a família. Virkki (1961) aportou ao conhecimento da organização dos folículos testiculares para *Passalus punctiger* Le Peletier & Serville e *Arrox agassizi* (Kaup). Baker (1973), também indicou a conformação dos órgãos internos de machos e fêmeas para três espécies de *Pentalobus*. Depois, Reyes-Castillo & Ritcher (1973), Ritcher & Baker (1974) contribuíram para o conhecimento no número dos ovariolos para a família, estudando um total de 27 espécies dos gêneros *Aulacocyclus* Kaup (Aulacocyclinae: Aulacocyclini), *Cylindrocaulus* Fairmaire (Aulacocyclinae: Ceracupini), *Heliscus* Zang, *Odontotaenius* Kuwert, *Verres* Kaup, *Vindex* Kaup (Passalinae: Proculini), *Passalus* Fabricius, *Paxillus* Mac Leay, *Ptichopus* Kaup (Passalinae: Passalini), registrando dois ovariolos por ovário. Fonseca (1981) reportou a variação no padrão do número de ovariolos em fêmeas de *P. (Pertinax) convexus* Dalman (*Pertinax* sensu Boucher 2006). As mudanças morfológicas durante o desenvolvimento dos ovários para fêmeas adultas de duas espécies de *Passalus* depois de sua emergência foram relatados por Fonseca & Bührnheim (1984).

Mais recentemente, López-Guerrero & Halffter (2000) examinando quatro espécies com ocorrência no México, consideraram a espermateca para Passalidae como uma estrutura primitiva (*sic*) comparada com a de outros Scarabaeoidea. Cruz & Castillo (2008) descreveram a morfologia dos órgãos reprodutivos internos para machos e fêmeas de *Odontotaenius striatopunctatus* (Percheron) e relataram pela primeira vez a formação de espermátóforo. Boucher (2006) também iniciou o estudo das genitália ectodérmicas completas para as fêmeas. Destacou a variação na forma, tamanho dos lóbulos vaginais, forma da espermateca e sua glândula, assim como a

posição da inserção do ducto da espermateca, o qual também varia em comprimento e diâmetro. Boucher (2006, 2015a) demonstra para Passalidae o importante valor do estudo das genitália ectodérmicas em ambos os sexos como caracteres para a sistemática e reconstrução filogenética do grupo.

### **1.3. A fauna Passalidae da região sudeste do Brasil**

Para a região sudeste do Brasil, Weber (1801), Dalman (1817), Mac Leay (1819), Le Peletier & Serville (1825), Eschscholtz (1829), Percheron (1835, 1841), Kaup (1869), Burmeister (1847), Kuwert (1891, 1898), Moreira (1921) e Luederwaldt (1927, 1929) principalmente, descreveram espécies dos gêneros atuais *Passalus*, *Paxillus*, *Spasalus* Kaup e *Veturius* Kaup. Finalmente, Luederwaldt (1931) publicou uma monografia extensa sobre os passalídeos para o país, contribuindo significativamente para o conhecimento desta fauna na região sudeste, junto com as suas outras notas a posteriori (Luederwaldt 1934a, 1934b).

Depois, Bührnheim (1962) e Santos-Silva (2000) descreveram novos táxons. Fonseca & Reyes-Castillo (2004), sintetizaram as informações disponíveis sobre os Passalidae do país e forneceram uma lista. Boucher (2006) contribuiu na definição das espécies de *Veturius*. Novos registros de distribuição foram adicionados por Mattos & Mermudes (2014).

Incluindo as espécies catalogadas, as descritas recentemente e os novos registros, um número de 42 espécies de passalídeos ocorrem nesta região, onde o gênero com maior riqueza é *Passalus*, *s. auct.* (32 espécies), seguido por *Veturius* (5), *Paxillus* (2–3), *Spasalus* (2) e *Popilius* Kaup (1). Embora esta fauna parecesse ser bem conhecida, o seu número hoje ultrapassa 50 espécies (com. pers. Boucher).

### **1.4. Comentários do gênero *Passalus* Fabricius**

Uma vez que os limites do gênero *Passalus* foram estabelecidos na época por Gravelly (1918), Luederwaldt (1931) com base no estudo das espécies com ocorrência no Brasil, considerou dividi-lo em três subgêneros (*Passalus* Fabricius, *s. str.*, *Pertinax* Kaup, *Mitrorhinus* Kaup) baseando-se entre outros caracteres, na ausência ou presença e no arranjo dos “tubérculos secundários” presentes na borda frontal. Além disto, indicou a conformação de “grupos de espécies” dentro dos subgêneros e três divisões

dentro do subgênero *Passalus* (Neleus Kaup, Petrejus Kaup e Phoroneus Kaup) que chamou “secções”.

Posteriormente, alguns autores discutiram sobre os caracteres usados por Luederwaldt (1931) para as divisões do gênero *Passalus* e comentaram também sobre a sua heterogeneidade. Hincks (1933, 1934), por exemplo, ressaltou que os caracteres utilizados não limitam de maneira acurada as espécies incluídas, pois muitas saíam dos padrões estabelecidos. Sugeriu a inclusão de caracteres adicionais para sua limitação, propôs alterações na nomenclatura e sinonimizou várias espécies. Reyes-Castillo (1970), sugeriu que *Passalus* precisava de reestruturações e contemplou a possibilidade de que este agrupasse mais de um gênero. Assim, finalmente a proposta de Luederwaldt para o gênero *Passalus* tem sido conservada pelos autores ulteriores.

Mas, no entanto Boucher (1990) iniciou um primeiro passo na divisão natural de *Passalus*, com o estudo de algumas espécies de *Pertinax* como grupo bem distinto de *Passalus*. Ultimamente, Boucher (2006), argumentou que o agrupamento do gênero esteve até agora baseado em homoplasias, devido à falta da procura e identificação dos caracteres homólogos que são fundamentais para a sistemática da família. Consequentemente tem sido a principal causa do agrupamento errôneo das espécies e da confusão causada até hoje. Com base no estudo dos caracteres dorsais da cabeça, aparelhos bucais e das genitália ectodérmicas completas em ambos os sexos nos adultos, concluiu, que *Passalus, s. auct.* é polifilético e conta com diversos grupos. No caso *Pertinax* é claramente um gênero composto por grupos de espécies que seguem o grupo filético de *Passalus convexus* (Dalman) e que tem possíveis relações com Proculini (Boucher 2006, 2015b). Como consequência é evidente que a composição natural específica dos táxons é distinta à que foi considerada desde Luederwaldt (1931).

Com as informações precedentes, têm-se os seguintes fatos:

- embora até o momento tenham sido abordados vários aspectos sobre as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” de Passalidae, continuar o seu estudo é importante para fornecer novas informações que ajudarão à compreensão da sua organização, estrutura e função. Além da procura de outros caracteres possivelmente úteis para a sistemática da família, bem como adicionar dados nos grupos onde são relativamente pouco conhecidos. - Tem-se evidência de que a fauna de passalídeos da região sudeste do Brasil não é tão bem conhecida como parece.

Existe confusão dos táxons e se tem dúvidas sobre o agrupamento atual das espécies. - Sabe-se também que *Passalus, s. auct.*, um dos gêneros mais representativos desta fauna é polifilético e conta com diversos grupos. - Tem-se demonstrado a importância dos caracteres das genitália ectodérmicas masculinas e femininas na sistemática da família. Então o estudo destas estruturas reprodutivas poderia ser considerado para ajudar a resolver aspectos relacionados com a composição desta fauna e sobre as possíveis relações filogenéticas dos grupos que a compõem.

Neste contexto, este estudo descreve em nível morfoanatômico, histológico e ultraestrutural as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas de dois passalídeos com ocorrência na região sudeste do Brasil, bem como as genitália ectodérmicas completas de ambos os sexos para 16 espécies com esta distribuição e faz considerações filogenéticas desta fauna.

## **2. OBJETIVOS**

O presente estudo teve por objetivos: inicialmente descrever as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas e femininas de passalídeos da região sudeste do Brasil, com ênfase nas espécies que ocorrem no estado de Minas Gerais, contribuindo para o conhecimento da sua morfoanatomia e biologia reprodutiva. Em seguida, comparar as genitália ectodérmicas de ambos os sexos nos táxons estudados. Essas primeiras observações devem permitir interpretar a composição sistemática desta fauna e expor dados sobre as relações filogenéticas entre as espécies. Adicionalmente, apoiar as ideias atuais sobre a heterogeneidade filogenética no que corresponde ao gênero *Passalus, s. auct.*, a diversidade destas estruturas reprodutivas em ambos os sexos e de sua utilidade geral para a sistemática da família.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Nomenclatura atual e origem das espécies estudadas**

**Tribo Passalini** Leach 1815

**Gênero *Passalus*** Fabricius 1792

**Subgênero *Passalus*** Fabricius 1792

“*Secção*” Neleus Kaup 1869

1. *P. coniferus* Eschscholtz 1829

“Secção” Phoroneus Kaup 1869

2. *P. binominatus* Percheron 1835

3. *P. denticollis* (Kaup 1869)

4. *P. ferenudus* (Kuwert 1898)

5. *P. glaberrimus* Eschscholtz 1829

6. *P. perplexus* (Kaup 1869)

7. *P. peruvianus* (Kuwert 1898)

8. *P. quadricollis* Eschscholtz 1829

“Secção” Petrejus Kaup 1869

9. *P. nasutus* Percheron 1835

**Subgênero *Pertinax*** Kaup 1869

10. *P. latifrons* Percheron 1841

11. *P. morio* Percheron 1835

12. *Passalus* sp. 1

**Gênero *Paxillus*** Mac Leay 1819

13. *P. brasiliensis* (Le Peletier & Serville 1825)

**Gênero *Spasalus*** Kaup 1869

14. *S. robustus* (Percheron 1835)

**Tribo Proculini** Kaup 1868

**Gênero *Veturius*** Kaup 1871

**Subgênero *Veturius*** Kaup 1871

15. *V. simillimus* Kuwert 1891

16. *V. sinuatus* (Eschscholtz 1829)

Uma parte dos espécimes estudados foi obtida de coletas realizadas durante os meses de fevereiro e agosto de 2014 na Reserva Florestal Mata do Paraíso (20°48"S 42°51"W), Viçosa, Minas Gerais. Os besouros coletados foram transferidos para criação em laboratório (25 ± 2 °C; 54 ± 2% humidade relativa; fotoperíodo 12h luz: 8h escuro). Os espécimes testemunhas foram depositados na Coleção Entomológica do Laboratório de Sistemática e Biologia de Coleoptera (CELC) e no Museu Regional de Entomologia (UFVB) da Universidade Federal de Viçosa. A outra parte dos espécimes foi obtida da Secção de Entomologia da Coleção Zoológica da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá (CEMT).

As genitália ectodérmicas foram avaliadas para as 16 espécies mencionadas. Para o estudo histológico foram utilizados machos de *S. robustus* e fêmeas de *V. sinuatus* pela disponibilidade de exemplares.

## **3.2. Dissecção**

### **3.2.1. Processamento do material**

Os exemplares de coletas recentes foram crioanestesiados e dissecados em tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,2). Para obter as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas completas foram removidos os tergitos II-VII e o intestino posterior. Uma vez visíveis, as estruturas foram extraídas juntamente com os segmentos abdominais VIII-IX. Os exemplares provenientes de coleção foram amolecidos com água destilada a 80 °C antes de se proceder com a dissecção.

#### **3.2.1.1. Genitália ectodérmicas femininas**

O abdômen foi removido e transferido para uma solução aquosa de KOH a 5% a 40 °C. Uma vez visíveis as genitália foram extraídas junto com os segmentos abdominais VIII-IX. A seguir, as estruturas foram tratadas com KOH a 5% a 40 °C. Posteriormente foram transferidas para uma solução aquosa de ácido acético a 5% previamente aquecida para o estiramento das membranas. Para a observação dos lóbulos vaginais e a posição de inserção do canal da espermateca, o oviduto comum foi hermeticamente fechado com pinças planas e inflado com uma micropipeta apoiada sobre o urotergito VIII. Ao final foram coradas ou não (dependendo do material) com negro clorazol (Carayon 1969). Foram observadas, fotografadas em microscópio de luz e conservadas em lactofenol. Ver detalhes da metodologia em Boucher (2006) (modificação realizada só na concentração de KOH).

#### **3.2.1.2. Genitália ectodérmicas masculinas**

O edeago foi removido junto com os urotergitos VIII-IX e separado no nível da segunda membrana conectiva. A seguir, o edeago foi colocado em uma solução aquosa de KOH a 5%. O saco interno foi evaginado com ajuda de pinças e inflado

rapidamente. Finalmente o órgão completo foi observado, fotografado em microscópio de luz e conservado em lactofenol. Ver detalhes da metodologia em Boucher (2006) (modificação realizada só na concentração de KOH).

### **3.3. Microscopia de luz**

As estruturas reprodutoras meso e ectodérmicas “internas” masculinas de *S. robustus* e femininas de *V. sinuatus* foram dissecadas como descrito, transferidas para glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M por 12 h. A seguir, as amostras foram desidratadas com concentrações crescentes de etanol (30, 50, 70, 90, 100%) e embebidas com historesina JB4. Os cortes semifinos (1,0 µm de espessura) foram realizados em micrótomo (Leica RM 2255) com navalha de vidro, corados com hematoxilina de Harris, eosina e analisados em microscópio de luz. Outras amostras foram fotografadas ao microscópio estereoscópico (Zeiss discovery V-20) e as medidas de comprimento foram feitas em três indivíduos de cada sexo com auxílio do programa de computador Image Pro-Plus®.

#### **3.3.1. Histoquímica**

Algumas secções das glândulas acessórias masculinas, glândula da espermateca e região do filamento terminal dos ovariolos foram submetidas aos testes de PAS (Periodic Acid Schiff) para detecção de polissacarídeos neutros e glicoconjugados, como também testes de mercúrio bromofenol para evidenciação de proteínas totais como em Kiernan (2008). Para evitar o falso positivo com o PAS, pelos aldeídos provenientes do reagente usado na fixação do material (glutaraldeído), as secções foram primeiramente bloqueadas com o método da fenilidrazilina como sugerido por Kiernan (2008).

#### **3.3.2. Espermatozoides**

Os espermatozoides foram extraídos das vesículas seminais, espalhados em lâminas histológicas com tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e secos a temperatura ambiente. Para conhecer o comprimento total do flagelo, algumas das amostras, foram coradas com Giemsa 0,06 M em tampão Sörensen na proporção

de 1:20 (pH 6,8) e fotografadas em microscópio de luz. Para as medidas do núcleo, outras amostras foram coradas com 4,6-diamino-2-fenilindol (DAPI) 0,2 µg/mL no mesmo tampão por 15 minutos, montadas em sacarose 50% e examinadas em microscópio de epifluorescência equipado com filtro de excitação BP 360–370 nm. As medidas foram obtidas com auxílio do programa Image Pro-Plus®.

### **3.4. Microscopia eletrônica de transmissão**

Os ovários dissecados como descrito, foram transferidos por 12 h em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M contendo sacarose 0,2 M. Posteriormente as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% por 2 h. A seguir as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (70, 90, 95, 100%) e embebidas em resina LR White. As secções ultrafinas foram obtidas em ultramicrótomo (MT2-BMT2-B) com navalha de vidro, contrastadas com acetato de uranila a 1%, citrato de chumbo e examinadas em microscópio eletrônico de transmissão (Zeiss EM 109).

### **3.5. Terminologia**

A terminologia usada para os caracteres das genitália ectodérmicas femininas e masculinas e para os caracteres externos do corpo dos adultos segue a proposta de Boucher (2006), que tem como base o trabalho de morfoanatomia comparativa e procura das homologias constitutivas (ver a lista completa de abreviações usadas no trabalho citado).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” masculinas de *Spasalus robustus***

A seguir serão descritas as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” masculinas de *S. robustus*, espécie escolhida como modelo biológico pela disponibilidade de exemplares.

#### 4.1.1. Observações

##### Conformação geral (Fig. 1)

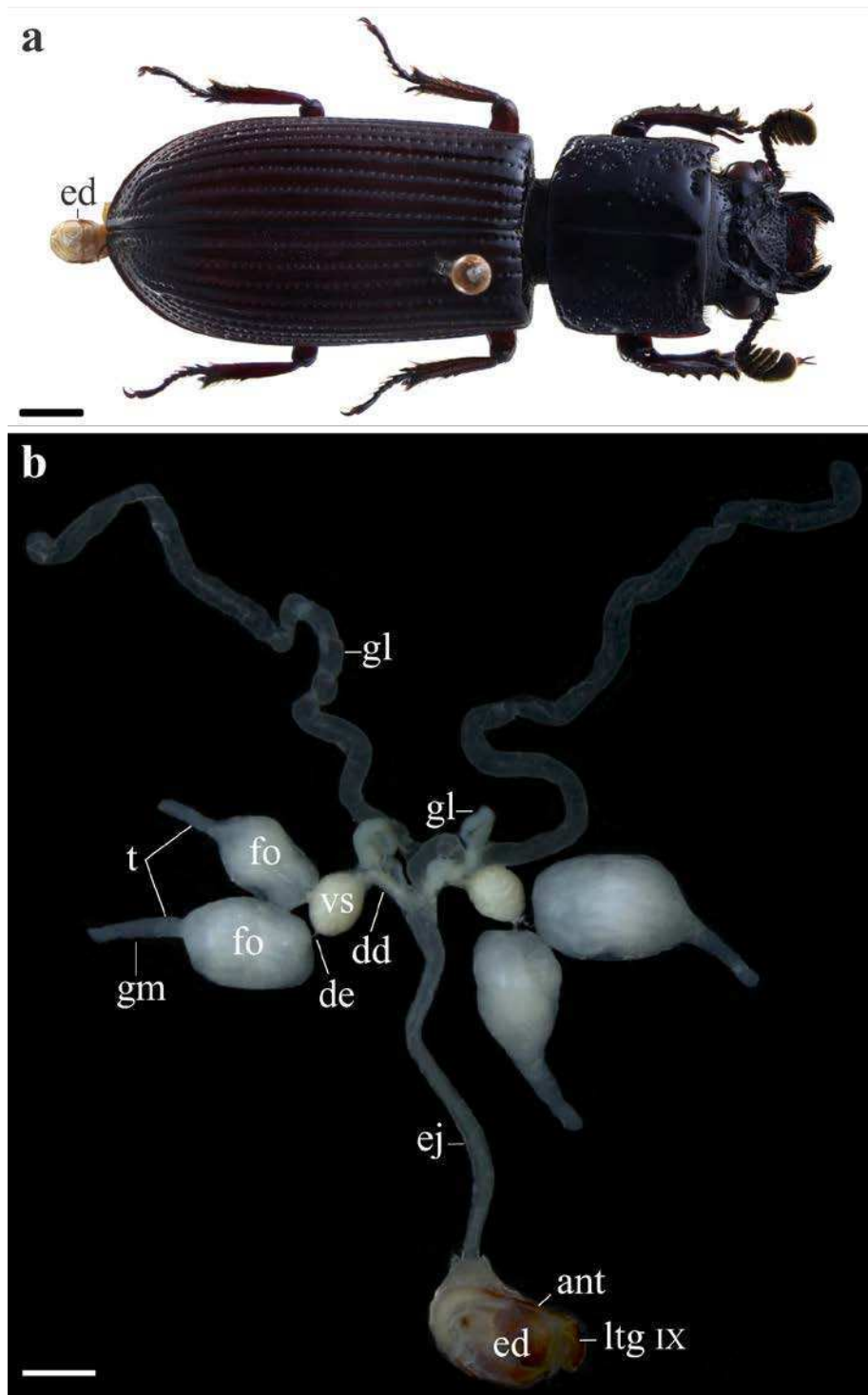
As estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas em adultos de *S. robustus* são formadas por um par de testículos, cada um com dois folículos que se conectam ao ducto deferente, por um curto e fino ducto eferente extrafolicular. O ducto deferente é dilatado em uma vesícula seminal, sendo que a sua porção pós-vesicular desemboca no ducto ejaculatório, o qual atravessa o edeago até o gonóporo. Além destas estruturas, estão presentes dois pares de glândulas acessórias.

##### Folículos testiculares e ductos eferentes

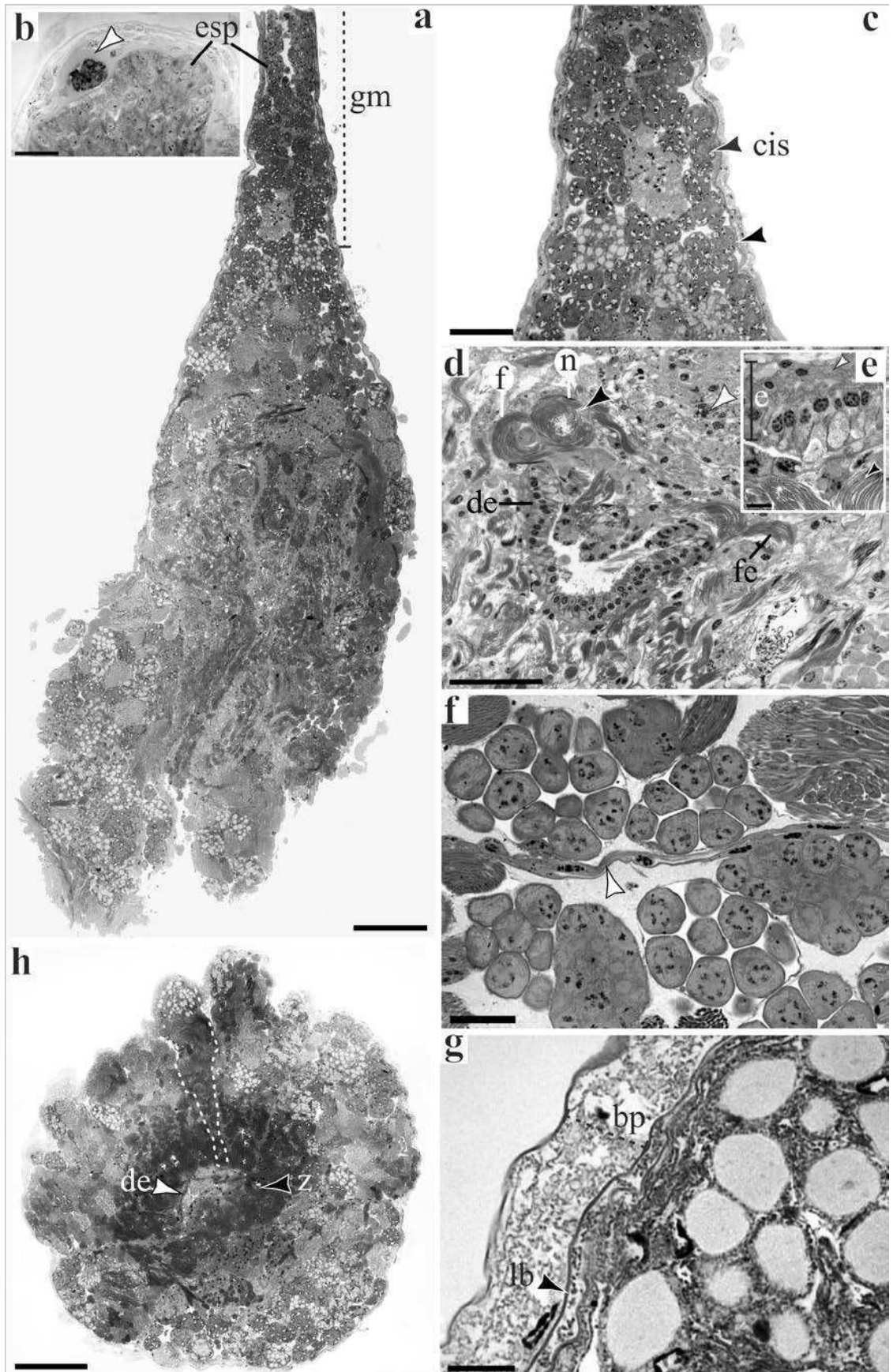
Os folículos são de forma fusiforme e apresentam coloração esbranquiçada. Em machos com atividade reprodutiva tem comprimento médio de 2,94 mm dos quais aproximadamente 1,04 mm correspondem à protuberância no extremo distal apical que é onde se posiciona o germário. Os folículos de cada lado conectam-se separadamente ao ducto deferente, por um curto (comprimento 0,11 mm) e fino ducto que é uma extensão do eferente que se encontra no interior do folículo (Fig. 1). O ducto eferente intrafolicular no seu início apresenta um ligeiro alargamento e após mantém-se estreito até a saída do folículo. O epitélio apresenta dupla camada de células, sendo a interna formada por células colunares com núcleos em posição basal e a camada externa formada por células achatadas e em partes foi possível observar músculos associados. Acima do alargamento está presente uma massa de células somáticas (Fig. 2d-e). A parte extrafolicular apresenta epitélio simples de células colunares com núcleos em posição basal e rodeado por abundante tecido muscular (Fig. 4d).

Cada folículo testicular está envolto em uma bainha peritoneal consistindo de tecido muscular e mais internamente de uma lâmina basal acelular (Fig. 2g). Estes, menos na parte apical (germário), estão divididos radialmente por septos longitudinais, os quais convergiram para o ducto eferente intrafolicular. Os septos testiculares são formados por células achatadas (Figs. 2f, h; 3b). Ao longo de todo o folículo testicular foram observados vários cistos em distintas fases de desenvolvimento, conservando-se em cada um deles o mesmo estágio de maturação.

As espermatogônias estavam distribuídas uniformemente na parte mais apical do germário, próximas à célula apical, seguidas de vários cystócitos. No entanto, os espermatócitos e espermátides estavam distribuídos aleatoriamente no restante do folículo (Fig. 2a-c, f, h).



**Figura 1.** *Spasalus robustus* (Percheron). – a, habitus do adulto (dorsal) com edeago evaginado; b, estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas. – Escala 1 mm.



**Figura 2.** Estruturas reprodutivas mesodérmicas masculinas (testículos) de *Spasalus robustus* (Percheron). – Detalhes dos cortes histológicos: **a**, folículo testicular (longitudinal); **b**, célula apical do germário (seta branca) e espermatogônias; **c**, germário, indicando alguns cystócitos (setas pretas); **d-e**, ducto eferente intrafolicular; **d**, região inicial (de alargamento) onde se observam vários feixes de espermatozoides ascendendo a sua luz, o arranjo espiral que tem os feixes quando atingem sua entrada (seta preta) e a massa de células somáticas acima do ducto (seta branca); **e**, epitélio indicando-se músculos associados (seta branca) e espermatozoides descendo pela sua luz (seta preta); **f**, cistos em diferentes estádios de desenvolvimento e um septo testicular (seta branca); **g**, bainha peritoneal e lâmina basal; **h**, folículo testicular (transversal) indicando com linhas pontilhadas brancas um septo e espermatozoides (seta preta) perto do ducto eferente (seta branca). Escala (a-b, d, h) 200  $\mu\text{m}$ ; (c) 100  $\mu\text{m}$ ; (e, g) 10  $\mu\text{m}$ ; (f) 25  $\mu\text{m}$ .

No início da espermiogênese, as espermátides ainda permaneceram com os núcleos arredondados sendo possível também a identificação da formação dos flagelos (Fig. 3a-d). No estágio seguinte do desenvolvimento, as espermátides (estádio I) apresentaram núcleos circulares e flagelos mais espessos (Fig. 3e). Já nas fases posteriores de desenvolvimento, os núcleos das espermátides (estádio II) estavam mais alongados, e com flagelos mais finos e longos até adquirirem o seu aspecto filiforme (Fig. 3f). Os feixes de espermatozoides (Fig. 3g) estavam próximos ao ducto eferente dirigindo-se desde a parte proximal à distal do folículo até atingirem sua entrada onde os feixes mostraram-se com arranjo espiral (Fig. 2d). Na luz do ducto eferente os espermatozoides estavam livres, não organizados em feixes e nem no formato de espiral antes adquirido.

Em cada cisto foi observado até 128 espermatozoides, o que representa sete ciclos de divisões celulares (Fig. 3h). A aparência geral dos espermatozoides é filiforme com núcleos pequenos (29  $\mu\text{m}$ ) em relação ao tamanho do flagelo (877  $\mu\text{m}$ ) (Fig. 3j). Os núcleos são alongados e é visível uma pequena estrutura acrossomal (Fig. 3i). Quando são extraídos das vesículas seminais, os espermatozoides apresentam mobilidade.

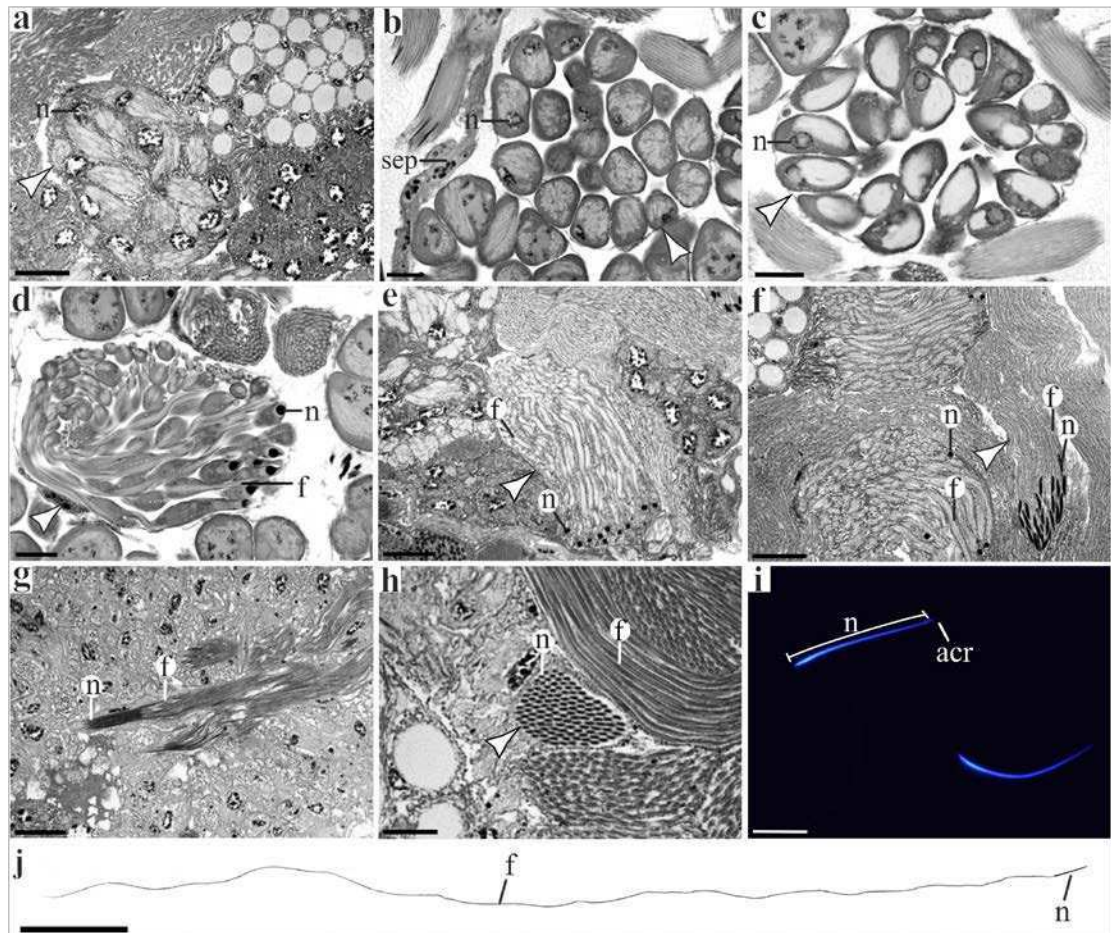
### **Vesícula seminal e ducto deferente**

O ducto deferente é dilatado em uma vesícula seminal (comprimento 0,96 mm), sendo que a sua porção pós-vesicular (comprimento 1,07 mm) desemboca no ducto ejaculatório. Ambas as estruturas apresentam coloração branca opaca (Fig. 1). A parede é formada por um epitélio simples de células com núcleos basais. No ducto deferente pós-vesicular ocorre a presença de uma camada muscular mais desenvolvida que aquela presente na parede da vesícula seminal, sendo que em ambas as estruturas são observadas abundantes secreções junto com os espermatozoides (Fig. 4a-c).

### **Glândulas acessórias**

Estão presentes dois pares de glândulas acessórias, sendo um par de glândulas tubulares simples e longas (comprimento 12,15 mm) e de cor translúcida (maiores) enquanto o outro par de glândulas é formado por tubos enovelados, de coloração branca opaca, de menor tamanho e calibre (menores) (Fig. 1). A parede nos dois tipos de glândulas é formada por um epitélio do tipo simples consistindo de células epiteliais com núcleos basais e externamente por uma camada muscular bem desenvolvida. Nas glândulas enoveladas o lúmen apresenta secreção granular e homogênea, enquanto nas

glândulas tubulares a secreção é apenas de tipo homogêneo (Fig. 4e-h). As secreções homogêneas das duas glândulas não reagiram ao teste de PAS, mas foram positivas para o teste de mercúrio bromofenol, indicando que os compostos secretados são de natureza proteica.

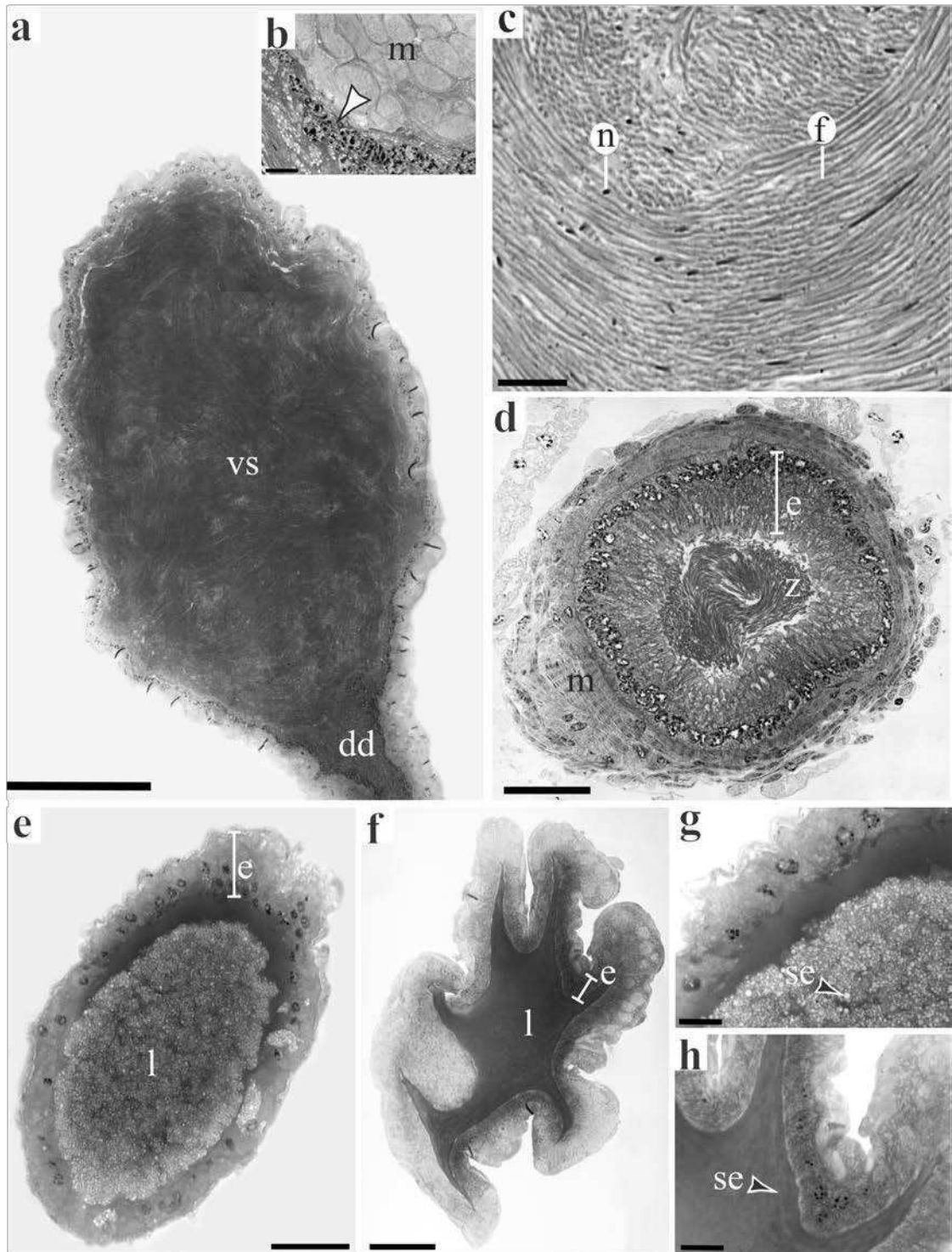


**Figura 3.** Detalhes da espermiogênese em *Spasalus robustus* (Percheron). – **a-g**, cistos em distintas fases de desenvolvimento; **a-f**, espermátides (setas brancas): **a-d**, em formação; **e**, estágio I; **f**, estágio II; **g**, feixe de espermatozoides dirigindo-se para a entrada do ducto eferente; **h**, secção transversal de um cisto (seta branca) mostrando os núcleos dos espermatozoides; **i**, cabeça dos espermatozoides corados com DAPI; **j**, espermatozoide extraído da vesícula seminal. Escala (a, e-f) 25 µm; (b-d, g-i) 10 µm; (j) 70 µm.

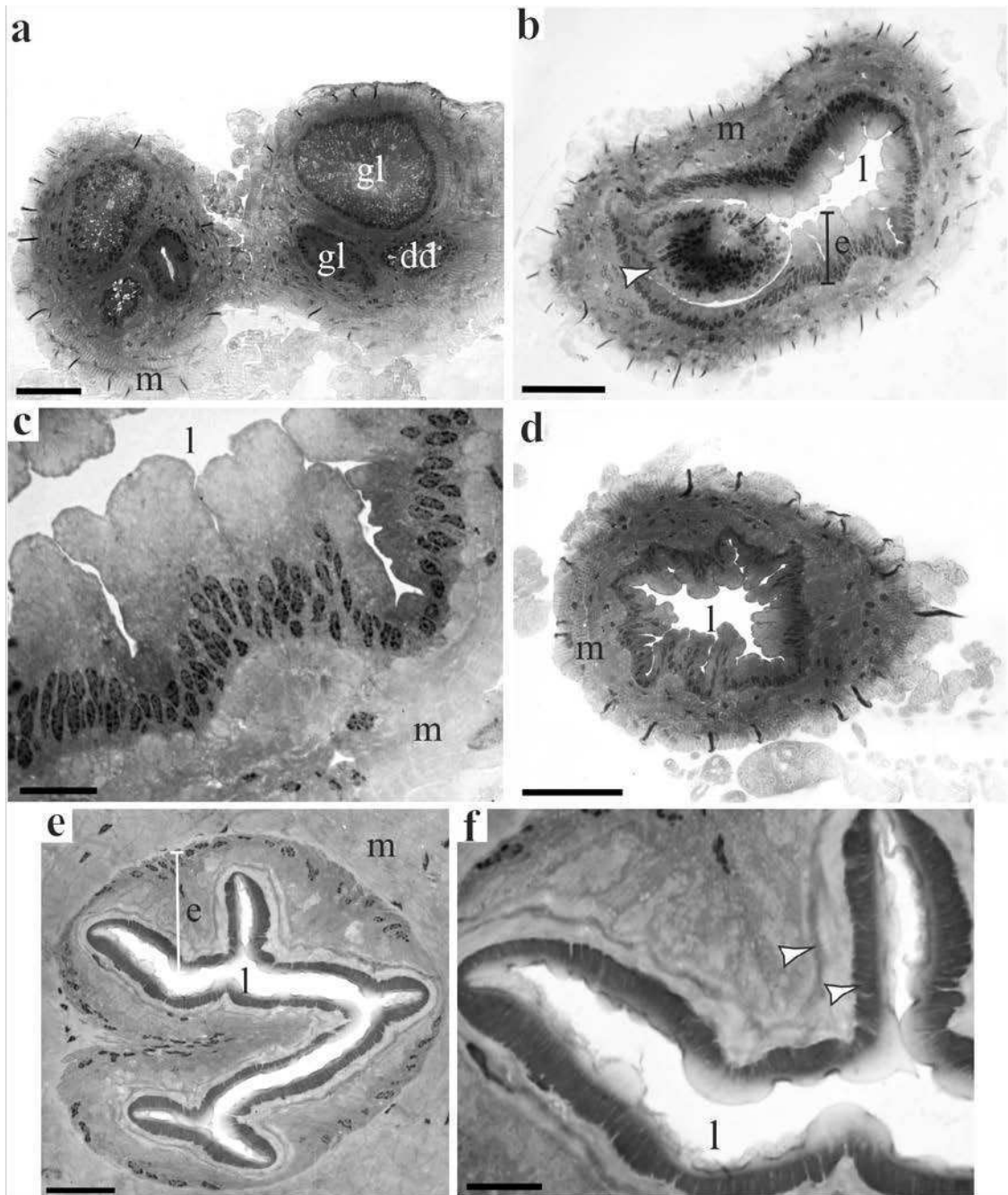
### Ducto ejaculatório

Apresenta coloração branca opaca e um comprimento médio de 5,95 mm (Fig. 1). Os dois pares de glândulas acessórias e os ductos deferentes desembocam separadamente na região anterior do ducto ejaculatório (Fig. 5a). Nesta foi possível caracterizar que as glândulas tubulares abrem-se primeiro, seguidas dos ductos deferentes e das glândulas enoveladas. Quando as glândulas enoveladas estão terminando de abrir-se, a parede do ducto ejaculatório é formada por um epitélio

simples de células altas com núcleos em posição basal, sem íntima cuticular e rodeado por abundante tecido muscular (Fig. 5b-d).



**Figura 4.** Estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas de *Spasalus robustus* (Percheron). – Detalhes dos cortes histológicos: **a-c**, vesícula seminal e ducto deferente (longitudinal); **b**, epitélio (seta branca); **c**, espermatozoides armazenados na vesícula seminal; **d**, ducto eferente extrafolicular, observar os espermatozoides no lúmen (transversal); **e-h**, glândulas acessórias; **e**, menores (transversal); **f**, maiores (transversal); **g-h**, epitélio e secreção. Escala (a) 200  $\mu$ m; (b-d) 20  $\mu$ m; (e-f) 100  $\mu$ m (g-h) 25  $\mu$ m.



**Figura 5.** Estruturas reprodutivas ectodérmicas masculinas (ducto ejaculatório) de *Spasalus robustus* (Percheron). – Detalhes dos cortes histológicos transversais: **a**, região anterior onde ainda se distinguem as glândulas acessórias e os ductos deferentes; **b**, parede do ducto quando as glândulas enoveladas estão terminando de abrir-se à sua luz (seta branca); **c**, células epiteliais mostradas na Fig. 5b; **d**, região média; **e**, região mais posterior (com íntima cuticular); **e**, epitélio mostrado na Fig. 5e, indicando-se com as setas brancas a íntima cuticular. Escala (a) 50  $\mu\text{m}$ ; (b, d) 100  $\mu\text{m}$ ; (c) 25  $\mu\text{m}$ ; (e) 30  $\mu\text{m}$ ; (f) 10  $\mu\text{m}$ .

Este tipo de epitélio mantém-se ao longo de quase todo o ducto, só na região mais posterior do ducto o lúmen é revestido por íntima cuticular que se mostra mais esclerosada no contato com a luz do órgão (Fig. 5e-f).

## **4.2. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” femininas de *Veturius sinuatus***

A seguir serão descritas as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” femininas de *V. sinuatus*, espécie escolhida como modelo biológico pela disponibilidade de exemplares.

### **4.2.1. Observações**

#### **Conformação geral (Fig. 6)**

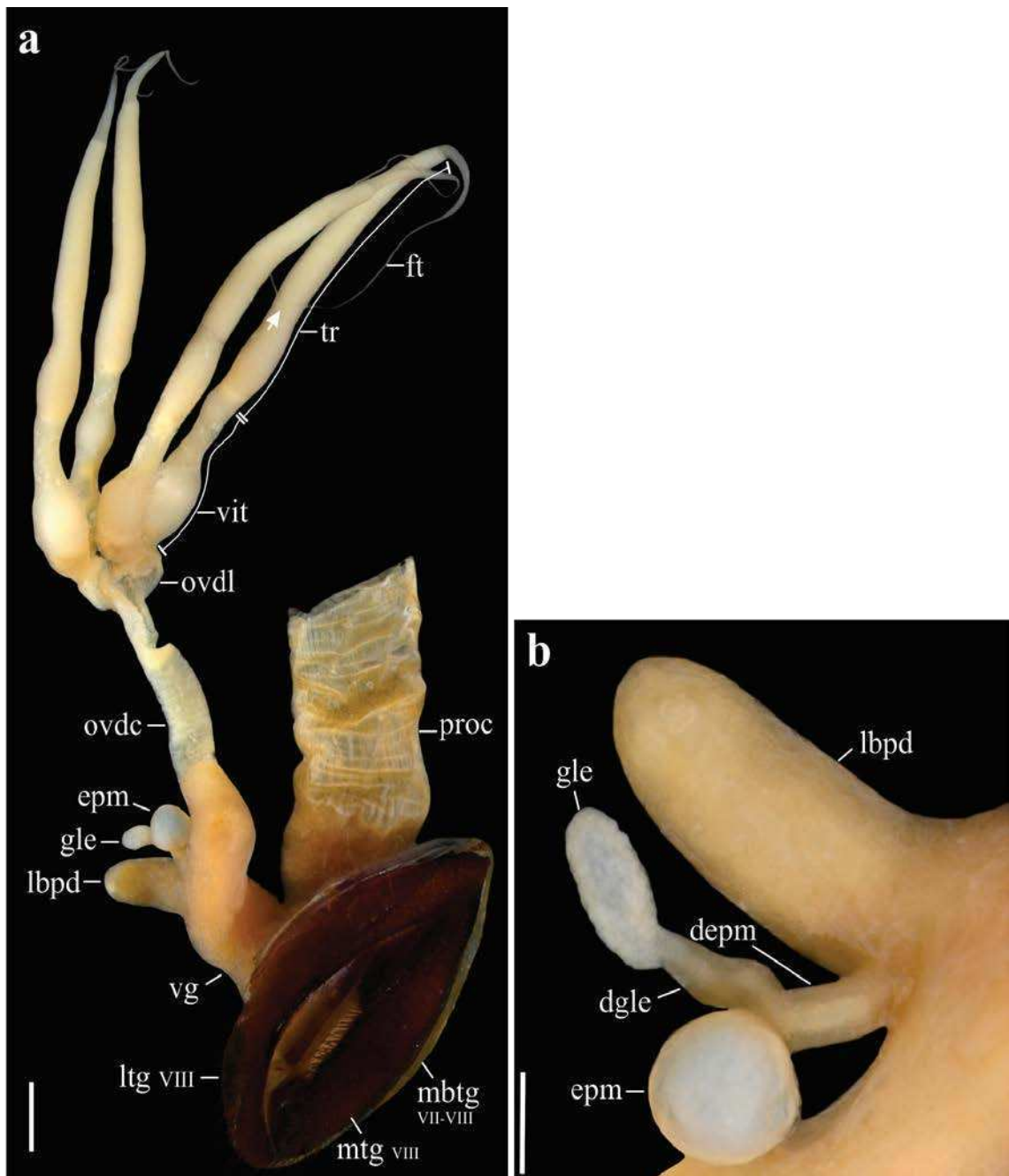
As estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas femininas em adultos de *V. sinuatus* são formadas por dois ovários meroísiticos telotróficos cada um com dois ovariólos (exceto um indivíduo que apresentou um dos ovários com três ovariólos) que se conectaram a um curto oviduto lateral. Os ovidutos laterais convergem no oviduto comum, o qual desemboca na vagina. Associada à vagina, estão a espermateca, sua glândula e os lóbulos vaginais.

#### **Ovários**

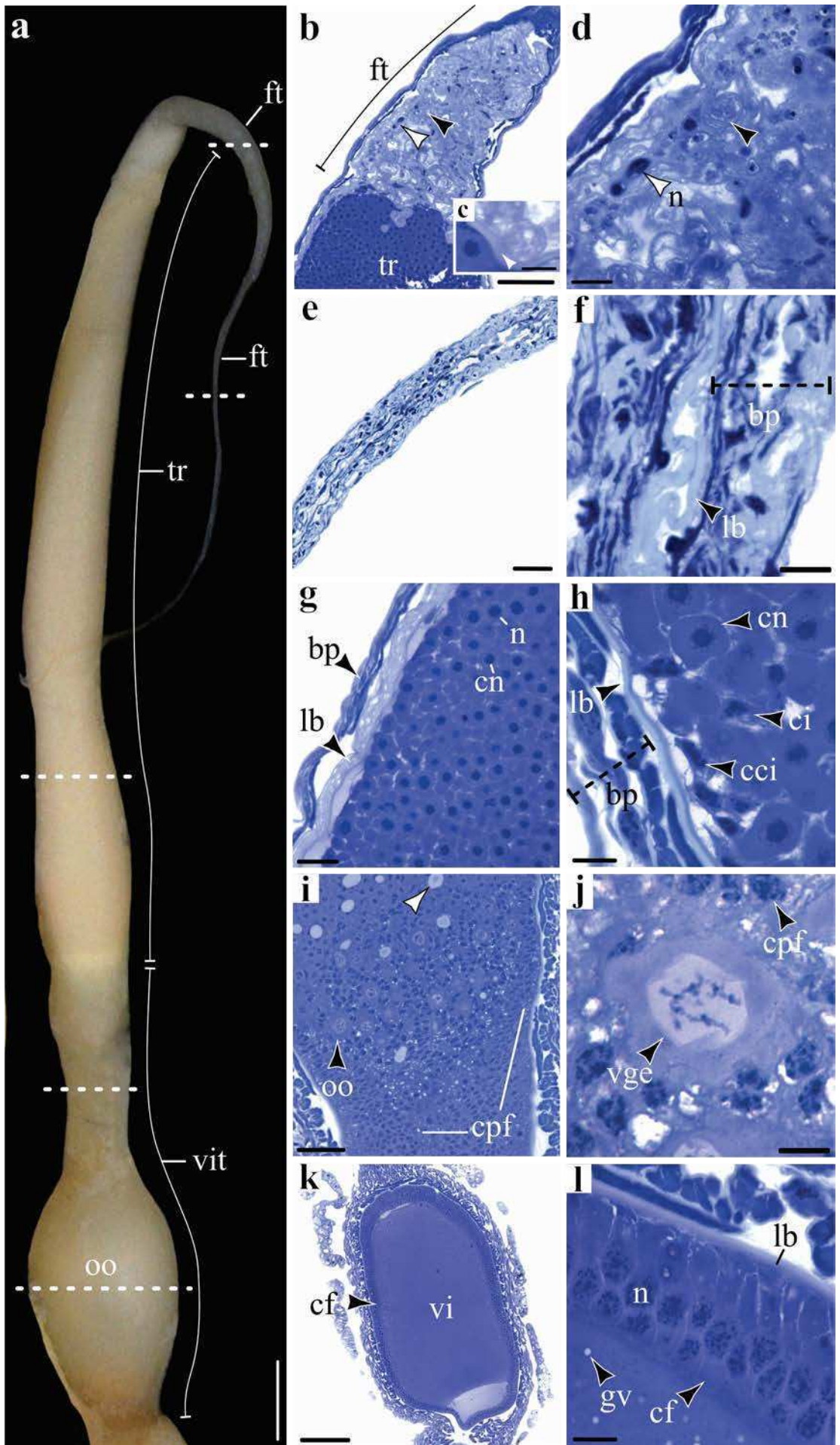
Os ovariólos apresentam formato alongado, nas fêmeas com atividade reprodutiva tiveram um comprimento médio de 12,99 mm. Cada ovariolo funcional apresentou um filamento terminal, trofário, vitelário, pedicelo e cálice (Figs. 6a, 7a), e é revestido por uma espessa bainha peritoneal composta por camadas de fibras musculares, sendo a interna circular e a externa longitudinal. Internamente à bainha peritoneal está presente uma lâmina basal acelular (túnica própria) (Fig. 7e-h).

No extremo distal de cada ovariolo maduro ocorre uma longa extensão, o filamento terminal. Na sua maior proporção, estes filamentos são estreitos e longos (aproximadamente  $\frac{1}{3}$  do comprimento total do ovariolo), sendo constituídos pela bainha peritoneal e túnica própria (Fig. 7e-f). Na parte mais basal, na transição para o trofário, os filamentos terminais são mais largos e com o interior contendo células com os seus limites não evidentes, similar a um sincício, com núcleos irregulares, de diferentes tamanhos e com citoplasma contendo um rico sistema de membranas (Figs.

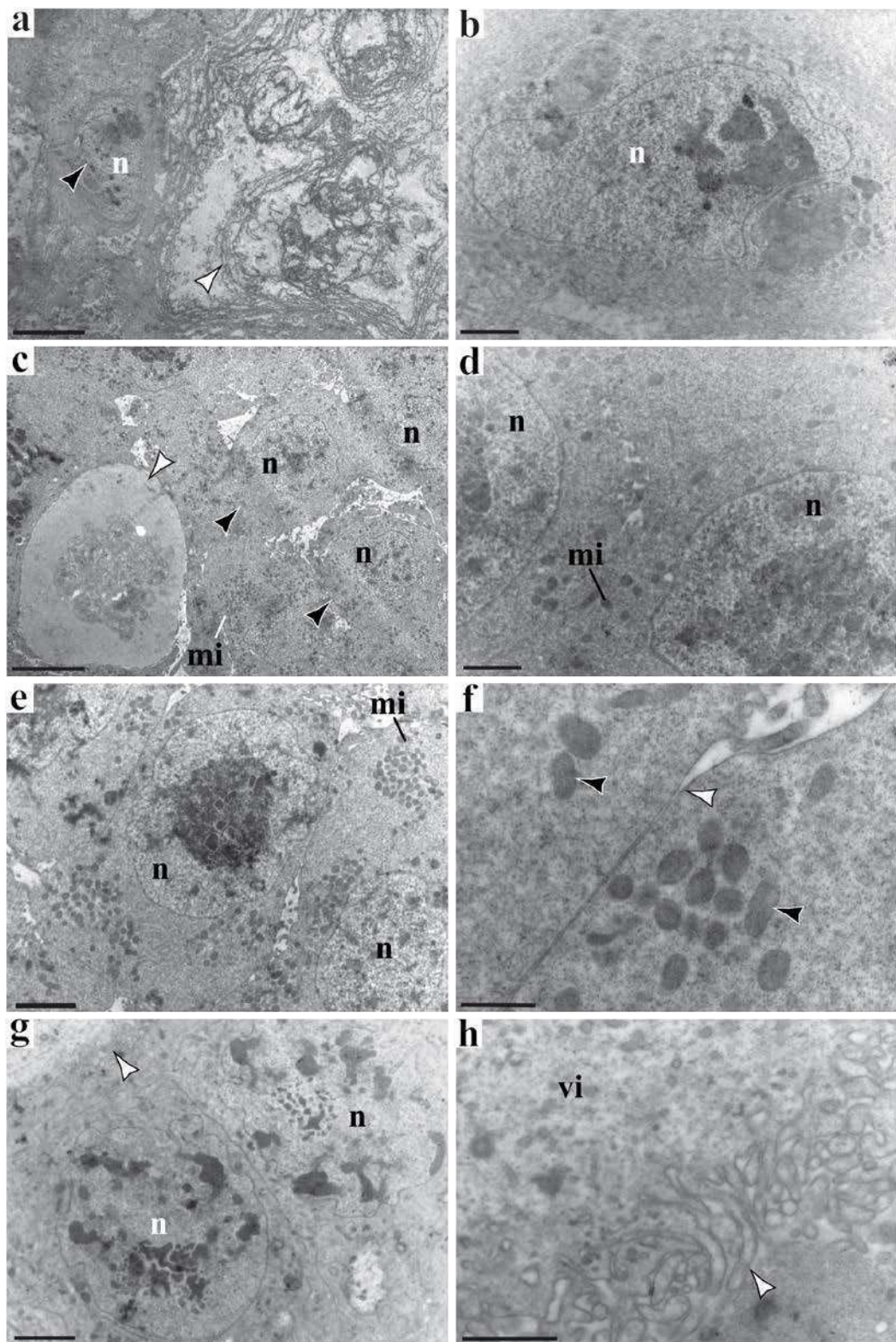
7b-d; 8a-b). Estas membranas em microscopia de luz evidenciaram-se como estruturas de aspecto espiralado e positivas ao teste de PAS. Um fino septo transversal separa o filamento terminal do trofário (Fig. 7c). Os filamentos de cada par de ovariolos estão unidos pelo seu ápice distal formando o suspensor que os une ao diafragma dorsal (Fig. 6a).



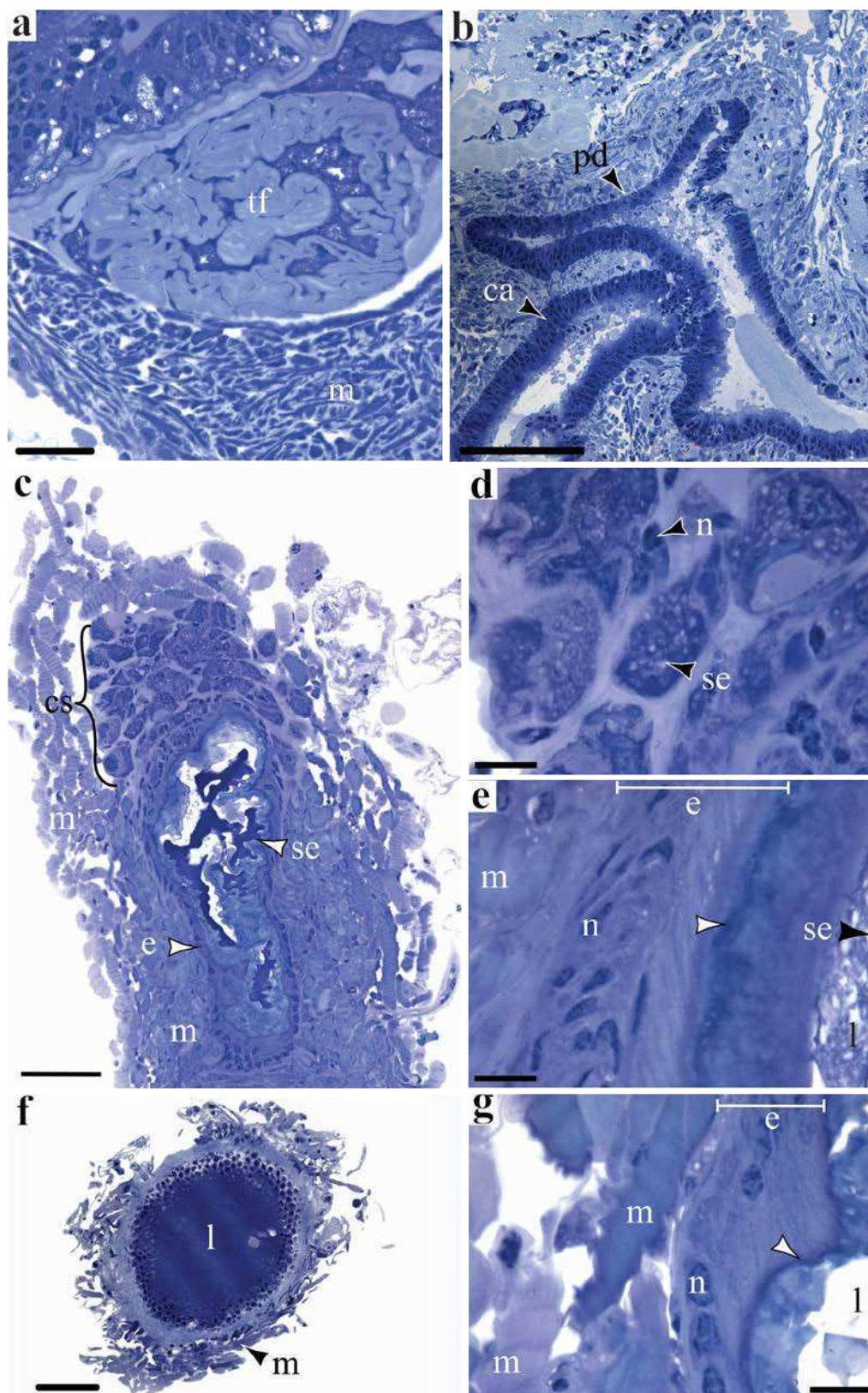
**Figura 6.** *Veturius sinuatus* (Eschscholtz). – **a**, estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas de uma fêmea adulto com atividade reprodutiva, indicando-se com a seta branca a união do ápice dos filamentos terminais; **b**, detalhe do lóbulo proximal dorsal da vagina, espermateca, glândula e os seus ductos. Escala (a) 1 mm; (b) 0,5 mm.



**Figura 7.** Estruturas reprodutivas mesodérmicas femininas (ovários) de *Veturius sinuatus* (Eschscholtz). – **a**, um ovaríolo, indicando-se com linhas pontilhadas brancas as zonas que se mostram nos cortes histológicos longitudinais. Detalhes: **b-f**, filamento terminal; **b**, região basal; **c**, aumento do septo transversal (seta branca); **d**, núcleos (seta branca) e membranas (seta preta) indicados na Fig. 7b; **e, f**, região mais estreita; **f**, bainha peritoneal e lâmina basal mostrados na Fig. 7e; **g, h**, região média do trofário onde se observam as células intersticiais, nutridoras e as internas que estão embaixo da lâmina basal; **i**, região inicial do vitelário onde se observam vários ovócitos em desenvolvimento (seta preta) rodeados por epitélio pré-folicular e estruturas globulares de natureza acidófila (seta branca); **j**, ovócito indicado na Fig. 7i mostrando a vesícula germinativa e as células pré-foliculares; **k**, ovócito terminal sem coriôn; **l**, epitélio folicular do ovócito da Fig. 7k. Escala (a) 0,5 mm; (b) 70 µm; (c) 35 µm; (d, g) 50 µm; (e) 200 µm; (f, j) 10 µm; (h, l) 20 µm; (i) 120 µm; (k) 250 µm.



**Figura 8.** Detalhes ultraestruturais dos ovários de *Veturius sinuatus* (Eschscholtz). – **a, b**, região basal do filamento terminal onde se mostra um núcleo (seta preta) e o sistema de membranas (seta branca); **b**, núcleo indicado na Fig. 8a; **c, d**, região média do trofário; **c**, clusters de células nutritoras (setas pretas) e estruturas globulares de natureza acidófila (seta branca); **d**, células nutritoras do mesmo cluster onde se observa o nível de redução parcial das membranas celulares e varias mitocôndrias; **e, h**, vitelário; **e, f**, células pré-foliculares; **f**, união celular (seta branca) e mitocôndrias (setas pretas); **g, h**, células foliculares do ovócito terminal sem coriön; **h**, dobras da membrana indicadas com a seta branca na Fig. 8g. Escala (a, c-d) 5  $\mu\text{m}$ ; (b, h) 1  $\mu\text{m}$ ; (e, g) 2  $\mu\text{m}$ ; (f) 500 nm.



**Figura 9.** Estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas femininas de *Veturius sinuatus* (Eschscholtz). – Detalhes dos cortes histológicos longitudinais: **a**, tampão folicular; **b**, pedicelo e cálice; **c-e**, glândula da espermateca e o seu ducto; **d**, células secretoras da glândula; **e**, epitélio do ducto da glândula indicando-se com a seta branca a íntima cuticular; **f**, **g**, espermateca; **g**, epitélio indicando-se com a seta branca a íntima cuticular. Escala (a) 120  $\mu\text{m}$ ; (b) 90  $\mu\text{m}$ ; (c) 50  $\mu\text{m}$ ; (d-e, g) 10  $\mu\text{m}$ ; (f) 110  $\mu\text{m}$ .

O trofário é alongado (Fig. 7a), formado por células nutridoras (trofócitos) de tamanho uniforme, com núcleos esféricos grandes, as quais apresentam um nível de redução parcial das membranas celulares entre as células de cada um dos clusters (Figs. 7g-h; 8c-d). Além das células nutridoras são observadas células intersticiais com núcleos alongados que se encontram para o interior do trofário entre as células nutridoras. Outras células também de forma achatada que formam um fino epitélio embaixo da lâmina basal (Fig. 7g). Frequentemente, são notadas, ainda, estruturas globulares de natureza acidófila as quais apresentaram material amorfo no seu interior (Figs. 7i, 8c).

Na porção inicial do vitelário são observados ovócitos em crescimento que apresentam forma irregular, vesícula germinativa evidente, finos e curtos prolongamentos citoplasmáticos e rodeados por abundante tecido pré-folicular (Fig. 7i-j). As células pré-foliculares apresentaram núcleos arredondados e seu citoplasma contendo abundantes mitocôndrias (Fig. 8e-f).

Durante a maturação do ovócito, este mostra forma oval e é rodeado por células foliculares cúbicas, enquanto o ovócito mais maduro do ovaríolo (terminal) é de maior tamanho e com forma elíptica. No ovócito terminal as células foliculares apresentam-se colunares e com o ápice contendo uma série de dobras da membrana plasmática quando ainda não apresenta coriôn (Figs. 7k-l; 8g-h).

O tampão folicular na base do vitelário é formado por células com núcleos irregulares com abundante matriz extracelular (Fig. 9a). Cada ovaríolo está ligado ao oviduto lateral pelo pedicelo, logo abaixo do cálice de ovos, os quais apresentam uma camada de epitélio simples de células cúbicas com núcleos arredondados (Fig. 9b).

## **Ovidutos**

Os ovidutos laterais são relativamente curtos (comprimento 0,69 mm) em relação ao oviduto comum (comprimento 3,03 mm). Ambos os ovidutos apresentam-se dilatados e com coloração branca nas fêmeas reprodutivas e translúcidos nas fêmeas com ovócitos pouco desenvolvidos. O epitélio dos ovidutos laterais e do oviduto comum é formado por uma única camada de células cúbicas com núcleos esféricos em posição basal. Só na região mais posterior do ducto comum, o lúmen é revestido por íntima cuticular. Externamente estava presente musculatura bem desenvolvida.

### **Vagina e lóbulos vaginais**

A vagina apresenta forma tubular alongada. Antes da intervenção, só o lóbulo proximal dorsal (lbpd) é evidente e desenvolvido (Fig. 6a-b). Após o processo de inflação o lóbulo médio dorsal é visível (Fig. 21b) (ver descrição dos lóbulos vaginais na secção 4.3., pag. 43). A vagina e os lóbulos associados apresentaram epitélio revestido por íntima cuticular fina e lisa e musculatura externa bem desenvolvida. Em vários indivíduos foi observado um único espermatóforo dentro do lbpd.

### **Espermateca, glândula e os seus ductos**

A glândula da espermateca têm aspecto tubular e coloração branca opaca (Figs. 6a-b; 21b). Esta glândula é formada por células secretoras grandes de forma irregular que estão sobre um fino epitélio simples de células com núcleos basais. O ducto da glândula é fino com 0,45 mm de comprimento. O seu epitélio é simples com células com núcleos em posição basal, com íntima cuticular e o lúmen contendo abundante secreção PAS+. A glândula e o seu ducto são rodeados por tecido muscular que mais desenvolvido no ducto (Fig. 9c-e).

A espermateca é piriforme com coloração branca opaca e linhas horizontais na parede. O ducto da espermateca é fino com 0,98 mm de comprimento e de coloração branca opaca, o qual desemboca na altura do lóbulo médio dorsal (Figs. 6a-b; 21b). O epitélio do reservatório e do seu ducto é formado por uma camada única de células altas com núcleos em posição basal, estando o lúmen revestido por uma íntima cuticular a qual é mais espessa no ducto. O epitélio está assentado sobre uma fina membrana basal seguida de musculatura circular e longitudinal, mais desenvolvida no ducto (Fig. 9f-g). O lúmen da espermateca apresentou secreção PAS+.

### **4.3. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas ectodérmicas (genitália) masculinas e femininas e caracteres dos adultos**

A seguir serão descritas as genitália ectodérmicas de machos e fêmeas e adicionalmente expostos alguns caracteres externos do corpo dos adultos das espécies avaliadas. Estes últimos são igualmente informativos e úteis na sistemática da família. Além disso, apoiam as observações e interpretações sobre estas estruturas reprodutivas. Os caracteres estudados formam parte da base das homologias prováveis para o estabelecimento dos grupos de espécies.

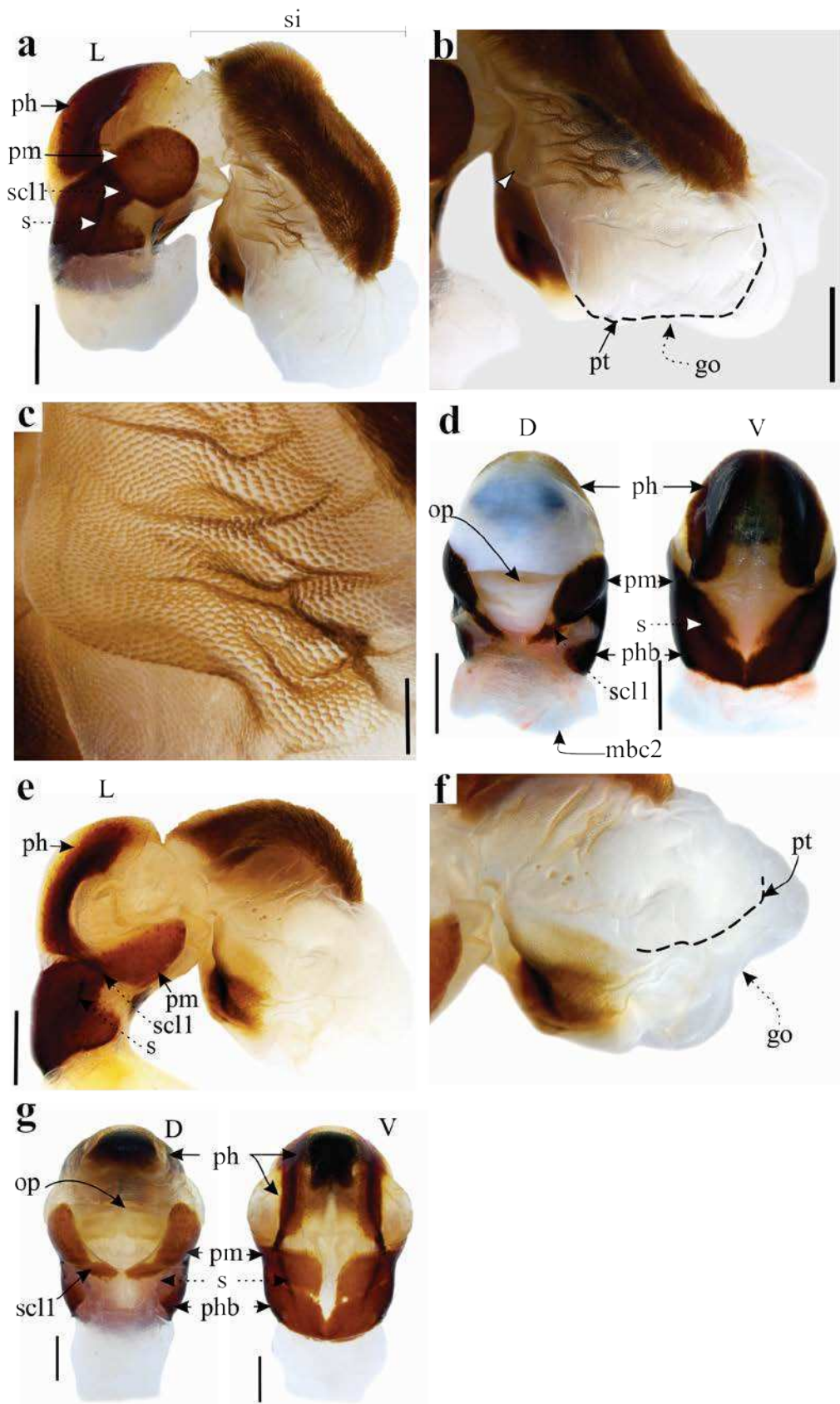
### 4.3.1. Observações

#### Grupo de “*Passalus coniferus* e *P. peruvianus*”

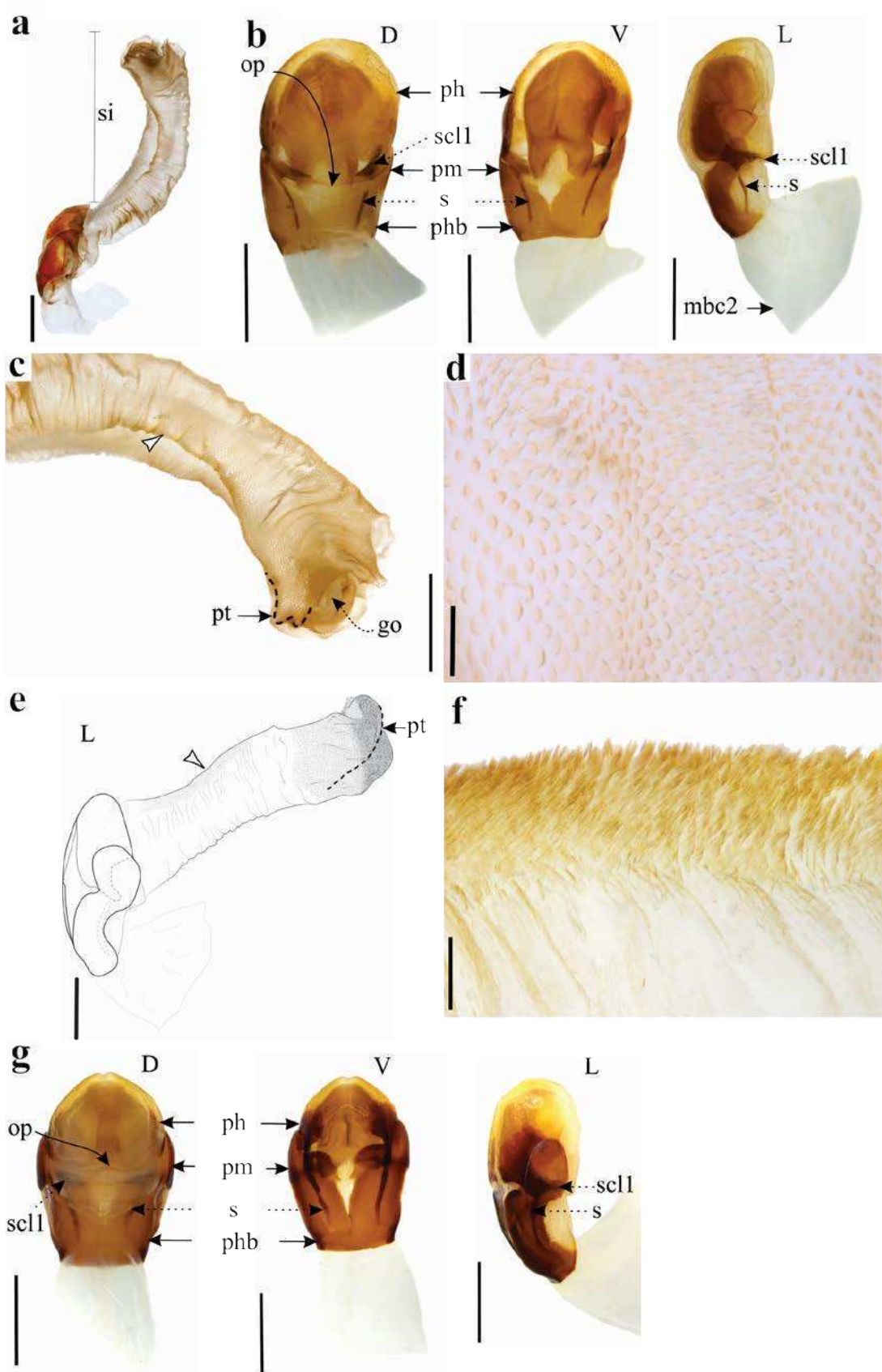
**Genitália masculinas (Fig. 10).** *Habitus*: robusto. *Tamanho*: mediano para grande (2,5–3,8 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma sutura; suporte longo e fino. *Dorsal*: esclerose dorsal dos parâmeros estendendo-se além da sua margem; esclerito dorso ventral (scl 1) muito desenvolvido, estendendo-se pela parte dorsal. *Endofalo* (saco interno): tubular, largo e grande, com parte distal mais volumosa; tegumento claro para escuro nas partes mais esclerotizadas (áreas látero medianas); parte média ventral com esclerose marrom escura (não são setas); parte látero dorsal com abundantes setas longas marrons em forma de escova; sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

**Genitália femininas (Fig. 17a-b).** *Vagina*: presença de um lóbulo que corresponde com o médio dorsal (lbmd). Antes da sua intervenção o lbmd é evidente e desenvolvido, apresenta uma área fortemente esclerosada para sua parte mais proximal e outra parte membranosa e muito pregada. Após, com sua máxima inflação, o lbmd evidencia-se de maior tamanho, arredondado e com abundantes pregas, algumas bem fortes sobre a área esclerosada; íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd. Ducto da glândula inserido diretamente na espermateca.

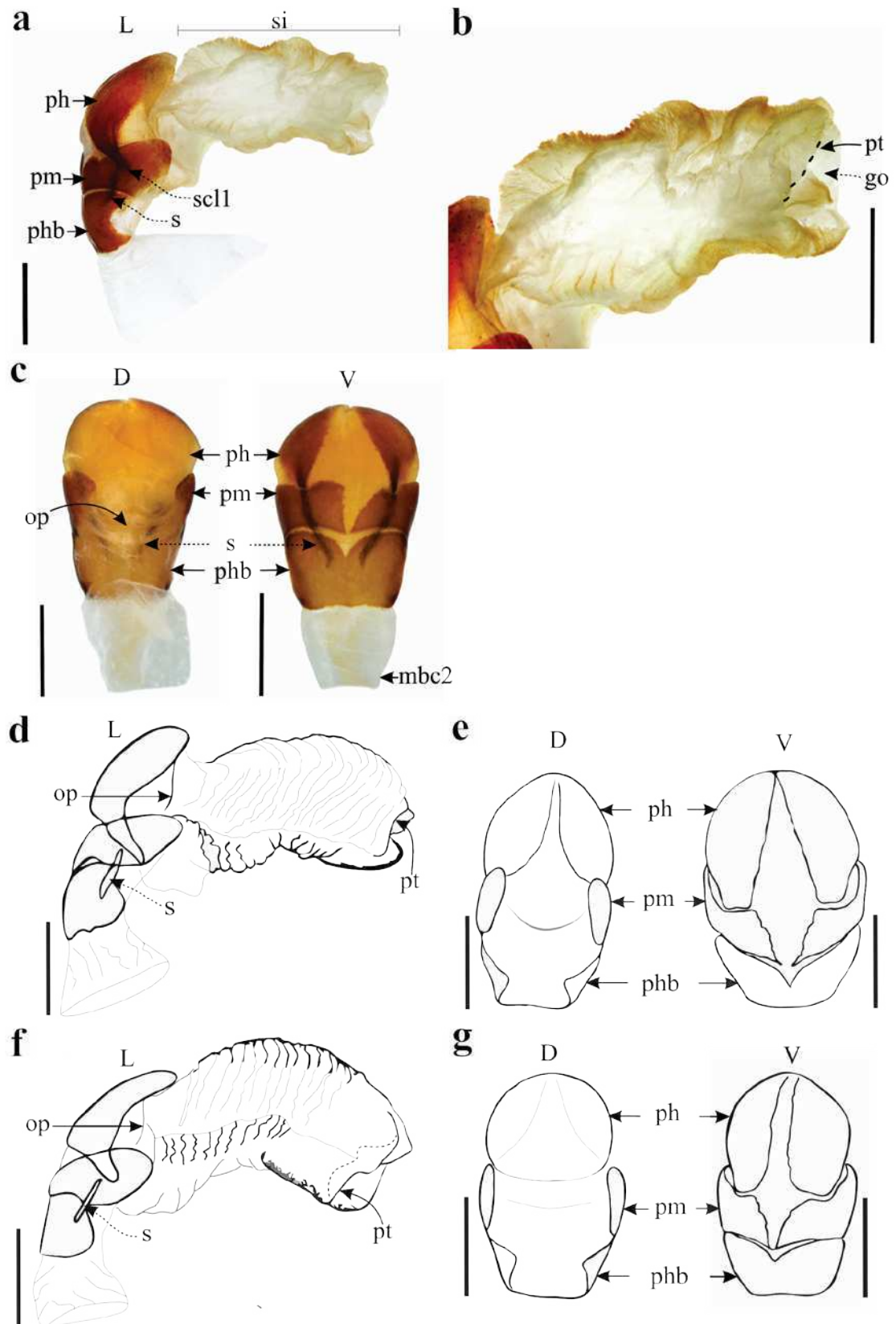
**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: achatado e pubescente, com setas longas e densas. *Tamanho*: mediano para grande (27–40 mm). *Cabeça*: área média frontal e áreas látero frontais com pontuações abundantes; borda frontal com tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos e separados entre eles; tubérculos médio frontais e látero frontais desenvolvidos e distinguíveis; tubérculos internos distinguíveis ou não entre as rugas frontais. *Mesoesterno*: com abundantes pontuações com setas nas partes látero anteriores (*P. coniferus*) ou glabro (*P. peruvianus*); tegumento mate nas partes látero anteriores o resto glabro, liso e brilhante. *Metaesterno*: áreas látero anteriores e/ou látero medianas e perto das coxas com pontuações com setas longas e densas; fossetas amplas e com pontuações com setas; pontuações abundantes rodeando o disco. *Élitros*: ângulos anteriores, parte proximal e medial das epipleuras e interestrias I-II com setas abundantes e longas.



**Figura 10.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Passalus coniferus* Eschscholtz; **e-g**, *P. peruvianus* (Kuwert). **a-c**, **e-f**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, **f**, parte distal do saco interno; **c**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 10b; **d**, **g**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). Escala (a-b, d-e) 1 mm; (c) 0,25 mm; (f-g) 0,5 mm.



**Figura 11.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Passalus glaberrimus* Eschscholtz; **e-g**, *P. perplexus* (Kaup). **a**, **c-f**, com o saco interno evaginado; **c**, parte distal do saco interno; **d**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 11c; **f**, detalhe das setas dorsais indicadas com a seta branca na Fig. 11e; **b**, **g**, com o saco interno invaginado (dorsal, ventral e lateral). Escala (a-c, e, g) 1 mm; (d, f) 0,1 mm.



**Figura 12.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-c**, *Passalus morio* Percheron; **d-e**, *P. nasutus* Percheron; **f-g**, *Passalus sp. 1*. **a-b, d, f**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, parte distal do saco interno; **c, e, g**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). – Escala 1 mm.

## Grupo de “*Passalus glaberrimus* e *P. perplexus*”

**Genitália masculinas (Fig. 11).** *Habitus*: estreito e pouco esclerotizado. *Tamanho*: pequeno (2,0–2,5 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma sutura; suporte longo e fino. *Dorsal*: extensão da esclerose dorsal dos parâmeros restrita à margem. *Endofalo*: tubular, estreito e alongado (muito mais que nos outros grupos); numerosas pregas evoluindo-lhe dorsoventralmente; tegumento claro para escuro nas partes mais esclerotizadas (parte distal); setas curtas, de coloração âmbar na parte dorsal e microespículas âmbar na parte ventral; escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

**Genitália femininas (Fig. 18).** *Vagina*: presença de três lóbulos vaginais, que correspondem ao proximal dorsal (lbpd), médio dorsal (lbmd) e ventral (lbv). O lbpd é evidente, desenvolvido e com muitas pregas, o lbmd e lbv são evidentes apenas após a inflação. Quando na sua máxima inflação o lbpd é de maior tamanho em comparação aos outros lóbulos, arredondado e com algumas pregas; lbmd é relativamente menor e com abundantes pregas juntas; o tegumento do lbv é fortemente pregado e com microespículas marrons claro (aprox. 0.029 mm de comprimento); íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd. Ducto da glândula inserido diretamente na espermateca.

**Principais diferenças entre as genitália das espécies.** Parâmeros e falobase mais curtos em *P. glaberrimus*. Nas fêmeas o lbv, pode ser longo como em *P. glaberrimus* (Fig. 18a-b) ou curto como em *P. perplexus* (Fig. 18c-d).

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: achatado e glabro ou muito pouco pubescente. *Tamanho*: pequeno para mediano (20–27 mm). *Cabeça*: área média frontal e áreas látero frontais com rugas (*P. perplexus*) ou pontuações (*P. glaberrimus*); borda frontal com tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos e separados entre eles; tubérculos médio frontais desenvolvidos e tubérculos látero frontais ausentes; tubérculos internos desenvolvidos, rugas frontais posteriores muito marcadas. Disco do mento sem setas. *Mesoesterno*: glabro; tegumento mate nas partes látero anteriores (*P. glaberrimus*) ou sem aquele tegumento (*P. perplexus*), o resto liso e brilhante. *Metaesterno*: glabro; fossetas estreitas e glabras. *Élitros*: base dos ângulos anteriores com algumas setas curtas.

### Grupo de “*Passalus morio*”

**Genitália masculinas (Fig. 12a-c).** *Habitus*: alongado e ligeiramente convexo. *Tamanho*: mediano (2,7 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase divididos por uma sutura; suporte curto e fino. *Dorsal*: esclerose dorsal dos parâmeros estendendo-se além da sua margem. *Endofalo*: tubular, largo e relativamente grande; tegumento pouco esclerotizado em todas as partes (só uma esclerose fraca perto das linhas parietais), setas curtas âmbar na parte dorsal (não como as de *P. coniferus* e *P. peruvianus*) e microespículas âmbar na parte ventral; sem e escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

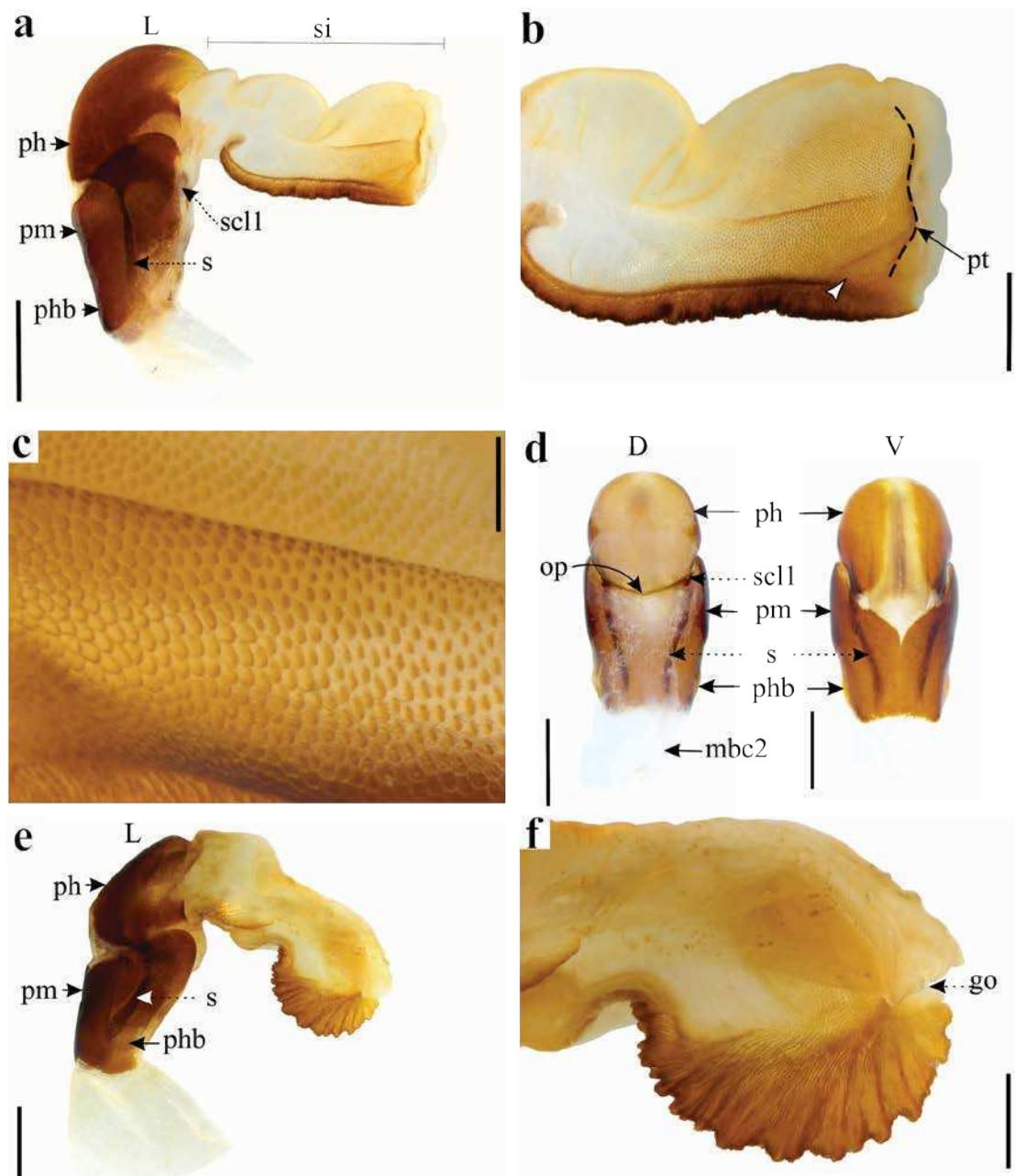
**Genitália femininas (Fig. 19c).** *Vagina*: presença de um lóbulo que corresponde com o médio dorsal (lbmd). Antes da sua intervenção o lbmd é evidente e desenvolvido, sem área esclerosada e muito pregado. Após, com sua máxima inflação, o lbmd evidencia-se de maior tamanho, elíptico e com algumas pregas; na parte proximal interna associado à vagina, próximo ao esclerito IX, há uma estrutura pouco esclerosada dividida em duas subunidades; íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca relativamente longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd.

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: achatado e glabro. *Tamanho*: mediano (26–30 mm). *Cabeça*: área média frontal com pontuações abundantes e áreas látero frontais com rugas e pontuações; margem anterior da borda frontal reta (sem tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos); tubérculos médio frontais e tubérculos látero frontais desenvolvidos; tubérculos internos desenvolvidos e rugas frontais posteriores marcadas mais que as anteriores. Disco do mento com pontos e setas. *Mesoesterno*: glabro; tegumento mate restrito ao ângulo anterior ou nas partes látero anteriores, o resto liso e brilhante. *Metaesterno*: áreas látero anteriores com algumas setas curtas; fossetas estreitas e glabras. *Élitros*: base dos ângulos anteriores com algumas setas curtas.

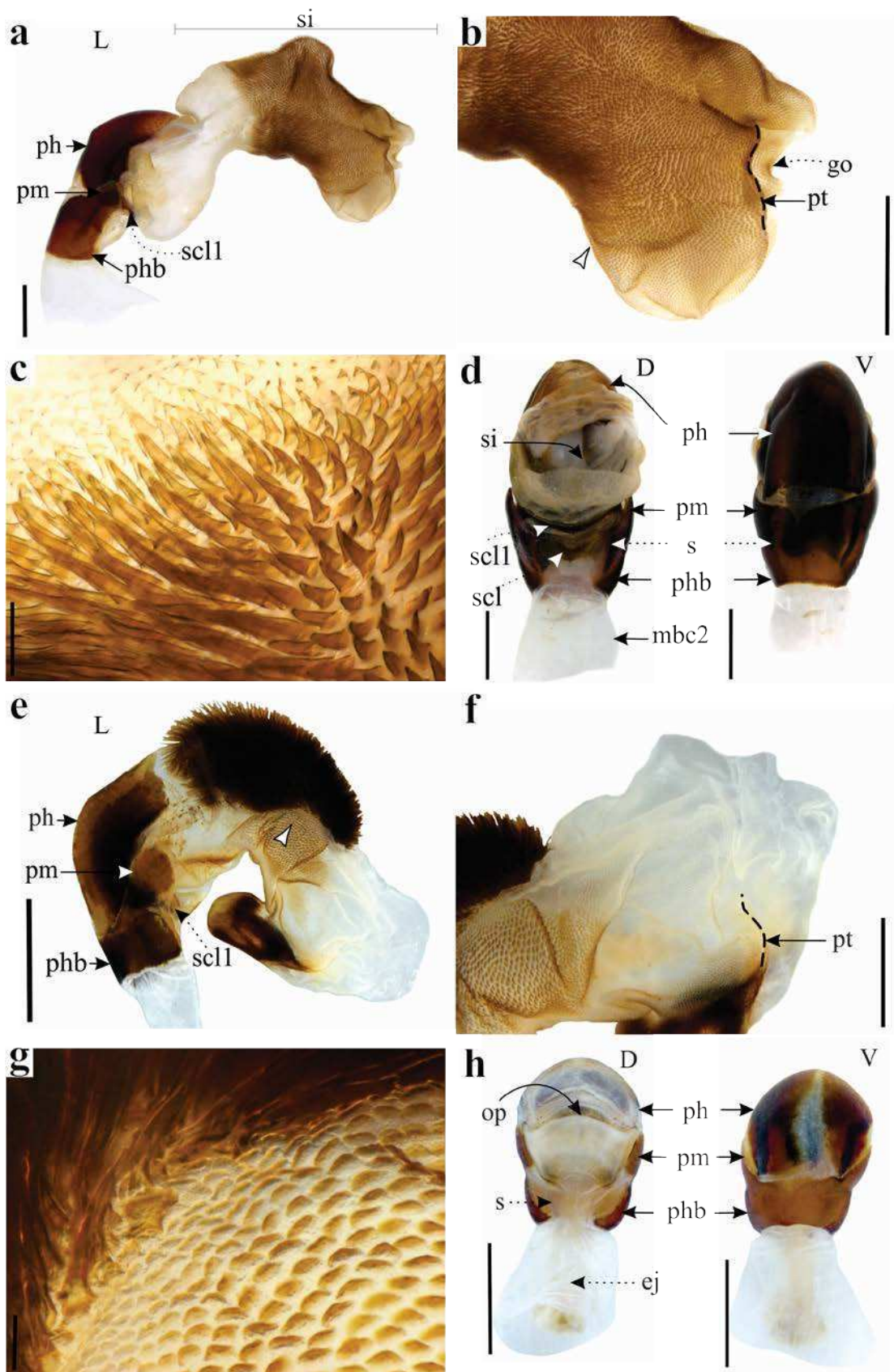
### Grupo de “*Passalus nasutus* e *Passalus sp. 1*”

**Genitália masculinas (Fig. 12d-g).** *Habitus*: alongado e ligeiramente convexo. *Tamanho*: (2,3–2,6 mm). Conformação geral dorso-ventral-lateral da falobase, parâmeros e falo, esclerose media (clara) e dimensões comparáveis. *Ventral*: parâmeros e a falobase divididos por uma sutura fina, mas evidente; suporte longo e

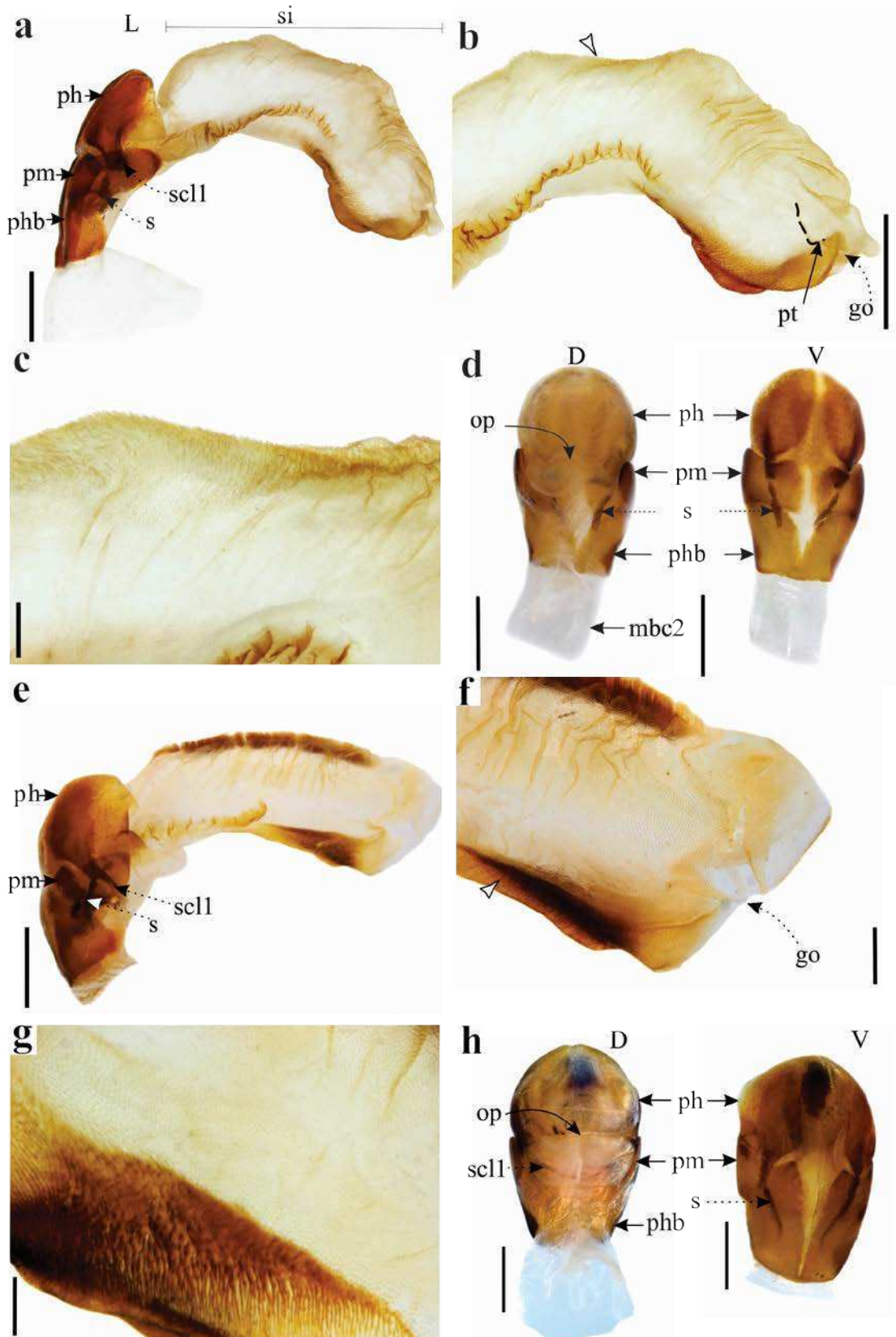
fino. *Dorsal*: esclerose dorsal dos parâmeros estendendo-se além da sua margem. *Endofalo*: tubular e relativamente grande; tegumento pouco esclerotizado em todas as partes, exceto na sua base distal; a esclerose da base distal parece marginal em vista lateral, mas é uma placa ventral, maior do que parece com microespículas âmbar claro; sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3); com numerosas pregas envolvendo-lhe



**Figura 13.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Passalus denticollis* (Kaup); **e-f**, *P. quadricollis* Eschscholtz. **a-c**, **e-f**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, **f**, parte distal do saco interno; **c**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 13b; **d**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). Escala (a-b, d-e) 1 mm; (c) 0,1mm; (f) 0,5 mm.



**Figura 14.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Passalus binominatus* Percheron; **e-h**, *Paxillus brasiliensis* (Le Peletier & Serville). **a-c**, **e-g**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, **f**, parte distal do saco interno; **c**, **g**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 14b, e; **d**, **h**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). Escala (a-b, d-e, h) 1 mm; (c) 0,1 mm; (f) 0,5 mm; (g) 0,05 mm.



**Figura 15.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Passalus ferenudus* (Kuwert); **e-h**, *Spasalus robustus* (Percheron). **a-c**, **e-g**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, **f**, parte distal do saco interno; **c**, **g**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 15b, **f**; **d**, **h**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). Escala (a-b, d) 1 mm; (c, e-f, h) 0,5 mm; (g) 0,1 mm.

dorsoventralmente; as pregas são finas, mas evidentes inclusive quando se faz o processo de inflação; as linhas parietais são pouco visíveis, mas notadas pelas pregas dorsais em contato com as ventrais.

**Genitália femininas (Fig. 19a-b).** *Vagina*: conformação e tamanho do lbmd, após sua inflação, comparáveis com o grupo de espécies “*morio*”. Ducto da espermateca longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd. Ducto da glândula inserido diretamente na espermateca.

**Principais diferenças entre as genitália das espécies.** *Passalus sp. 1* com parâmeros mais curtos na sua parte basal e escleroses dorsais do falo maiores.

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Passalus sp. 1. Habitus*: achatado e glabro. *Tamanho*: pequeno (21–22 mm). *Cabeça*: área média frontal com algumas pontuações e áreas látero frontais com algumas rugas; margem anterior da borda frontal reta (sem tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos); tubérculos médio frontais (tmf) desenvolvidos e tubérculos látero frontais ausentes; tubérculos internos desenvolvidos e rugas frontais posteriores marcadas. Disco do mento sem setas. *Mesoesterno*: glabro; tegumento mate em partes látero anteriores, o resto liso e brilhante. *Metaesterno*: glabro ou com escassas setas curtas nas áreas látero anteriores; fossetas estreitas e glabras. *Élitros*: base dos ângulos anteriores com algumas setas curtas.

*P. nasutus. Habitus*: achatado e pubescente. *Tamanho*: pequeno para mediano (23–28 mm). *Cabeça*: área média frontal com pontuações e áreas látero frontais com algumas rugas; margem anterior da borda frontal reta (sem tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos); tubérculos látero frontais de menor tamanho e pouco visíveis, mas evidenciam-se embaixo dos tmf; tubérculos internos desenvolvidos e rugas frontais posteriores marcadas, mais que as rugas anteriores. Disco do mento sem setas. *Mesoesterno*: igual ao de *Passalus sp. 1*. *Metaesterno*: áreas látero anteriores e perto das coxas com pontuações com setas longas; fossetas estreitas e com pontuações com setas longas. *Élitros*: ângulos anteriores e parte proximal das epipleuras com setas abundantes.

### **Grupo de “*Passalus quadricollis* e *P. denticollis*”**

**Genitália masculinas (Fig. 13).** *Habitus*: alongado e estreito. *Tamanho*: grande (30–35 mm). Conformação geral dorso-ventral-lateral da falobase, parâmeros e falo distinto dos outros grupos. *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma

sutura; suporte longo e fino. *Dorsal*: extensão da esclerose dorsal dos parâmeros restrita à margem; esclerito dorsoventral (scl 1) estendendo-se para a parte dorsal. *Endofalo*: tubular e relativamente grande; tegumento de claro para escuro nas partes mais esclerotizadas (parte distal e em *P. quadricollis* também perto das linhas parietais); setas muito curtas âmbar na parte dorsal; área ventral com esclerose laranja (não são setas); sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

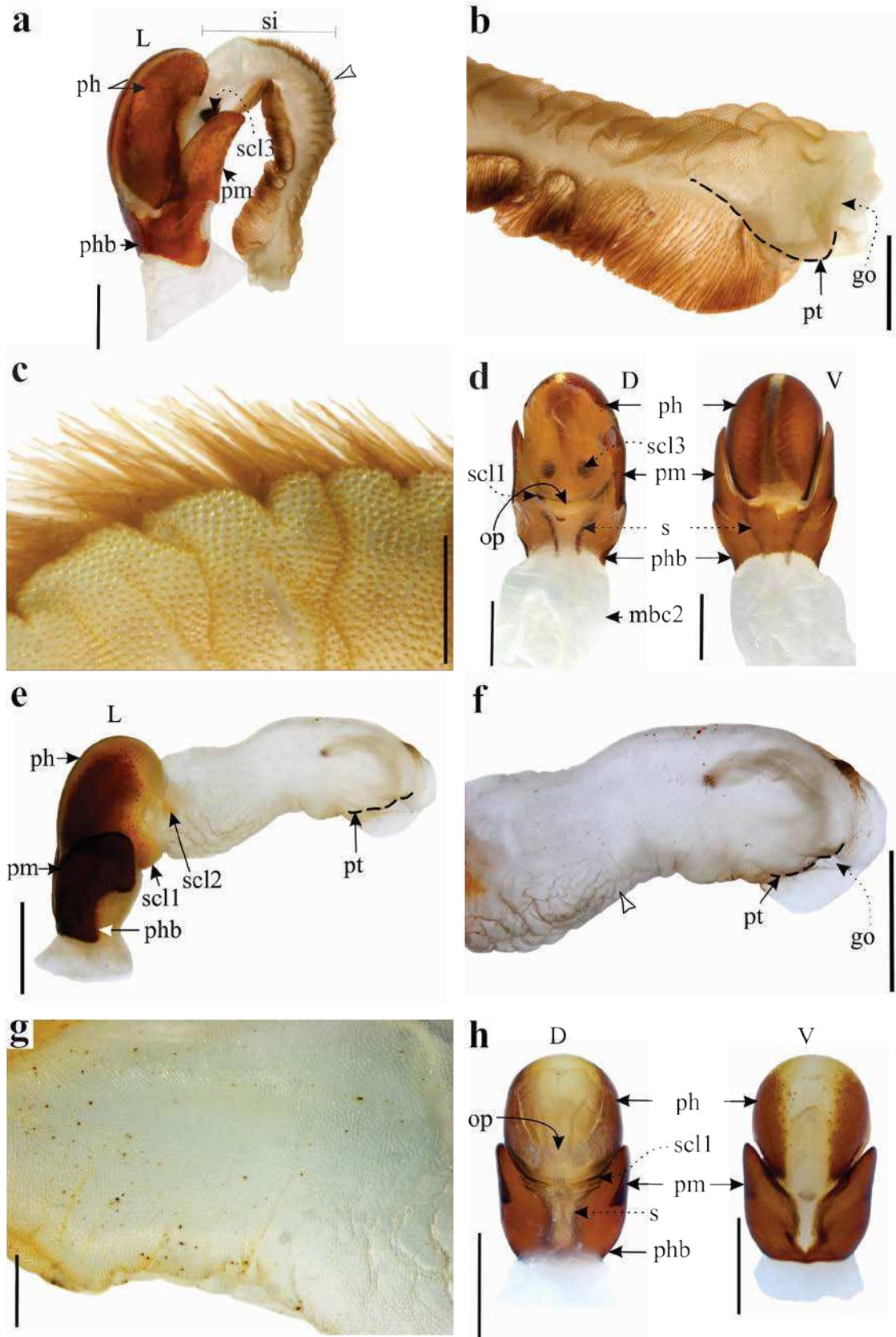
**Genitália femininas (*P. denticollis*) (Fig. 20b).** *Vagina*: presença de um lóbulo que corresponde com o médio dorsal (lbmd). Quando com sua máxima inflação o lbmd é grande, elíptico, com algumas pregas e evidencia-se uma área pequena e debilmente esclerosada para sua parte mais proximal; íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd. Ducto da glândula insere-se muito próximo ao ducto da espermateca.

**Principais diferenças entre as genitália das espécies.** *P. denticollis* com a esclerose ventral do saco interno, estendendo-se desde a parte proximal para a distal (Fig. 12a, c) e em *P. quadricollis* desde parte média para a distal e de maior tamanho (Fig. 12e-f).

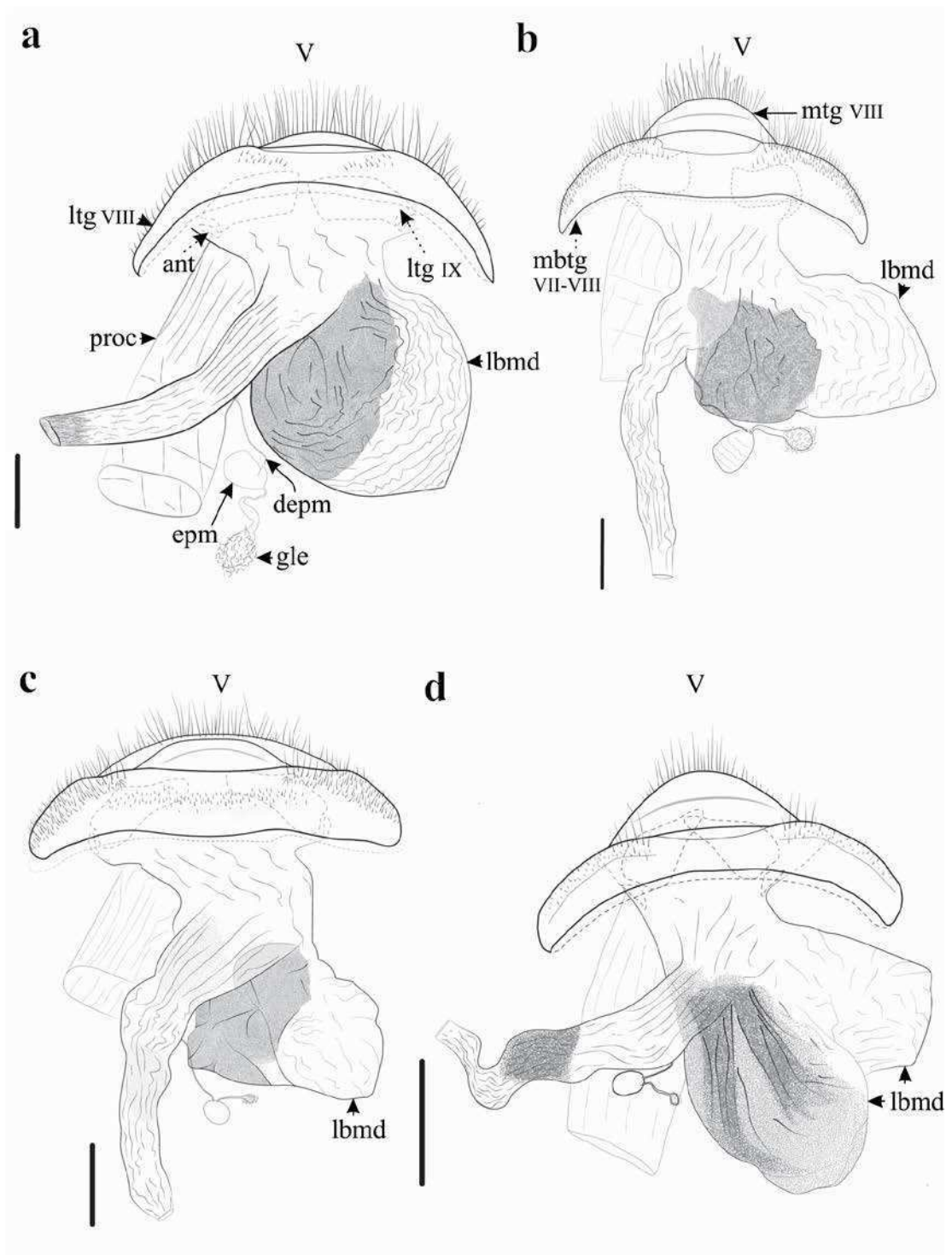
**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: mais robusto e mais convexo que *P. coniferus* e *P. peruvianus*, glabro ou pouco pubescente. *Tamanho*: mediano para grande (32–38 mm). *Cabeça*: área média frontal e áreas látero frontais com rugas abundantes; margem anterior da borda frontal com tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos e próximos entre eles; tubérculos látero frontais ausentes; tubérculos internos desenvolvidos e rugas frontais posteriores marcadas. Disco do mento com setas. *Mesoesterno*: glabro; tegumento mate em partes látero anteriores, o resto liso e brilhante. *Metaesterno*: áreas látero anteriores e perto das coxas com pontuações com setas curtas e pouco densas; fossetas amplas e com pontuações com setas curtas e pouco densas. *Élitros*: base dos ângulos anteriores com algumas setas curtas.

### **Grupo de “*Passalus binominatus*”**

**Genitália masculinas (Fig. 14a-d).** *Habitus*: alongado e fortemente esclerotizado. *Tamanho*: grande (35–38 mm). Conformação geral dorso-ventral-lateral da falobase, parâmeros e falo distinto dos outros grupos. *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma sutura; falo completamente esclerotizado.



**Figura 16.** Genitália ectodérmicas masculinas (edeago). – **a-d**, *Pertinax latifrons* (Percheron); **e-h**, *Veturius simillimus* Kuwert. **a-c**, **e-g**, com o saco interno evaginado (lateral); **b**, **f**, parte distal do saco interno; **c**, **g**, detalhe do tegumento indicado com a seta branca na Fig. 16a, **f**; **d**, **h**, com o saco interno invaginado (dorsal e ventral). Escala (a, d-f, h) 1 mm; (b) 0,5 mm; (c, g) 0,2 mm.



**Figura 17.** Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – **a**, *Passalus coniferus* Eschscholtz; **b**, *P. peruvianus* (Kuwert); **c**, *P. binominatus* Percheron; **d**, *Paxillus brasiliensis* (Le Peletier & Serville). – Escala 1 mm.



*Dorsal*: extensão da esclerose dorsal dos parâmeros restrita à margem; esclerito dorsoventral (scl 1) estendendo-se para a parte dorsal; esclerito médio dorsal presente (em alguns indivíduos ausente); suporte longo e fino. *Endofalo*: tubular, largo e grande; tegumento claro para escuro nas partes mais esclerotizadas que correspondem a numerosas espículas (comprimento 0,053 mm), que o rodeiam desde a parte medial para distal; sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

**Genitália femininas (Fig. 17c).** A conformação da vagina semelhante a *P. coniferus* e *P. peruvianus*, embora o tamanho do lbmd é menor após sua inflação. A espermateca, glândula e seus ductos também de menor tamanho.

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: mais robusto, mais convexo que *P. coniferus* e *P. peruvianus*, glabro ou pouco pubescente. *Tamanho*: mediano para grande (30–40 mm). *Cabeça*: área média frontal e áreas látero frontais com rugas abundantes; borda frontal com tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos e próximos entre eles; tubérculos médio frontais desenvolvidos e tubérculos látero frontais ausentes; tubérculos internos desenvolvidos e rugas frontais posteriores muito marcadas. Disco do mento sem setas. *Mesoesterno*: liso, glabro e brilhante na sua maioria. *Metaesterno*: áreas látero anteriores e perto das coxas com pontuações com setas; fossetas amplas, pouco profundas e com pontuações com setas; poucas pontuações (<10) rodeando o disco. *Élitros*: base dos ângulos anteriores e parte proximal das epipleuras com algumas setas curtas.

### Grupo de “*Passalus ferenudus*”

**Genitália masculinas (Fig. 15a-d).** *Habitus*: alongado e fracamente esclerotizado. *Tamanho*: mediano (2,5 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase divididos por uma sutura. *Dorsal*: esclerose dorsal dos parâmeros estendendo-se além da margem; suporte curto e fino. *Endofalo*: tubular e relativamente grande; tegumento claro para escuro nas partes mais esclerotizadas (perto das linhas parietais e na base distal); setas curtas, âmbar claro na parte dorsal; pregas dorsais evidentes inclusive quando se faz o processo de inflação; sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3).

**Genitália femininas (Fig. 20a).** A conformação da vagina é semelhante a *P. nasutus* e *Passalus sp. 1*. O tamanho do lbmd após sua inflação é pequeno em comparação aos outros grupos estudados.

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: convexo, glabro ou pouco pubescente. *Tamanho*: mediano (28–30 mm). *Cabeça*: área média frontal com algumas

pontuações e áreas látero frontais lisas; margem anterior da borda frontal com tubérculos médio frontais secundários desenvolvidos e próximos entre eles; tubérculos médio frontais (tmf) desenvolvidos e tubérculos látero frontais de menor tamanho e pouco visíveis, mas evidenciam-se embaixo dos tmf; tubérculos internos pequenos, mas visíveis e rugas frontais posteriores marcadas. Disco do mento com setas. *Mesoesterno*: glabro; tegumento mate em partes látero anteriores, o resto liso e brilhante. *Metaesterno*: áreas látero anteriores e perto das coxas com algumas pontuações com setas curtas; fossetas estreitas e glabras; com poucas pontuações (<5) perto do disco. *Élitros*: base dos ângulos anteriores e parte proximal das epipleuras com algumas setas curtas.

### **Grupo de “*Pertinax latifrons*”**

**Genitália masculinas (Fig. 16a-d).** *Habitus*: alongado. *Tamanho*: grande (35 mm). Conformação geral dorso-ventral-lateral da falobase, parâmeros e falo distinto dos outros grupos. *Ventral*: parâmeros e a falobase divididos por uma sutura; falobase curta, parâmeros bem desenvolvidos e falo longo. *Dorsal*: extensão da esclerose dorsal restrita à margem; suporte longo e fino. *Endofalo*: tubular, estreito, alongado e curvado para embaixo; abundantes setas longas laranjas na parte média dorsal (não como as de *P. coniferus* e *P. peruvianus*); parte ventral com esclerose laranja (não são setas) estendendo-se deste a parte proximal para distal; numerosas microespículas laterais (acima das linhas parietais) e dorsais (após das setas médio dorsais); escleritos bilaterais acessórios (scl 3) presentes; numerosas pregas látero dorsais.

**Genitália femininas (Fig. 21a).** *Vagina*: presença de dois lóbulos, que correspondem ao proximal dorsal (lbpd) e médio dorsal (lbmd). Antes da sua intervenção os dois lóbulos são evidentes e desenvolvidos, o lbpd é membranoso e com pregas leves, pelo contrario o lbmd é fortemente esclerotizado e pregado. Após, com sua máxima inflação, o lbpd é de maior tamanho, elíptico, hialino e frágil; o lbmd é menor e muito rígido; íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca longo e com o seu ponto de inserção entre as *pars vaginalis* e o lbmd. Ducto da glândula inserido diretamente na espermateca.

**Caracteres externos do corpo dos adultos.** *Habitus*: convexo e glabro. *Tamanho*: médio (30–32 mm). *Cabeça*: parte da fosseta do clipeo evidente em vista dorsal; área média frontal com pontuações e áreas látero frontais com algumas rugas; margem anterior da borda frontal reta (sem tubérculos médio frontais secundários

desenvolvidos); tubérculos médio frontais desenvolvidos e tubérculos látero frontais ausentes; tubérculos internos pequenos, mas visíveis e rugas frontais posteriores marcadas. Disco do mento sem setas. *Mesoesterno*: glabro, liso e brilhante. *Metaesterno*: glabro; fossetas estreitas e glabras; poucas pontuações (<5) perto do disco. *Élitros*: glabros.

### **Grupo de “*Paxillus brasiliensis*”**

As genitália ectodérmicas masculinas e femininas (Figs. 14e-h, 17d) são semelhantes àquelas de *Passalus s. str.*, embora, nas fêmeas de *P. brasiliensis* o lbmd é consideravelmente maior. O ducto da espermateca é curto em comparação com os Passalini estudados.

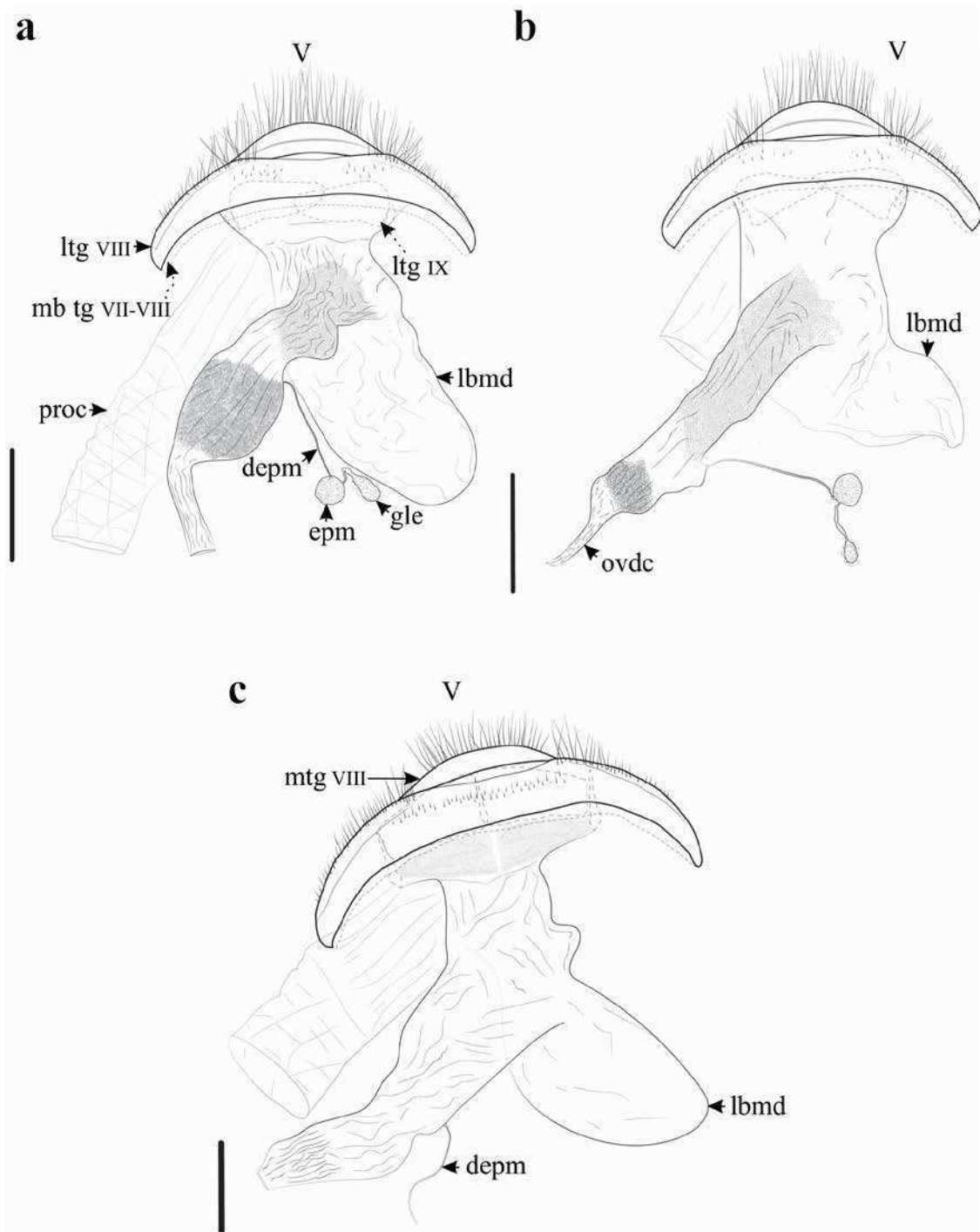
### **Gênero *Spasalus*: *S. robustus***

**Genitália masculinas (Fig. 15e-h).** *Habitus*: ligeiramente convexo e fracamente esclerotizado. *Tamanho*: pequeno (16 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma sutura. *Dorsal*: extensão da esclerose dorsal dos parâmeros restrita à margem; esclerito dorsoventral (scl 1) fino e estendendo-se pela parte dorsal; suporte curto e fino. *Endofalo*: tubular, estreito e relativamente grande; tegumento claro para escuro nas partes mais esclerotizadas (perto das linhas parietais); setas médio dorsais marrons e longas, mas não como as de *Passalus s. str.*, base distal com esclerose marrom (não são setas); sem escleritos bilaterais acessórios (scl 2–3); pregas dorsais evidentes.

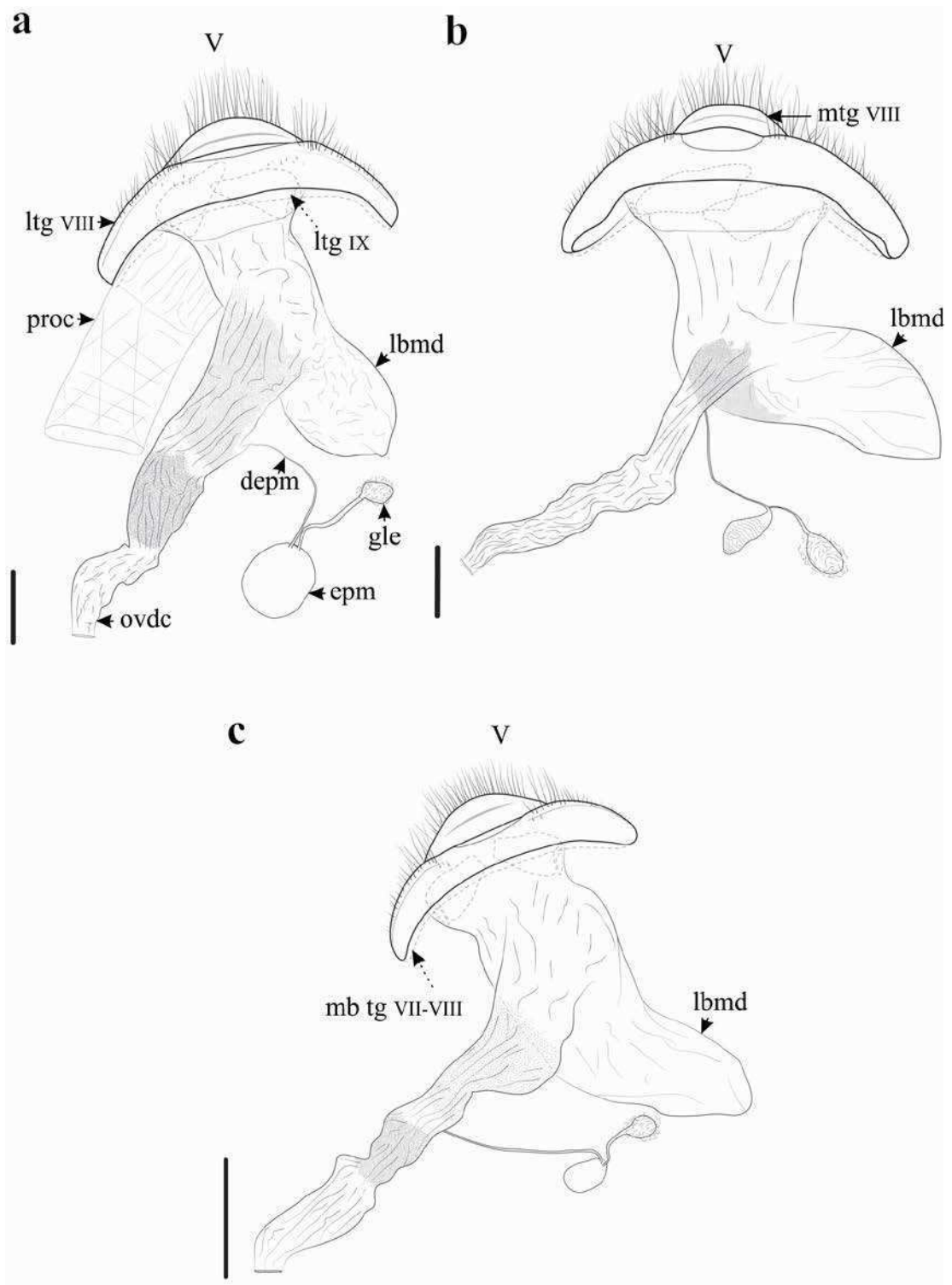
**Genitália femininas (Fig. 20c).** A conformação da vagina similar a *P. nasutus*, *Passalus sp. 1* e *P. ferenudus*; o tamanho do lbmd na sua máxima inflação comparável com as duas primeiras espécies mencionadas, mas o comprimento do ducto da espermateca é relativamente maior.

### **Gênero *Veturius*: *V. sinuatus* e *V. simillimus***

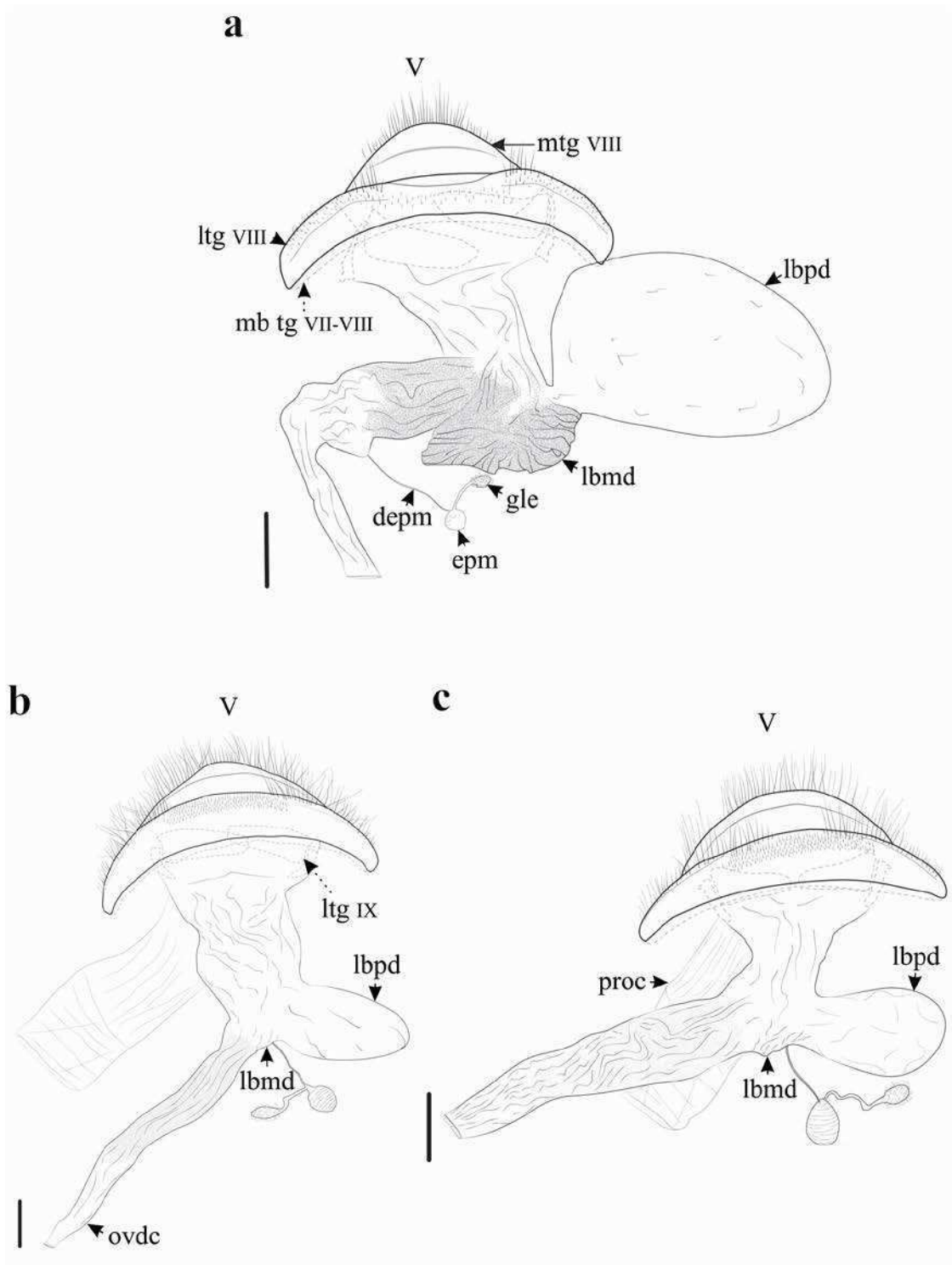
**Genitália masculinas (*V. simillimus*) (Fig. 16e-h).** *Habitus*: alongado. *Tamanho*: mediano (26–28 mm). *Ventral*: parâmeros e a falobase não divididos por uma sutura; esclerito dorsoventral (scl 1) estendendo-se pela parte dorsal. *Dorsal*: extensão da esclerose dorsal restrita à margem; suporte longo e fino. *Endofalo*: tubular,



**Figura 19.** Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – **a**, *Passalus nasutus* Percheron; **b**, *Passalus sp. 1*; **c**, *P. morio* Percheron. – Escala 1 mm.



**Figura 20.** Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – **a**, *Passalus ferenudus* (Kuwert); **b**, *P. denticollis* (Kaup); **c**, *Spasalus robustus* (Percheron). – Escala 1 mm.



**Figura 21.** Genitália ectodérmicas femininas (ventral). – **a**, *Pertinax latifrons* (Percheron); **b**, *Veturius sinuatus* (Eschscholtz); **c**, *V. simillimus* Kuwert. – Escala 1 mm.

estreito e relativamente grande; tegumento pouco esclerotizado em todas as partes, só uma pequena esclerose dorsal na parte mais distal; abundantes dobras ventrais na parte proximal; escleritos bilaterais acessórios (scl 2) presentes.

**Genitália femininas (Fig. 21b-c).** *Vagina*: presença de dois lóbulos, que correspondem ao proximal dorsal (lbpd) e médio dorsal (lbmd). Antes da sua intervenção o lbpd é evidente, desenvolvido e muito pregado, já o lbmd é só visível depois da inflação. Após, com sua máxima inflação, o lbpd é relativamente pequeno em comparação aos outros grupos de espécies estudadas, elíptico e com algumas pregas; o lbmd é pouco desenvolvido e com dobras leves; íntima da vagina lisa. Ducto da espermateca relativamente curto e o seu ponto de inserção no lbmd. Ducto da glândula inserido diretamente na espermateca.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” masculinas de *Spasalus robustus*

As estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas de *S. robustus* são semelhantes àquelas descritas para passalídeos das Américas dos gêneros *Passalus* (Passalinae: Passalini), *Arrox* Zang, *Popilius* e *Odontotaenius* (Passalinae: Proculini) (Williams 1945; Krause 1946; Virkki 1961; Cruz & Castillo 2008). Entretanto, difere das de *Pentalobus* (Passalinae: Solenocyclini) (África), que apresenta apenas um folículo por testículo, com aspecto arredondado (Baker 1973). Este tipo de folículo é possivelmente um carácter que distingue a fauna africana da americana. Outras variações que ocorrem nas espécies estão no comprimento do ducto ejaculatório, glândulas acessórias, folículos e germário.

A presença de septos nos testículos de *S. robustus* também ocorre em *P. punctiger*, *O. disjunctus*, *O. striatopunctatus*, estando ausentes em *A. agassizi* (Krause 1946; Virkki 1961; Cruz & Castillo 2008). Krause (1946) relatou para *O. disjunctus* que os folículos estão divididos em 20–25 secções, comparando com as observações preliminares na espécie estudada, é provável que este número seja um carácter específico e útil na sistemática da família. O tipo de folículo septado tem-se reportado para algumas famílias relacionadas filogeneticamente com Passalidae, como Trogidae (*Omorgus*), Scarabaeidae (só para Pleurosticti) e Geotrupidae (Geotrupinae) (Virkki 1957; Stringer 1990; Friedlander *et al.* 1999; Martinez & Cruz 1999).

O ducto eferente em posição intrafolicular também acontece em Trogidae, Scarabaeidae e Geotrupidae (Virkki 1957; Stringer 1990; Friedlander *et al.* 1999; Martinez & Cruz 1999) e é considerado uma possível apomorfia para Scarabaeoidea (Friedlander *et al.* 1999).

A presença de músculos associados ao ducto eferente intrafolicular em *Omorgus freyi* Haaf (Trogidae) está relacionada às contrações que ajudam à disposição dos cistos durante o seu desenvolvimento e à chegada dos espermatozoides maduros no ducto eferente (Friedlander *et al.* 1999). Isso pode ocorrer de forma semelhante neste passalídeo onde também foram observadas células musculares.

Em alguns Coleoptera, nos quais os folículos convergem em um único ducto eferente que é extrafolicular, os acontecimentos da espermiogênese ocorrem de forma similar que na maioria dos insetos, sendo que cada etapa de desenvolvimento cístico ocupa uma zona específica dentro do folículo, seguindo um relativo padrão de organização, como relatado, por exemplo, para Tenebrionidae (Dias *et al.* 2013) e Curculionidae (Alzahrani *et al.* 2013). Nestas famílias, os cistos em estágio inicial de desenvolvimento encontram-se na parte apical e progressivamente, os estágios posteriores vão avançando para a parte posterior do folículo. Em aqueles besouros onde o ducto eferente é intrafolicular, a espermiogênese acontece de maneira particular. Trogidae e Geotrupidae (Geotrupinae) têm os folículos divididos em septos testiculares e os cistos organizam-se de forma centrípeta em cada um destes septos. Assim os estádios iniciais estão na periferia do folículo e os estádios mais avançados orientados para o centro, onde está o ducto eferente (Friedlander *et al.* 1999; Martinez & Cruz 1999). Em Scarabaeidae (Scarabaeinae e Aphodiinae) os folículos não são divididos em septos, assim os cistos iniciais migram para a periferia desde a parte distal a proximal do folículo, onde continuam os estádios subsequentes e logo os espermatozoides maduros rodeiam o ducto eferente (Martinez & Cruz 1999).

Para Passalidae, Krause (1946) indicou que na espermiogênese não há um arranjo definido da periferia para o centro ou da parte distal para proximal no folículo. Assim, os cistos em diferentes estádios de desenvolvimento encontram-se distribuídos aleatoriamente pelo folículo, mas prevalecendo no germário aqueles com espermatogônias iniciais. Os cistos com espermatozoides estão na região central e logo migram da parte proximal para a distal na margem do ducto eferente até entrarem na sua luz, similar ao observado para *S. robustus*. Entretanto, em *O. striatopunctatus*,

Cruz & Castillo (2008) sugerem uma organização da espermiogênese similar àquela de Trogidae.

Caracteres morfológicos dos espermatozoides para Passalidae são pouco conhecidos. Até o presente estudo, só Shaffer (1917), no seu trabalho sobre a espermatogênese de *O. disjunctus* relatou detalhes de espermátides em estádios avançados de desenvolvimento. Apenas é conhecido o comprimento dos espermatozoides de *O. striatopunctatus* sem outra descrição (Cruz & Castillo 2008), que é maior do que em *S. robustus*. Em ambas as espécies essas células são filiformes, com núcleos reduzidos e flagelos longos. Além do tamanho, outros caracteres dos espermatozoides tem mostrado importância na filogenia para famílias de Coleoptera (Burrini *et al.* 1988), como também para outros grupos de Insecta (Jamieson 1987) e deveriam ser considerados em estudos futuros com Passalidae.

## **5.2. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas “internas” femininas de *Veturius sinuatus***

A morfologia geral das estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas femininas de *V. sinuatus* assemelha-se à descrita para espécies dos gêneros *Odontotaenius*, *Passalus* e *Pentalobus* (Williams 1945; Krause 1946; Bryan 1954; Baker 1973; Fonseca 1981; Cruz & Castillo 2008). As variações ocorrem no comprimento dos ovários, filamento terminal, ovidutos laterais e oviduto comum.

Como Boucher (2006) demonstrou, o tamanho e forma dos lóbulos vaginais como sua presença ou não, são caracteres que diferem entre os gêneros e grupos de espécies de Passalidae. No caso de *V. sinuatus* a conformação destes lóbulos difere em comparação com os Passalini estudados da região sudeste do Brasil. Estes apresentam o lóbulo médio dorsal de maior tamanho e em alguns grupos é consistente a presença de uma área esclerosada, além o ponto de inserção do ducto da espermateca está entre este lóbulo e as *pars vaginalis*. Observações que concordam com as de Boucher (2006) para os representantes de Passalini avaliados. Da mesma forma, *V. sinuatus* apresenta o lóbulo proximal dorsal de menor tamanho comparado com os Passalini que apresentam este lóbulo (*Pertinax latifrons*, *Passalus gaberrimus* e *P. perplexus*). Dentro dos grupos de espécies do gênero *Veturius*, como dentro da tribo Proculini também acontecem diferenças em relação à morfologia destes lóbulos (ver Boucher 2006).

Cruz & Castillo (2008) relataram pela primeira vez a presença de espermatóforos em Passalidae, encontrados no lóbulo proximal dorsal da vagina. De igual maneira, em

*V. sinuatus* os espermátóforos foram localizados neste lóbulo, o que sugere que esta estrutura tem a função da *bursa copulatrix*, que é o armazenamento temporário do espermátóforo após o acasalamento.

Entretanto, quanto à estrutura e organização celular dos ovários maduros de *V. sinuatus*, assemelham-se àsquelas descritas para *Odontotaenius* (Krause 1946; Bryan 1954; Cruz & Castillo 2008), sugerindo uma provável uniformidade na conformação deste órgão na fauna de passalídeos americanos. Embora os ovários de Passalidae sejam do tipo meroísitico telotrófico, foram notadas diferenças em relação ao plano básico deste tipo de ovário presente em Polyphaga (Coleoptera) (Büning 1994). Neste sentido, a principal diferença observada em adultos de *V. sinuatus* é o filamento terminal dos ovaríolos contendo um sincício com aspecto espiral. Uma estrutura similar foi relatada por Krause (1946) e Bryan (1954) para *O. disjunctus*. Cruz & Castillo (2008) não descrevem esta região para *O. striatopunctatus*, mas é evidente nas micrografias apresentadas a presença dela. Assim, parece que esta região é típica nos ovários de Passalidae.

Contrário à estrutura do filamento terminal que tem sido observada nos passalídeos avaliados, em outros besouros Polyphaga como por exemplo *Costelytra zealandica* (White) (Melolonthinae) se reportou que o filamento terminal de cada um dos seis ovaríolos tem um único núcleo central (Stringer 1988). Para representantes de Curculionidae também se indica a presença de algumas células nesta região dos ovaríolos, que inicialmente apresentam forma achatada e depois se tornam irregulares (Świątek 2001), mas não como um sincício. Em Tenebrionidae também se reportou a presença de células, mas não foram descritos outros detalhes (Trauner & Büning 2007).

Krause (1946) considera esta região de aspecto espiralado como sendo o ápice do germário e tendo como provável função a transferência de material citoplasmático aos ovócitos, similar à função que cumpre a câmara trófica (trofário) que se encontra nos ovários telotróficos maduros (Büning 1972). Entretanto, os dados aqui obtidos sugerem que esta região é a parte mais basal do filamento terminal, na transição para o trofário, o que é apoiado pela presença do septo transversal. Büning (1994), também mencionou que as células basais do filamento terminal em varias espécies de Hemiptera e Coleoptera separam-se do trofário por este septo.

Embora a função desta região do ovaríolo em passalídeos não esteja ainda compreendida, em alguns insetos o filamento terminal abriga além das células

somáticas, possivelmente as células tronco (células polares) que originarão às germinativas e pré-foliculares (Tanaka & Hartfelder 2004). Diferentemente do que ocorre em *Drosophila* Fallén (ovários meroísticos politróficos) cujo curto filamento terminal aloja unicamente células somáticas (Sahut-Barnola *et al.* 1995).

Em Polyphaga é comum encontrar uma tendência à redução das membranas celulares entre as células nutridoras, mas o nível de redução varia entre as famílias destes besouros, desde ausente (ex. Meloidae), parcial (ex. Silphidae) ou total (ex. Scarabaeidae) (Büning 1979b). No caso de *V. sinuatus*, as membranas celulares entre os trofócitos não aparecem bem delimitadas o que indica que ocorre um processo de redução parcial da membrana entre as células de cada um dos *clusters*.

As células intersticiais presentes no trofário de *V. sinuatus* não tinham sido indicadas para os passalídeos avaliados (Krause 1946; Bryan 1954; Cruz & Castillo 2008) mas são também reportadas em Scarabaeoidea (Stringer 1988) e outras famílias de Polyphaga (Büning 1979b; Świątek 2001; Trauner & Büning 2007).

Os ovócitos em desenvolvimento na região inicial do vitelário nos ovários de *V. sinuatus* têm finos e curtos prolongamentos citoplasmáticos, os quais também foram verificadas para *O. disjunctus* por Krause (1946) e Bryan (1954). Estas prolongações citoplasmáticas podem estar relacionadas aos cordões nutritivos que conectam os ovócitos ao tecido trófico, como é reportado para vários representantes de Polyphaga (Büning 1979a).

A organização celular dos demais órgãos reprodutivos femininos de *V. sinuatus* assemelha-se àquela descrita em *O. striatopunctatus* (Cruz & Castillo 2008).

### **5.3. Morfoanatomia das estruturas reprodutivas ectodérmicas (genitália) masculinas e femininas e caracteres dos adultos**

As observações da morfoanatomia das genitália ectodérmicas completas masculinas e femininas das 16 espécies de Passalidae avaliadas, suportam as ideias atuais sobre a diversidade destas estruturas reprodutivas e do seu valor na sistemática da família, assim como as ideias sobre a heterogeneidade filogenética do gênero *Passalus*, ideias iniciadas por Boucher (2006). Essas estruturas reprodutivas evidenciam também que a composição da fauna da região sudeste do Brasil é diferente daquela considerada até o momento.

Os caracteres morfológicos verificados nas genitália ectodérmicas de ambos os sexos parecem corresponder com as homologias que foram a base para o agrupamento

das espécies. Os agrupamentos são apoiados, também pelos caracteres morfológicos externos do corpo dos adultos. Assim, conservam-se algumas espécies dentro de *Passalus s. str.* e *Pertinax s. str.*, e as demais foram incluídas em seis grupos que são nomeados “*binominatus*, *ferenudus*, *glaberrimus*, *morio*, *nasutus*, e *quadricollis*”. *Pertinax* é mantido em nível de gênero como indicado por Boucher (2015b). Para *Veturius*, não existem dificuldades nos seus limites sistemáticos, pois o gênero é monofilético (Boucher 2006). Vários dos agrupamentos aqui propostos coincidentemente concordam com aqueles de Luederwaldt (1931).

A seguinte divisão é proposta:

**Gênero *Passalus* Fabricius, s. str.**

1. *P. coniferus* Eschscholtz 1829
2. *P. peruvianus* (Kuwert 1898)

*nec. Passalus*: “gêneros *incertae sedis*”

**Grupo de espécies « *binominatus* »**

3. *P. binominatus* Percheron 1835

**Grupo de espécies « *glaberrimus* »**

4. *P. glaberrimus* Eschscholtz 1829
5. *P. perplexus* (Kaup 1869)

**Grupo de espécies « *ferenudus* »**

6. *P. ferenudus* (Kuwert 1898)

**Grupo de espécies « *morio* »**

7. *P. morio* Percheron 1835

**Grupo de espécies « *nasutus* »**

8. *P. nasutus* Percheron 1835
9. *Passalus* sp. 1

**Grupo de espécies « *quadricollis* »**

10. *P. quadricollis* Eschscholtz 1829
11. *P. denticollis* (Kaup 1869)

**Gênero *Pertinax* Kaup**

12. *P. latifrons* (Percheron 1841)

### 5.3.1. Considerações das relações filogenéticas

Com base nos caracteres que se supõem homólogos nas genitália ectodérmicas masculinas e femininas, são apresentadas as considerações mais relevantes sobre as relações filogenéticas dos passalídeos estudados com ocorrência na região sudeste do Brasil e suas relações com outras faunas de Passalidae.

#### *Passalus s. str. e Paxillus*

Como demonstrado por Boucher (2006) há uma estreita relação filogenética entre estes dois táxons, suportado por caracteres das genitália ectodérmicas nos dois sexos e externos do corpo dos adultos, como a confirmação das rugas e tubérculos da cabeça bem como a das antenas. As principais diferenças entre as genitália das espécies em *Passalus s. str.* estão na posição da esclerose ventral do saco interno que pode variar da posição média (ex. *P. coniferus*) para a distal (ex. *P. affinis* Percheron, ver Boucher 2006). Em *Passalus s. str.* o esclerito dorsoventral (scl 1) aparece mais desenvolvido em comparação aos outros grupos de « *Passalus* » (exceto *binominatus* e *quadricollis*). Em *Paxillus*, os escleritos bilaterais acessórios (scl 3) do saco interno aparecem e desaparecem neste gênero, estando presentes em *P. pentaphyllus* (Palisot) (ver Boucher 2006) e ausentes em *P. brasiliensis*, situação também observada por Boucher (2006) para outros Proculini.

#### Grupo “*glaberrimus*”

As genitália ectodérmicas de ambos os sexos são muito características, o que suporta que este grupo é distinto de *Passalus s. str.* e dos outros grupos de « *Passalus* » que são aqui separados e definidos. Nos machos a conformação do saco interno do edeago é distinta e o seu comprimento parece corresponder à vagina, essa relação morfoanatômica também foi demonstrada em *Verres* (Boucher 2006). Nas fêmeas estão presentes três lóbulos vaginais. O lóbulo ventral (lbv) neste grupo difere do lóbulo proximal ventral descrito por (Boucher 2006), para *Spurius* Kaup e *Vindex* Kaup (Proculini) quanto a sua posição, que não é restrita à base da vagina, forma, tamanho e tegumento, o qual apresenta numerosas microespículas que não tinham sido observadas em outros de Passalini ou Proculini. Para Boucher (2006) as estruturas observadas em *Vindex* e *Spurius* sugere homoplasia, o que acontece possivelmente neste grupo. Assim a conformação do lbv é um caracter único do grupo “*glaberrimus*”. O lóbulo médio dorsal é de menor tamanho e com pregas características distintas às

observadas nos outros grupos de espécies estudados. O lóbulo proximal dorsal está ausente em *Passalus s. str.* e em outros grupos de « *Passalus* », mas presente no grupo « *Passalus* » *guatemalensis* Kaup (*Ameripassalus* Jiménez-Ferbans & Reyes-Castillo), *Pertinax s. str.* e em representantes de Proculini (Boucher 2006). O que leva a suspeitar que o grupo “*glaberrimus*” esteja mais relacionado com estes últimos táxons.

### **Grupo “*morio*”**

A margem anterior da borda frontal reta (ausência tubérculos médio frontais secundários) nos adultos de *P. morio*, foi um caractere que levou seu posicionamento dentro do subgênero *Pertinax* desde Luederwaldt (1931). Boucher (2006) destacou os caracteres chaves nas genitália para a separação do verdadeiro *Pertinax s. str.* Entre os principais estão o desenvolvimento do lóbulo vaginal proximal dorsal nas fêmeas e nos machos o saco interno tubular, estreito, alongado e curvado para embaixo e com escleritos bilaterais assessórios (scl 3) presentes. As observações sobre as genitália masculinas e femininas de *P. morio*, evidenciam que esta espécie não segue o padrão de *Pertinax s. str.* nem de *Passalus s. str.* No entanto, existe afinidade com o grupo “*nasutus*”, na conformação das escleroses do edeago, parâmeros e falobase divididos por uma sutura e o saco interno com a base distal com microespículas, mas difere em apresentar o saco interno com setas dorsais.

### **Grupo “*nasutus*”**

As espécies deste grupo formam um grupo distinto de *Passalus s. str.* e dos outros grupos de « *Passalus* » aqui definidos. A ausência de setas dorsais não é comum nos Passalini aqui estudados e nos avaliados por Boucher (2006), os quais apresentam o saco interno com setas dorsais que variam de longas e abundantes para muito curtas, mas sempre na mesma posição. No grupo “*nasutus*” há ainda outros caracteres distinguíveis, como o saco interno com numerosas pregas dorsoventrais, uma placa base distal com microespículas e falobase e parâmeros divididos por uma sutura, sugerindo afinidade com o grupo “*morio*”.

### **Grupo “*quadricollis*”**

Os caracteres observados nas genitália masculina e feminina são comparáveis com o grupo de espécies “*binominatus*”, no entanto o grupo “*quadricollis*” distingue-se pela presença de setas dorsais muito curtas, mas evidentes e também pela esclerose ventral no saco interno.

### **Grupo “*binominatus*”**

Este grupo pode ser distinguido de *Passalus s. str.* e dos outros grupos de « *Passalus* » pelos caracteres da genitália ectodérmica masculina. Entre os principais estão o edeago fortemente esclerotizado e saco interno com microespículas desde sua parte média para distal. A presença dessas microespículas no tegumento lembra aquelas do saco interno nas espécies do grupo « *Passalus* » *guatemalensis* (*Ameripassalus* Jiménez-Ferbans & Reyes-Castillo) (ver Boucher 2006). A conformação da vagina é pouco distinta da *Passalus s. str.* e *Paxillus*. Os caracteres das genitália de ambos os sexos poderiam sugerir uma relação próxima de *P. binominatus* com os táxons mencionados.

### **Grupo “*ferenudus*” e *Spasalus***

A conformação geral das genitália ectodérmicas em ambos os sexos entre estes dois táxons é afim. Nos machos o saco interno é alongado, tubular e apresenta setas dorsais, embora em *P. ferenudus* sejam mais curtas e pouco evidentes, embora estejam na mesma posição. Outros caracteres comparáveis do saco interno são a esclerose na base distal e a esclerose perto das linhas parietais. Nas fêmeas o ducto da espermateca é longo, a vagina alongada e o lóbulo médio dorsal na sua máxima inflação alongado. O grupo “*ferenudus*” distingue-se pelo edeago com falobase e parâmeros divididos por uma sutura evidente, o saco interno grande e dirigido para embaixo, *Spasalus* por a esclerose dorsal dos parâmeros restrita à margem e as setas mais longas e densas.

Como base em caracteres externos do corpo dos adultos, Jiménez-Ferbans & Reyes-Castillo (2014) indicaram a *Spasalus* relacionado com representantes dos gêneros *Pertinax* e *Antillanax* Boucher.

### ***Pertinax***

As genitália de ambos os sexos de *P. latifrons* é claramente distinta de *Passalus s. str.* e dos outros grupos de espécies avaliados. As observações nesta espécie apoiam separar *Pertinax* como um grupo definido dentro de Passalini, com possíveis relações com Proculini e, por conseguinte, sua revalidação ao nível de gênero como proposto por Boucher (2006, 2015a, 2015b). As principais diferenças entre as genitália das espécies em *Pertinax* estão na posição e abundância das setas dorsais do saco interno, que podem estar na posição média (ex. *P. latifrons*) ou estendendo-se desde a parte média para distal (ex. *P. convexus*). Difere também a forma dos escleritos bilaterais acessórios (scl 3), assim como a conformação geral dorso-ventral-lateral da falobase,

parâmeros e falo, por exemplo entre *P. latifrons* e *Pertinax sp. 1*, grupo “*venerabilis*” (ver detalhes das outras espécies mencionadas em Boucher 2006).

### ***Veturius***

As genitália masculinas em *Veturius* é bem distinta dos demais Passalini. No gênero, o tegumento do saco interno do edeago é claro e pouco esclerotizado em todas as partes, diferente de Passalini, onde geralmente ocorrem partes esclerotizadas características. Além do esclerito dois (scl 2) que aparece neste gênero, o saco interno é desprovido de setas dorsais, microespículas, esclerose médio ventral, esclerose perto das linhas parietais e escleritos bilaterais acessórios (scl 3), que encontram-se nos grupos de Passalini avaliados. As observações concordam com as feitas previamente por Boucher (2006). Nas fêmeas de *Veturius*, dois lóbulos vaginais estão presentes, o médio dorsal e o proximal dorsal, como também acontece nos gêneros *Pertinax* e *Ameripassalus*, os quais têm possíveis relações com os Proculini (Boucher 2006). São estes caracteres da vagina que sugerem que o grupo de espécies “*glaberrimus*” é próximo dos táxons mencionados.

## **6. CONCLUSÕES GERAIS**

Os detalhes morfoanatômicos, histológicos e ultraestruturais expostos sobre as estruturas reprodutivas meso e ectodérmicas masculinas e femininas de *S. robustus* e *V. sinuatus*, respectivamente, são aportes adicionais ao conhecimento da morfoanatomia e biologia reprodutiva em Passalidae.

A morfologia, organização e estrutura das gônadas em ambos os sexos dos passalídeos estudados foi semelhante com aquelas descritas para outras espécies americanas. Os resultados sugerem uma interessante consistência dentro da fauna da América e confirmá-la seria possível incluindo nos estudos representantes de todos os gêneros que compõem as duas tribos (Passalini e Proculini) presentes no continente. Do mesmo modo, incluir táxons das tribos presentes nos outros continentes, para os quais estes dados são pouco conhecidos, seria relevante para permitir interpretar e comparar os resultados.

Os caracteres morfológicos descritos dos espermatozoides na espécie estudada são um avanço à compreensão destas células especializadas, que até hoje são pouco

conhecidas em Passalidae. Os dados morfológicos junto com os ultraestruturais poderiam fornecer informações úteis para a sistemática da família e merecem continuar sendo estudados.

Nos ovários das espécies de Passalidae estudadas foi observado um sincício no filamento terminal que chama a atenção por não ser uma estrutura comum dentro dos Coleoptera Polyphaga. Os resultados apresentados permitiram continuar a descrição desta região, fornecendo nova informação da sua organização ultraestrutural. Seguir com análises desta região do filamento terminal durante o desenvolvimento dos ovários de Passalidae, poderia dar indícios de sua função durante a ovogênese como também da sua possível relação com as células germinativas.

As observações sobre as genitália ectodérmicas masculinas e femininas das espécies estudadas permitiram ter evidência e apoiar as ideias atuais sobre o fato de que, a composição sistemática da fauna da região sudeste do Brasil é distinta daquela que tem sido considerada. Com estas evidências, separaram-se as espécies de Passalini estudadas em nove grupos filéticos. Ademais, o estudo da diversidade morfológica destas estruturas reprodutivas permitiu inferir novas ideias das possíveis relações filogenéticas entre os táxons.

Pesquisas futuras que incluam todas as espécies do sudeste do Brasil são chave para prosseguir com a definição dos grupos de espécies dentro dos gêneros. Sem dúvida existem vários grupos ainda pouco conhecidos. Também permitiriam esclarecer e compreender melhor as relações filogenéticas entre os táxons como das suas relações com outras faunas de passalídeos.

A inclusão de aspectos biogeográficos também deve ser considerada para explicar os padrões da distribuição das espécies na região sudeste e compará-los com os encontrados em outras Passalidae. Em especial, deve-se considerar as relações com as faunas do Corredor Paraguaio, dos Andes meridionais e centrais e das regiões Amazônica e Guianesa. Porém, primeiro deve-se separar com exatidão as espécies bem como conhecer sua distribuição. Tudo isso apoiado no estudo comparativo das genitália ectodérmicas em ambos os sexos, em conjunto com os caracteres externos dos adultos.

## 7. REFERÊNCIAS CITADAS

- Alzahrani, A.M., Abdelsalam, S.A., Elmenshawy, O.M. & Abdel-Moneim, A.M. (2013)** Ultrastructural characteristics of spermiogenesis in *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 96, 1463–1469.
- Baker, W.V. (1973)** The genitalia of three species of *Pentalobus* (Col: Passalidae). *Journal of Natural History* 7, 435–440.
- Boucher, S. (1990)** Note systématique, chorologique et éco-altitudinale sur quelques *Pertinax* Kaup: *convexus* Dalman (*sulcifrons* Kuwert, reval), *radiatus* Kuwert et *pseudoconvexus* n. sp. (Coleoptera, Passalidae). *Nouvelle Revue d'entomologie* 7, 349–367.
- Boucher, S. (2006)** Évolution et phylogénie des Coléoptères Passalidae (Scarabaeoidea). Les taxons du groupe famille. La tribu néotropicale des Proculini et son complexe *Veturius*. *Annales de la Société Entomologique de France (N. S.)* 41, 239–604.
- Boucher, S. (2015a)** Homology versus homoplasy, a case of comprehensive study of male genitalia to reconstruct phylogeny of Passalidae of the Greater Antilles (Coleoptera, Scarabaeoidea). *Coléoptères* 21, 1–17.
- Boucher, S. (2015b)** Splitting of the polyphyletic genus *Passalus* Fabricius, s. auct. I. (Coleoptera, Passalidae). *Bulletin de la Société entomologique de France* 120, 113–120.
- Bryan, J.H.D. (1954)** Cytological and cytochemical studies of oogenesis of *Popilius disjunctus* Illiger (Coleoptera-Polyphaga). *Biological Bulletin* 107, 64–79.
- Bührnheim, P.F. (1962)** Novo *Popilius* Kaup, 1871 do leste meridional brasileiro (Coleoptera, Passalidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 60, 303–309.
- Bührnheim, P.F. (1978)** O edeago na sistemática de passalídeos americanos (Coleoptera: Passalidae). *Acta Amazonica* 8, 1–59.
- Büning J (1972)** Untersuchungen am ovar von *Bruchidius obtectus* Say. (Coleoptera-Polyphaga) zur klärung des oocytenwachstums in der prävitellogenese. *Z Zellforsch* 128, 241–282.
- Büning, J. (1979a)** The telotrophie nature of ovarioles of Polyphaga Coleoptera. *Zoomorphologie* 93, 51–57.
- Büning, J. (1979b)** The trophic tissue of telotrophic ovarioles in Polyphaga Coleoptera. *Zoomorphologie* 93, 33–50.
- Büning, J. (1994)** *The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and evolution*. Chapman and Hall, London. 400 pp.
- Burmeister, H.C. (1847)** *Handbuch der entomologie, Vol 5 Coleoptera Lamellicornis et Pectinicornia*. C.F. Enslin (Ed). Berlin. 584 pp.
- Burrini, A.G., Magnano, L., Magnano, A.R., Scala, C. & Baccetti, B. (1988)** Spermatozoa and phylogeny of Curculionoidea (Coleoptera). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 17, 1–50.
- Castillo, M.L. & Reyes-Castillo, P. (2003)** Los Passalidae: coleópteros tropicales degradadores de troncos de árboles muertos. In: J. Álvarez-Sánchez & E. Naranja-García (Eds), *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México*. Instituto de Ecología, A.C., Instituto de Biología y Facultad de Ciencias, UNAM, Xalapa, pp. 237–260.
- Carayon J. (1969)** Emploi du noir chlorazol en anatomie microscopique des Insectes. *Annales de la Société Entomologique de France (N. S.)* 5, 179–193.
- Chapman, R.F. (2013)** *The Insects structure and function*. 5th ed. S. J. Simpson and A. E. Douglas (Eds). Cambridge University Press, New York. 961 pp.

- Cruz, M. & Castillo, M.L. (2008)** Morfología del aparato reproductor en *Odontotaenius striatopunctatus* (Percheron, 1935) (Coleoptera: Passalidae). *Acta Zoológica Mexicana* 24, 23–37.
- Dalman, J.W. (1817)** *Passalus*. In: C. J. Schönherr (Ed), *Synonymiam Insectorum t. 1, Part 3, Descriptiones novarum specierum*. Scaris, pp. 142–144.
- Dias, G., Oliveira, C.M. & Lino-Neto, J. (2013)** Testicular and spermatogenic characteristics of *Lagria villosa* (Tenebrionidae: Lagriinae) with taxonomic inferences. *Tissue & cell* 45, 227–30.
- Eschscholtz F. (1829)** *Dissertatio de Coleopterorum Passalus. Nouveaux Mémoires de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou* 1, 15–28.
- Fonseca, C.R.V. da (1981)** Ovírios anómalos em *Passalus convexus* Dalman, 1817 (Coleoptera: Passalidae). *Acta Amazonica* 11, 839–841.
- Fonseca, C.R.V. da & Bührnheim, P.F. (1984)** Estimate of physiological age *Passalus* (Insecta, Coleoptera). *Acta Amazonica* 14, 314–321.
- Fonseca, C.R.V. da & Reyes-Castillo, P. (2004)** Synopsis on Passalidae family (Coleoptera: Scarabaeoidea) of Brazil with description of a new species of *Veturius* Kaup, 1871. *Zootaxa* 000, 1–26.
- Friedlander, M., Jeger, R.E. & Scholtz, C.H. (1999)** Intra-follicular visceral musculature in *Omorgus freyi* (HAAF) (Coleoptera: Trogidae) testes. *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 28, 5–11.
- Gravely, F.H. (1918)** A contribution towards the revision of the Passalidae of the world. *Memoirs of the Indian Museum* 7, 1–144.
- Hincks, W.D. (1933)** Notes on the Passalidae (Coleoptera), N° 3. New synonymy and some little-known species with the description of a new *Publius*. *The Entomologist's Monthly Magazine* 19, 175–182.
- Hincks, W.D. (1934)** Notes on the Passalidae (Coleoptera), N° 5. Synonymic notes, with descriptions of a new genus and new species. *The Entomologists Monthly Magazine* 70, 270–274.
- Jamieson, B.G.M. (1987)** *The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa*. 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge. 309 pp.
- Jiménez-Ferbans, L. & Reyes-Castillo, P. (2014)** Phylogeny, biogeography and description of *Ameripassalus*, a new Mesoamerican genus of Passalidae (Coleoptera). *Invertebrate Systematics* 28, 124–144.
- Kaup J.J. (1869)** *Prodromus zu einer monographie der Passaliden. Coleopterologische Hefte* 5, 1–40.
- Kiernan J.A. 2008.** *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 4th ed. Scion Publishing Ltd., Oxford. 576 pp.
- Krause, J.B. (1946)** The structure of the gonads of the wood-eating beetle, *Passalus cornutus* Fabricius. *Annals Entomological Society of America* 39, 193–206.
- Krause, J.B. (1947)** The development of the gonads of the wood-eating beetle, *Passalus cornutus* Fabricius. *Annals Entomological Society of America* 40, 172–202.
- Kuwert A. (1891)** Systematische Uebersicht der Passaliden-Arten und Gattugen. *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 1, 161–192.
- Kuwert, A. (1898)** Die Passaliden dichotomisch bearbeitet. *Novitates Zoologicae* 5, 137–349.
- Le Peletier A.L.M. & Serville J.G. (1825)** Passale, *Passalus*. In: A.L.M. Le Peletier, J.G. Serville & M.F.E. Guérin (Eds), In: P.A. Latreille (Ed), *Encyclopédie Méthodique. Entomologie, ou Histoire Naturelle des Crustacés, des Arachnides et des Insectes*. Paris, pp. 19–21.
- López-Guerrero, I. & Halffter, G. (2000)** Evolution of the spermatheca in the Scarabaeoidea (Coleoptera). *Fragmenta Entomologica* 32, 225–285.

- Luederwaldt, H. (1927)** Cinco novas especies da familia dos Passalideos (Col.). *Boletim do Museu Nacional* 3, 36–39.
- Luederwaldt, H. (1929)** *Passalus zikáni* n. sp. (Col. Lamellia - Passalidae). *Boletim do Museu Nacional* 5, 31.
- Luederwaldt, H. (1931)** Monographia dos passalídeos do Brasil. *Revista do Museu Paulista* 17, 1–262.
- Luederwaldt, H. (1934a)** Corrigenda e suplemento á monographia dos passalideos do Brasil. *Revista do Museu Paulista* 18, 371–374.
- Luederwaldt, H. (1934b)** Novos passalídeos americanos (Coleoptera). *Boletim Biologico (N. S.)* 2, 19–21.
- Mac Leay W.S. (1819)** *Horae Entomologicae, or essays on the annulose animals*. London, R. & A. Taylor, xxx, 160 pp.
- Martinez, I.M. & Cruz, M. (1999)** Comparative morphological analysis of testis follicles in dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae, Aphodiinae, Geotrupinae). *Proceedings of the entomological Society of Washington* 101, 804–815.
- Mattos, I. & Mermudes, J.R.M. (2014)** Passalidae (Coleoptera: Scarabaeoidea) from Ilha Grande (Angra dos Reis, RJ) with new diagnosis and distributional records in Brazil. *Check List* 10, 260–268.
- Moreira, C. (1921)** Coléoptères passalides du Brésil. *Annales de la Société Entomologique de France* 90, 255–294.
- Percheron, A. (1835)** *Monographie des Passales et des genres qui en ont été séparés*. J. A. Mercklein (Ed). Paris. 109 pp.
- Percheron A. (1841)** Révision critique et supplément à la monographie du genre Passale. *Revue et Magasin de Zoologie* 1–48.
- Reyes-Castillo, P. (1970)** Coleoptera, Passalidae: morfología y división en grandes grupos: géneros americanos. *Folia Entomologica Mexicana* 20-22, 1–240.
- Reyes-Castillo, P. & Ritcher, P.O. (1973)** Ovariole number in Passalidae (Coleoptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 41, 478–479.
- Reyes-Castillo, P. & Halffter, G. (1983)** La structure sociale chez les Passalidae. *Bulletin de la Société Entomologique de France* 88, 619–635.
- Ritcher, P.O. & Baker, C.W. (1974)** Ovariole numbers in Scarabaeoidea (Coleoptera: Lucanidae, Passalidae, Scarabaeidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 76, 480–494.
- Sahut-Barnola, I., Godt, D., Laski, F. a & Couderc, J.L. (1995)** *Drosophila* ovary morphogenesis: analysis of terminal filament formation and identification of a gene required for this process. *Developmental biology* 170, 127–135.
- Santos-Silva, A. (2000)** Nova espécie de *Spasalus* do sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Entomologia* 44, 111–113.
- Shaffer, E.L. (1917)** Mitochondria and other cytoplasmic structures in the spermatogenesis of *Passalus cornutus*. *The Biological Bulletin* 32, 407–435.
- Sharp, D. & Muir, F. (1912)** The comparative anatomy of the male genital tube in Coleoptera. *Transactions of the Entomological Society of London*, 477–642.
- Snodgrass, R.E. (1935)** *Principles of insect morphology*. Cornell University Press, New York. 667 pp.
- Stringer, I.A.N. (1988)** The female reproductive system of *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae). *New Zealand Journal of Zoology* 15, 513–533.
- Stringer, I.A.N. (1990)** The male reproductive system of *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae). *New Zealand Journal of Zoology* 17, 323–339.

- Świątek, P. (2001)** Structure and development of ovaries in the weevil, *Anthonomus pomorum* (Coleoptera, Polyphaga). I. Somatic tissues of the trophic chamber. *Folia Biologica (Kraków)* 49, 215–224.
- Tanaka, E. & Hartfelder, K. (2004)** The initial stages of oogenesis and their relations to differential fertility in honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Structure and Development* 33, 431–442.
- Tanner, V.M. (1927)** A preliminary study of the genitalia of female Coleoptera. *Transactions of the American Entomological Society* 53, 5–50.
- Trauner, J. & Büning, J. (2007)** Germ-cell cluster formation in the telotrophic meroistic ovary of *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Polyphaga, Tenebrionidae) and its implication on insect phylogeny. *Development Genes and Evolution* 217, 13–27.
- Virkki, N. (1957)** Structure of the testis follicle in relation to evolution in the Scarabaeidae (Coleoptera). *Canadian Journal of Zoology* 35, 265–277.
- Virkki, N. (1961)** The passalid testis and its structural kinship with the testes of the other Scarabaeoid beetles. *Archivum Societatis Zoologicae Botanicae Fennicae "Vanamo"* 16, 19–22.
- Weber, F. (1801)** *Observationes entomologicae*. F. Weber (Ed). Kiel. 116 pp.
- Williams, J.L. (1945)** The anatomy of the internal genitalia of some Coleoptera. *Entomological Society of Washington* 47, 73–91.