

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E
MORFOMETRIA DOS TESTÍCULOS DE *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824)
(ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS

por

ALEXSANDRE VICENTE DA SILVA FERREIRA

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira)

RESUMO

O regime alimentar dos ortópteros é bastante variado, praticamente da monofagia à polifagia, predominando, todavia, a fitofagia, daí serem altamente nocivos às plantas cultivadas e, por isso mesmo, economicamente importantes sob o ponto de vista agrícola. *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) é considerada como devastadora ocasional endêmica da América do Sul tendo como hábito alimentar vários tipos de planta. Estudos sobre a morfologia do aparelho reprodutor masculino e dos espermatozóides de alguns insetos têm contribuído para compreendermos a relação de afinidades entre os grupos. Assim, a presente pesquisa teve o objetivo de descrever a histologia dos constituintes do aparelho reprodutor masculino, realizar a morfometria dos testículos e da população de células dos folículos testiculares, além de analisar ultraestruturalmente a espermiogênese em *C. speciosa*, submetido aos fotoperíodos de 14L:10E, 10L:14E e 12L:12E, no último instar. Os órgãos coletados foram fixados em Bouïn alcoólico, incluídos em "paraplast", corados e analisados em microscopia de luz. Os testículos foram mensurados antes da fixação utilizando-se uma lupa binocular adaptada com uma ocular milimétrica. Para análise morfométrica da população de células dos folículos

testiculares utilizou-se uma ocular de 10X, contendo no seu interior um retículo micrométrico square (U-OCMSQ10/10). As médias foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA). Para análise em microscopia eletrônica de transmissão e varredura os testículos e folículos testiculares foram fixados em Karnovsky. Os resultados mostraram que não houve influência dos fotoperíodos sobre a histologia dos órgãos, morfometria dos testículos e da população celular dos folículos testiculares, além da espermiogênese. Os testículos apresentaram morfologia oval e envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo. Em cada folículo testicular foram bem evidenciadas as regiões do germário, zona de crescimento, zona de divisão e redução, e zona de transformação. Os canais eferentes, deferentes e vesículas seminais são revestidos internamente por uma camada de tecido epitelial simples cúbico, exceto nas vesículas onde o epitélio é colunar, apoiado em tecido conjuntivo e externamente tecido muscular estriado, que está ausente no canal eferente. O ducto ejaculador é constituído por epitélio do tipo estratificado colunar coberto por uma íntima na sua porção final. Abaixo desse epitélio observa-se tecido conjuntivo. As glândulas acessórias secretam substância rica em carboidratos e são constituídas por tecido epitelial, conjuntivo e muscular. Ultraestruturalmente observaram-se espermátides em estágios avançados de diferenciação e outras em estágios mais precoces. As espermátides em estágios iniciais de desenvolvimento são grandes, com morfologia esférica e núcleo volumoso, enquanto que as espermátides mais diferenciadas são menores, sendo possível observar a presença do axônema e mitocôndrias paralelas a este. Os espermatozóides acham-se agrupados em feixes, onde se observou o axônema e derivados mitocondriais típicos, característicos da peça intermediária e cauda. Na região da cabeça o núcleo é alongado, elíptico e bastante eletrodenso.

PALAVRAS-CHAVE: *Chromacris speciosa*, histologia, morfometria, fotoperíodo, ultraestrutura, aparelho reprodutor masculino

MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM AND
TESTICLE MORPHOMETRY OF *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824)
(ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMITTED TO THREE PHOTOPERIODS

by

ALEXSANDRE VICENTE DA SILVA FERREIRA

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira)

ABSTRACT

The alimentary regimen of the Orthoptera is varied, practically from the monophagy to the polyphagy, prevailing, however, the phytophagy, thus being highly harmful to cultivated plants and, therefore, economically important under agricultural perspective. *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) is considered as occasional endemic species in South America feeding on several type of plants. Studies about morphology of the male reproductive system as well as the sperms of some insects have contributed to the understanding of relationship affinity among groups. Thus, the present research had the objective of describing the histology of the male reproductive system constituents, realizing the morphometry of the testicles and the population of the cells from testicular follicles, besides analyzing ultrastructurally the spermiogenesis in *C. speciosa*, reared under the photoperiods of 14L:10D, 10L:14D and 12L:12D, in the last instar. The testicles were measured before fixation using a binocular magnifying glasses adapted with a milimetric ocular. For the morphometric analysis of cell population of testicular follicles, it was used a 10X ocular, containing a square micrometric reticule (U-OCMSQ10/10). The averages were submitted to the analysis of variance. For the

analysis in electronic microscopy of transmission and sweeping, the testicles and testicular follicles were fixated in Karnovsky. The results showed that there wasn't influence of the photoperiods over the organs' histology, testicles' morphometry and cell population of the testicular follicles, besides the spermiogenesis. The testicles presented oval morphology and were involved by a connective tissue capsule. In each testicular follicle, the regions of the germary, growth zone, division and reduction zone, and transformation zone were well evinced. The efferent and deferent canals, and the seminal vesicles are internally covered by a simple cubic epithelial layer of tissue, except in those vesicles in which the epithelium is columnar, sustained in connective tissue, and, externally, grooved muscular tissue, which is absent in the efferent canal. The ejaculator duct is constituted by a columnar stratified epithelium covered by an intima in its final part. Underneath this epithelium it is observed connective tissue. The accessory glands secrete substances rich in carbohydrates and are constituted by epithelial, connective and muscular tissue. Ultrastructurally it has been observed spermatids in advanced stages of differentiation, and others in more precocious stages. The spermatids in initial stages of development are big, with spherical morphology and voluminous nucleus, while the more differentiated spermatids are smaller, being possible to observe the presence of axoneme and parallel mitochondria for this last one. The sperms are grouped in bunches, in which it has been observed the axoneme and typical mitochondrial derived, characteristics of the intermediate part and tail. In the head region, the nucleus is stretched, elliptical and very electron-dense.

KEY WORDS: *Chromacris speciosa*, histology, morphometry, Photoperiod, ultrastructure, male reproductive system

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E
MORFOMETRIA DOS TESTÍCULOS DE *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824)
(ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS

por

ALEXSANDRE VICENTE DA SILVA FERREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro - 2006

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E
MORFOMETRIA DOS TESTÍCULOS DE *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824)
(ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS

por

ALEXSANDRE VICENTE DA SILVA FERREIRA

Orientadora:

Valéria Wanderley Teixeira (UFRPE)

Examinadores:

Auristela Correia de Albuquerque (UFRPE)

Fábio André Brayner dos Santos (CPqAM-LIKA)

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira (UFRPE)

As minhas queridas irmãs Karla Simone da Silva Ferreira

e Kátia Alessandra da Silva Ferreira

Ao meu sobrinho Thomas Tavares Rego

A todos meus familiares e amigos

Ofereço

Aos meus queridos pais Marlene da Silva Ferreira e Marlindo Marcolino Ferreira por seu amor, e precioso apoio e incentivo durante toda minha vida, as minhas amadas filhas Lizandra de Oliveira Ferreira e Letícia Duarte Santos Ferreira e a minha querida companheira Fabiana Duarte Santos pelo seu apoio e carinho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença constante em minha vida, emanando a força necessária para a realização deste trabalho;

Aos meus pais Marlene da Silva Ferreira e Marlindo Marcolino Ferreira pelo seu amor e carinho, por toda atenção e esforços que se tornaram indispensáveis na trajetória de minha vida;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo;

À Professora Valéria Wanderley Teixeira, pela orientação, ensinamentos e amizade, contribuindo valiosamente para construção de vários anos de pesquisas;

Ao Comitê de Orientação, Professores Álvaro Aguiar Coelho Teixeira e Antônio F. de Souza Leão Veiga, pelo apoio na realização da Dissertação;

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE;

Aos Técnicos da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pedro Monteiro (Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia), João Batista (Técnico Agrícola) e Antônio Pedro Soares (Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal) pela inestimável ajuda na realização deste trabalho;

Aos Professores e Pesquisadores Luiz Carlos Alves e Fábio André Brayner dos Santos do Centro de Pesquisa Ageu Magalhães, e aos técnicos da Microscopia Eletrônica do Laboratório de Imunopatologia Keiso Assami-LIKA, Sérgio dos Santos Silva e Rafael José Ribeiro Padilha, pela inestimável colaboração e amizade;

Ao professor e amigo Marcos José Correia, pela inestimável ajuda nas versões dos resumos para o inglês;

Aos meus amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola e todos que estiveram colaborando direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	viii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA	5
2 HISTOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E MORFOMETRIA DA POPULAÇÃO CELULAR DOS FOLÍCULOS TESTICULARES DE <i>CHROMACRIS SPECIOSA</i> (THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS.....	9
RESUMO	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
AGRADECIMENTOS	19
LITERATURA CITADA	19

3	MORFOMETRIA DOS TESTÍCULOS E ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA ESPERMIOGÊNESE EM <i>CHROMACRIS SPECIOSA</i> (THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS.....	31
	RESUMO	32
	ABSTRACT.....	33
	INTRODUÇÃO	34
	MATERIAL E MÉTODOS	35
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
	AGRADECIMENTOS	39
	LITERATURA CITADA	39

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade o homem tem observado e acumulado conhecimentos sobre os gafanhotos, pois estes, já foram comumente encontrados pintados ou esculpidos nos monumentos do antigo Egito. Atualmente, devido a inúmeras espécies de gafanhotos consideradas pragas de plantas cultivadas e de pastagens, o homem passou a estudar a sua biologia e as interações insetos x plantas, com o objetivo de investigar a influência das plantas sobre a biologia e comportamento dos insetos no intuito de solucionar os diversos problemas surgidos no campo (Hora 1995, Costa 2003).

Os gafanhotos são insetos pertencentes à Ordem Orthoptera, Subordem Caelifera e Superfamília Acridoidea. Tem como características a presença de aparelho bucal mastigador; asas anteriores pergamineáceas (tegmíneas), recobrando as posteriores que são membranosas; pernas longas adaptadas ao salto, e regime alimentar bastante variado, praticamente da monofagia à polifagia, predominando, todavia, a fitofagia, daí serem altamente nocivos às plantas cultivadas e, por isso mesmo, economicamente importantes sob o ponto de vista agrícola (Carrera 1973, Maranhão 1977 e 1978, Rentz 1991, Buzzi & Miyazaki 1999). A Superfamília Acridoidea, composta pelos gafanhotos propriamente ditos, consta de cerca de 10.000 espécies descritas, distribuídas em três famílias neotropicais: Hommexechidae, Acrididae e Romaleidae (Gallo *et al.* 2002).

Os Romaleideos estão presentes nas partes quentes do continente Americano, se estendendo desde a Argentina até os Estados Unidos, principalmente nos trópicos e têm o hábito

de pôr seus ovos no solo, diferentes de muitos outros saltadores arborícolas (Duranton *et al.* 1987, Rowell 1997).

De acordo com Marchini & Nakano (1976), Roberts & Carbonell (1982) e Duranton *et al.* (1987), *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) é conhecido popularmente como "gafanhoto soldado" apresentando cor verde brilhante com manchas amarelas e asas vermelhas alaranjadas, possuindo um tamanho médio de 20 a 30mm para o macho e 35 a 50mm para a fêmea.

C. speciosa é considerada como devastadora ocasional endêmica da América do Sul tendo como hábito alimentar as solanáceas, preferindo as seguintes plantas: *Cestrum parqui*, *C. strigillatum*, *C. loretiziana*, *Lycium cestoides*, *Solanum argentinum* e *S. verbacifolium*, além de compostas, leguminosas, mirtáceas e gramíneas, registrando danos em batata inglesa, arroz, cana-de-açúcar, girassol, fumo e tomateiro. Alguns autores afirmam ainda que sua presença em gramíneas é apenas casual (Liebermam 1935, Lima 1955, Turk & Barrera 1976, Lara 1992, Hora 1995, Gallo *et al.* 2002).

Ross (1964) afirmou que os insetos são predominantemente unissexuais e nesse caso é normal só um sexo estar presente em cada indivíduo. De acordo com Lara (1992) as formas e estruturas dos órgãos sexuais variam de inseto para inseto diferindo de todos os demais órgãos do corpo, não contribuindo em nada para a saúde do indivíduo, mas sim e exclusivamente, para dar origem a novas gerações. Em condições embrionárias eles se apresentam semelhantes nos machos e nas fêmeas, diferenciando-se, porém, durante o desenvolvimento.

O aparelho reprodutor masculino dos insetos é constituído de um par de testículos, dois canais ou vasos deferentes, duas vesículas seminais, glândulas acessórias, um canal ejaculador, um órgão copulador (pênis ou fálus) e uma abertura externa do canal ejaculador denominado de

gonópore masculino (orifício genital masculino) (Azevedo & Hennig 1983, Richards & Davies 1983, Lara 1992, Snodgrass 1993, Chapman 1998).

Os testículos são órgãos de formato ovóides, constituídos por tubos espermáticos (folículos testiculares) (Davey 1968, Vanetti 1983, Lara 1992). Estão localizados acima do canal alimentar, ao lado ou abaixo dele. O número de folículos testiculares é bastante variado e tem importância taxonômica (Uvarov 1966). Cada folículo testicular está ligado ao vaso deferente, por um pequeno canalículo chamado de vaso eferente (Maranhão 1978, Vanetti 1983). Segundo Lara (1992) e Garcia & Fernández (2001) o folículo testicular é dividido em regiões que possuem células reprodutivas em diferentes estágios de desenvolvimento: o germário, a zona de crescimento, zona de divisão e redução e a zona de transformação, sendo responsável pela produção de espermatozoides.

A reprodução dos gafanhotos é sexuada: o óvulo liberado pela fêmea só se desenvolverá depois da fusão com o espermatozoide liberado pelo macho (Ross 1965, Wigglesworth 1974 e 1978). É relatado para *C. speciosa* que a maturidade sexual se verifica aproximadamente 10 dias após a última ecdise, ocorrendo assim à primeira cópula (Turk & Barrera 1976). Na cópula, o gafanhoto macho adere ao dorso da fêmea introduzindo-lhe a peça copuladora na vagina, descarregando os espermatozoides (Azevedo & Henning 1983).

Vários estudos sobre a morfologia do aparelho reprodutor masculino e dos espermatozoides de alguns insetos têm contribuído para compreendermos a relação de afinidades entre os grupos (Cruz-Landim *et al.* 1980, Cruz-Landim & Moraes 1980, Baccetti 1987, Carcupino *et al.* 1995). Quicke *et al.* (1992) sugerem que em algumas ordens de insetos as variações morfológicas nas estruturas reprodutivas nos machos são suficientes para promover um estudo filogenético e taxonômico.

Duranton *et al.* (1987) sugerem ainda a morfometria para comparar espécimes em uma mesma população mesmo esta sendo fisionômica homogênea, pois os estudos morfométricos além da caracterização de fases (polimorfismo), podem servir igualmente para estudar a mistura de duas populações de origem diferentes em um mesmo local, e colocar em evidência as variações geográficas entre populações. Os mesmos autores afirmam que *C. speciosa* encontra-se distribuída no Uruguai, Peru, Equador, Paraguai, Bolívia, Colômbia, Argentina e Venezuela. No entanto, D'Araújo *et al.* (1968) relataram no Brasil a presença dessa espécie nos Estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Estudando a morfometria de *C. speciosa* de quatro localidades, Turk & Barreira (1976) verificaram a existência de diferenças entre os indivíduos das diferentes regiões.

Em várias espécies de insetos há uma considerável diferença em relação ao tamanho das diferentes partes do trato reprodutor masculino, como por exemplo, os testículos, cujo comprimento e largura são extremamente variados (Bressac 1994, Bressac *et al.* 1994, Snook 1998, Méry & Joly 2002, Joly *et al.* 2003).

O ciclo de vida dos insetos pode ser contínuo ou apresentar uma desaceleração ou uma interrupção em qualquer fase do desenvolvimento (ovo, ninfa ou adulto), isso garante a sobrevivência desses insetos em condições desfavoráveis do ambiente (Mansingh 1971, Saunders 1976, Danks 1987). Segundo Uvarov (1966) as condições externas afetam a longevidade e o período de reprodução nos ortópteros.

De acordo com Beck (1968) o fotoperíodo é um fator externo que induz ou interrompe a diapausa nos insetos. Já Amorim & Adis (1995) citaram que o fotoperíodo pode atuar como fator de controle (ecofator) no número de estádios ninfais de gafanhotos em ecossistemas tropicais,

mesmo sendo situados perto do equador, devido a mudanças sazonais de insolação e/ou intensidade de luz durante o ano.

Estudando o efeito do fotoperíodo em gafanhotos adultos da espécie *Nomadacris succincta* (Orthoptera: Acrididae), Tanaka & Sodoyama (1997) observaram que os insetos submetidos a fotoperíodo curto realizaram posturas tardias contendo ovos inférteis. Pesquisas mostraram ainda que gafanhotos adultos submetidos a essa condição apresentam inativação das células neurosecretoras do cérebro interferindo na dinâmica hormonal, afetando a mudança de instares e o amadurecimento do aparelho reprodutor (Saunders 1976, Okuda & Tanaka 1996, Ergen 2001, Saunders *et al.* 2004).

Portanto, diante do exposto a presente pesquisa teve como objetivo descrever a histologia dos testículos, canais eferentes, canais deferentes, vesículas seminais, ducto ejaculador e glândulas acessórias; realizar a morfometria dos testículos e da população de células dos folículos testiculares, além de analisar ultraestruturalmente a espermiogênese em *C. speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae), submetido aos fotoperíodos de 14L:10E, 10L:14E e 12L:12E, no último instar.

Literatura Citada

- Amorim, M.A. & J. Adis. 1995.** Desenvolvimento ninfal do gafanhoto neotropical semi-aquático *Stenacris fissicauda fissicauda* (Bruner, 1908) (Orthoptera:Acrididae) em condições controladas. Acta Amazônica 25: 73-92.
- Azevedo, A.C.P. & G.J. Henning. 1983.** Zoologia. 6.ed. Porto Alegre, Professor Gaúcho, 318p.
- Baccetti, B.M. 1987.** Spermatozoa and phylogeny in orthopteroid insects, p.12-112. In Baccetti B.M. (ed.), Evolutionary biology of orthopteroid insects. New York, John Wiley & Sons, 612p.
- Beck, S.D. 1968.** Insect Photoperidism. New York and London, Academic Press, 288p.

- Bressac, D. 1994.** Storage of short and long sperm in *D. subobscura*. *Drosophila Inf. Serv.* 75: 120-121.
- Bressac, C., A. Fleury & D. Lachaise. 1994.** Another way of being anisogamous in *Drosophila* subgenus species: giant sperm, one-to-one gamete ratio, and high zygote provisioning. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 10399–10402.
- Buzzi, Z.J. & R.D. Miyazaki. 1999.** *Entomologia Didática*. 3. ed. Curitiba, Editora da UFPR, 306p.
- Carcupino, M., G. Profili, J. Kathirithamby & M. Mazzini. 1995.** Sperm ultrastructure of *Xenos vesparum* (Rossi) and its significance in the taxonomy and phylogeny of Strepsiptera (Insecta). *Mém. Mus. Natn. Hist. Nat.* 166: 291-296.
- Carrera, M. 1973.** *Entomologia para você*. 6. ed. São Paulo, Livraria Nobel, 185p.
- Chapman, R.F., 1998:** *The Insects: Structure and Function*, 4th edn. London, Hodder & Stoughton, 788p.
- Costa, M.K.C.M. 2003.** Descrição histológica dos principais constituintes do aparelho digestivo do gafanhoto *Tropidacris collaris* (Stoll, 1813) (Orthoptera: Romaleidae). Monografia de graduação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 38p.
- Cruz-Landim, C., D. Beig & R.L.M.S. Moraes. 1980.** The process of differentiation during spermatogenesis in bees (Hymenoptera, Apidae). *Caryologia* 33: 1-15.
- Cruz-Landim, C. & R.L.M.S. Moraes. 1980.** Observations on the mitochondrial complex and head differentiation during spermiogenesis of the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. *Cytobios* 27: 167-175.
- D'Araújo, A.G.S., Gonçalves, C.R. & Galvão, D.M. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitas e predadores e inimigos naturais. *Laboratório Central de Patologia Vegetal*. 2: 5.
- Danks, H.V. 1987.** Insect dormancy an ecological perspective. *Biol. Surv. Can. Monog. Ser.* 1: 439.
- Davey, K.G. 1968.** *La reproducción em los insectos*. 1. ed. Madrid, Editorial Alhambra, 106p.
- Duranton, J.F., M. Launois, H.L. Luong, & M. Lecoq. 1987.** Guia prático de luta contra os gafanhotos devastadores no Brasil. Roma, Fao-Cirad-Prifas, 343p.
- Ergen, G. 2001.** The effects o precocene II on the fini structure of corpus allattum in adult female *Anacridium aegyptium* L. (Orthoptera: Acrididae). *Turk J. Zool.* 25: 95-103.

- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. de Baptista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zcchi, S.B. Alves, J.V. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. Piracicaba, Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queirós, 920p.
- Garcia, S.M.L. & C.G. Fernández. 2001.** Embriologia. Artmed, 416p.
- Hora, M.J.L. 1995.** Efeitos de diferentes regimes alimentares sobre a fecundidade e longevidade de *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae). Monografia de Graduação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 37p.
- Joly, D., C. Bressac, D. Jaillard, D. Lachaise & M. Lemullois. 2003.** The sperm roller: a modified testicular duct linked to giant sperm transport within the male reproductive tract. J. Struct. Biol. 142: 348–355
- Lara, F. M. 1992.** Princípios de Entomologia. 3. ed. São Paulo, Ícone, 331p.
- Libermam, J. 1935.** Catalogo sistemático y razonado de Acridoideos argentinos género: *Prinolopha*, *Dietronotus*, *Eleochlora* y *Chromacris* (Orthoptera: Acrididae) Rev. Soc. Entomol. Argentina 7: 25-53.
- Lima, A.C. 1955.** Orthoptera. In: Agronomia. 14: 213-214.
- Mansingh, A. 1971.** Physiological classification of dormancies in insects. Can. Entomol. 103: 983-1009.
- Maranhão, Z.C. 1977.** Entomologia Geral. 2.ed. São Paulo, Nobel, 514p.
- Maranhão, Z.C. 1978.** Morfologia geral dos insetos. 3.ed. São Paulo, Nobel, 396p.
- Marchini, L.C. & O. Nakano. 1976.** Observações sobre o gafanhoto *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Acrididae). Revista de Agricultura. 51: 89-91.
- Méry, F. & D. Joly. 2002.** Multiple mating, sperm transfer and oviposition pattern in the giant sperm species, *Drosophila bifurca*. J. Evol. Biol. 15: 49–56.
- Okuda, T. & S.Tanaka. 1996.** An Allatostatic factor and juvenile hormone synthesis by corpora allata in Locusta. J. Insect physio.43: 635-641.
- Quicke, D.L.J., S.N. Ingram, H.S. Baillie & P.V. Gaitens. 1992.** Sperm structure and ultrastructure in the Hymenoptera (Insecta). Zool. Scr. 21: 381-402.
- Rentz, D.C.F. 1991.** Orthoptera In: The insects of Australia, A textbook for students and research workers. 2.ed. New York, Division of Entomology, CSIRO, 371p.
- Richards, O.W. & R.G. Davies. 1983.** Entomology. 9. ed. London, Methuen, 418p.

- Roberts, H.R. & Carbonell, C.S. 1982.** A revision of the grasshopper genera *Chromacris* and *Xestotrachelus* (Orthoptera: Romaleidae: Romaleinae). Proc. Calif. Acad. Sci. 43: 43-58.
- Ross, H.H.A 1964.** Introducción a la Entomología General y Aplicada. 2. ed. Barcelona, Ediciones Omega S.A., 117 p.
- Ross, H.H.A 1965.** Textbook of Entomology. 3. ed. New York. John Wiley & Sons, 146 p.
- Rowell, C.H.F. 1997.** Romaleidae. In Solis, A. (ed.) Las familias de insectos de Costa Rica. Sam José, <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto 150.html>.
- Saunders, D.S. 1976.** Seasonal cycles of development in: Insect clocks. New York, Pergamon Press, 280p.
- Saunders, D.S., R.D. Lewis & G.R. Warman. 2004.** Photoperiodic induction of diapause: opening the black box. Physiol. Entomol. 29: 1-15.
- Snodgrass, R.E. 1993.** Principles of insect morphology. 2.ed. London, Cornell University Press, 667p.
- Snook, R.R. 1998.** The risk of sperm competition and the evolution of sperm heteromorphism. Anim. Behav. 56: 1497–1507.
- Tanaka, S. & Sadoyama, Y. 1997.** Photoperiodic termination of diapause in field-collected adults of the Bombay locust, *Nomadacris succincta* (Orthoptera: Acrididae) in southern Japan). Bull. Entomol. Res. 87: 533-539.
- Turk, S.Z. & M. Barrera. 1976.** Acridios del NOA. I. Estudios biológicos, morfométricos y aspectos ecológicos de *Chromacris speciosa* (Thunberg) (Acrididae: Romaleinae). Acta zool. Lilloana 32: 121-145.
- Uvarov, S.B. 1966.** Grasshoppers and Locusts. London, Cambridge University Press, 481p.
- Vanetti, F. 1983.** Entomologia Geral. Viçosa, Coopasul, 273p.
- Wigglesworth, V.B. 1974.** Insect Physiology. 7. ed. London, Science Paperbooks, 166p.
- Wigglesworth, V.B. 1978.** Fisiología de los insectos. 7. ed. Zaragoza, Editorial Acribia, 145p.

CAPÍTULO 2

HISTOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR MASCULINO E MORFOMETRIA DA
POPULAÇÃO CELULAR DOS FOLÍCULOS TESTICULARES DE *Chromacris speciosa*
(THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS
FOTOPERÍODOS

ALEXSANDRE V.S. FERREIRA, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA, FABIO A.B. SANTOS,
ANTÔNIO F.S.L. VEIGA E ÁLVARO A.C. TEIXEIRA

¹Ferreira, A.V.S., V. Wanderley-Teixeira, F.A.B. Santos, A.F.S.L. Veiga & A.A.C. Teixeira. Histologia do aparelho reprodutor masculino e morfometria da população celular dos folículos testiculares de *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) submetido a três fotoperíodos. Neotropical Entomology.

RESUMO - A pesquisa teve o objetivo de descrever a histologia dos principais órgãos do aparelho reprodutor masculino, e realizar a morfometria da população celular dos folículos testiculares de *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae), submetido aos fotoperíodos de 14L:10E, 10L:14E e 12L:12E. Os insetos foram sedados para coleta dos órgãos e analisados através da microscopia óptica de luz. Para análise morfométrica utilizou-se uma ocular de 10X, contendo no seu interior um retículo micrométrico square (U-OCMSQ10/10). Foram contados os pontos que incidiram sobre as seguintes células: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides. Os resultados mostraram que não houve influência dos fotoperíodos sobre a histologia dos órgãos bem como sobre a morfometria da população celular dos folículos testiculares. Os testículos apresentaram-se envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo que emite septos separando cada folículo testicular. Os canais eferentes, deferentes e vesículas seminais são revestidos internamente por uma camada de tecido epitelial simples cúbico, exceto nas vesículas onde o epitélio é colunar, apoiado em tecido conjuntivo e externamente tecido muscular estriado, que está ausente no canal eferente. O ducto ejaculador é constituído por epitélio do tipo estratificado colunar coberto por uma íntima na sua porção final. Abaixo desse epitélio observa-se tecido conjuntivo. As glândulas acessórias secretam substâncias ricas em carboidratos e são constituídas por tecido epitelial, conjuntivo e muscular.

PALAVRAS-CHAVE: *Chromacris speciosa*, histologia, aparelho reprodutor masculino, morfometria e fotoperíodos

HISTOLOGY OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM AND MORPHOMETRY OF
CELL POPULATION OF THE TESTICULAR FOLLICLES OF *Chromacris speciosa*
(THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA: ROMALEIDAE) SUBMITTED TO THREE
PHOTOPERIODS

ABSTRACT – The research had the objective of describing the histology of the main organs of the male reproductive system, and performing the morphometry of the cell population of testicular follicles of *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae), submitted to the photoperiods 14L:10D, 10L:14D and 12L:12D. The insects from were sedated for organs' collection and analyzed through light optical microscopy. For the morphometric analysis, it was used a 10X ocular, containing in its interior a square micrometric reticule (U-OCMSQ10/10). The points which occurred over the spermatogonia, spermatocyte, spermatids and sperm cells were counted. The results showed that there wasn't influence of the photoperiods over the histology of the organs as well as the morphometry of cell population of testicular follicles. The testicles presented involved by a capsule of connective emits septa, separating each one of the testicular follicles. The efferent and deferent canals, seminal vesicles are internally covered by a simple cubic epithelial layer, except in the vesicles in which the epithelium is columnar, sustained in connective tissue, and, externally, grooved muscular tissue, which is absent in the efferent canal. The ejaculator duct is constituted by an epithelium of a columnar stratified kind, covered by an intima in its final part. Underneath this epithelium, it has been observed connective tissue. The accessory glands secrete substances which are rich in carbohydrates, and are constituted by epithelial, connective and muscular tissue.

KEY WORDS: *Chromacris speciosa*, histology, male reproductive system, morphometry and photoperiods

Introdução

O aparelho reprodutor masculino dos insetos apresenta, quanto à morfologia, grande diversidade. Geralmente é constituído por um par de testículos dos quais partem os vasos deferentes, que desembocam na vesícula seminal e depois desta reúnem-se em um ducto único mediano, o ducto ejaculador (Chapman 1998).

É relatado para *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) que a maturidade sexual se verifica aproximadamente 10 dias após a última ecdise, ocorrendo assim à primeira cópula (Turk & Barrera 1976). Na cópula, o gafanhoto macho adere ao dorso da fêmea introduzindo-lhe a peça copuladora na vagina, descarregando os espermatozóides (Azevedo & Henning 1983).

Vários estudos sobre a morfologia do aparelho reprodutor masculino e dos espermatozóides de alguns insetos têm contribuído para compreendermos a relação de afinidades entre os grupos (Cruz-Landim *et al.* 1980, Cruz-Landim & Moraes 1980, Baccetti 1987, Carcupino *et al.* 1995). Quicke *et al.* (1992) sugerem que em algumas ordens de insetos as variações morfológicas nas estruturas reprodutivas nos machos são suficientes para promover um estudo filogenético e taxonômico.

Segundo Uvarov (1966) as condições externas afetam a longevidade e o período de reprodução nos ortópteros. De acordo com Beck (1968) o fotoperíodo é um fator externo que induz ou interrompe a diapausa nos insetos. Já Amorim & Adis (1995) citaram que o fotoperíodo pode atuar como fator de controle (ecofator) no número de estádios ninfais de gafanhotos em ecossistemas tropicais, mesmo sendo situados perto do equador, devido a mudanças sazonais de insolação e/ou intensidade de luz durante o ano.

Estudando o efeito do fotoperíodo em gafanhotos adultos, Tanaka & Sodoyama (1997) observaram que os insetos submetidos a fotoperíodo curto realizaram posturas tardias contendo ovos inférteis. Pesquisas indicaram ainda que gafanhotos adultos submetidos a essa condição mostram inativação das células neurosecretoras do cérebro interferindo na dinâmica hormonal, afetando a mudança de instares e o amadurecimento do aparelho reprodutor (Saunders 1976, Okuda & Tanaka 1996, Ergen 2001, Saunders *et al.* 2004).

Assim, diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo descrever histologicamente os principais órgãos do aparelho reprodutor masculino de *C. speciosa* (Thunberg, 1824), submetido a três fotoperíodos (14L:10E, 10L:14E e 12L:12E), além de realizar a morfometria da população celular dos folículos testiculares.

Material e Métodos

Obtenção e criação de *C. speciosa*. Insetos adultos foram coletados no Município de Pombos agreste de Pernambuco e levados para o Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da UFRPE, para criação dos mesmos. Esses insetos foram mantidos em gaiolas teladas, contendo recipiente para postura e alimentados com folhas de jurubeba (*Solanum paniculatum*), trocadas a cada dois dias.

Instalação do experimento. Para realização do experimento foram utilizadas 60 ninfas (30 machos e 30 fêmeas) no último estágio de desenvolvimento, sendo colocados 10 casais em gaiolas separadas e submetidos aos seguintes tratamentos: Tratamento I: 14 horas com luz/10 horas sem luz; Tratamento II: 10 horas com luz/14 horas sem luz; Tratamento III: 12 horas com luz/12 horas sem luz.

A temperatura e umidade foram registradas por meio de termômetro de bulbo seco e bulbo úmido (higrômetro). Foram feitas três aferições diárias onde as médias obtidas para a temperatura e umidade relativa foram de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $72 \pm 10\%$, respectivamente.

Obtenção dos fotoperíodos. Foram obtidas por meio de uma modificação da técnica preconizada por Amorim & Adis (1995). Para isso, foi utilizada uma caixa de madeira, dimensionada (180cm X 60cm X 120cm) e ventilada, dividida em três compartimentos, cada um contendo lâmpadas (Phillips, modelo luz do dia, 40W) que forneceram cerca de 400 Lux na região ocupada pelos insetos. Dentro desta caixa foram colocadas as gaiolas teladas com os insetos, onde foram submetidos aos respectivos tratamentos. O controle da luminosidade foi realizado por meio de um timer. A limpeza das gaiolas e a troca da alimentação dos insetos foram realizadas sempre que necessário e durante o dia.

Coleta dos principais constituintes do aparelho reprodutor masculino. Trinta dias após atingirem o estágio adulto os machos foram levados para o Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE para coleta dos seguintes órgãos: testículos, canais eferentes, canais deferentes, vesículas seminais, ducto ejaculador e glândulas acessórias. Para isso os insetos foram sedados com éter etílico e dissecados sob estereomicroscópio (marca QUIMIS - modelo 1069).

Microscopia óptica de luz. Fragmentos dos órgãos coletados foram fixados em Bouïn alcoólico empregando a metodologia descrita por Michalany (1990). Para a inclusão dos materiais, estes foram desidratados em dois banhos de álcool absoluto por 15 minutos cada e diafanizados em xilol por 15 minutos. Em seguida foram impregnados em banhos de "paraplast" diluído em xilol na proporção de 25%, 50%, 75% e 100%, durante 15 minutos cada, e incluídos, após o último banho. A seguir, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (LEICA RM 2035)

ajustado para 5µm. Os cortes assim obtidos foram submetidos às técnicas de colorações pela Hematoxilina - Eosina (H-E), tricrômico de Mallory e P.A.S. (Ácido Periódico de Schiff), empregando-se a metodologia descrita por Behmer *et al.* (1976), Junqueira & Junqueira (1983) e Michalany (1990). A análise histológica foi realizada utilizando-se um microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49, e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-51.

Análise morfométrica da população celular dos folículos testiculares. Para análise morfométrica utilizaram-se 5 testículos por tratamento, onde foram analisados cinco folículos testiculares em cada repetição. Em cada folículo testicular foram contados os pontos que incidiram sobre as seguintes células: espermatogônias, espermatócitos (primários e secundários), espermatídes e espermatozóides. Este procedimento foi realizado utilizando-se uma ocular de 10X, contendo no seu interior um retículo micrométrico square (U-OCMSQ10/10) da Olympus, e uma objetiva de 40X (Weibel *et al.* 1966).

Análise estatística. Foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA) utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 1999-2001).

Resultados e Discussão

Descrição histológica. Analisando os testículos, canais eferentes, canais deferentes, vesículas seminais, ducto ejaculador e glândulas acessórias de *C. speciosa*, submetido a três diferentes fotoperíodos, no final do último instar, por 30 dias consecutivos, observou-se que as condições fotoperiódicas testadas não influenciaram na morfologia desses órgãos.

Os testículos apresentaram-se como uma massa única e oval envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo, comprovado pela coloração do tricrômico de Mallory, associado a tecido gorduroso. Esse tecido conjuntivo emite septos separando cada folículo testicular (Figs. 1, 2 e 3).

A espermatogênese ocorre da região distal para a proximal de cada folículo testicular, onde se observam nitidamente as seguintes regiões:

Germário, constituído pelas células germinativas primordiais ou espermatogônias as quais apresentam-se unidas, com morfologia esférica, núcleo volumoso e cromatina condensada (Fig. 4);

Zona de crescimento, logo após o germário, caracterizada pela presença de numerosos cistos de espermatogônias, em intensa atividade mitótica, separados por uma delgada membrana (Fig. 4);

Zona de divisão e redução, constituída por espermatócitos primários e secundários. Nesta região, são evidentes algumas fases da prófase I da meiose I nos espermatócitos primários (Fig. 5);

Zona de transformação, constituída por espermátides em vários estágios de desenvolvimento com morfologia variando de esférica a oval, além de numerosos espermatozóides agrupados em feixes (Figs. 6 e 7).

Os canais eferentes emergem da porção final de cada folículo testicular, sendo constituído por uma camada de tecido epitelial simples cúbico apoiada em uma delgada camada de tecido conjuntivo (Fig. 8).

Os canais deferentes ligam os testículos às vesículas seminais as quais são formadas por uma dilatação destes. A parede desses canais é formada por uma camada epitelial simples cúbico, apoiada em uma delgada camada de tecido conjuntivo e revestida externamente por uma espessa camada de tecido muscular estriado (Figs. 9 e 10). As vesículas seminais também são revestidas por epitélio, porém este é do tipo simples colunar apoiado numa delgada camada de

tecido conjuntivo e externamente apresenta uma fina camada de tecido muscular estriado (Fig. 11).

O ducto ejaculador é constituído por epitélio do tipo estratificado colunar coberto por uma íntima na sua porção final. Abaixo desse epitélio observa-se tecido conjuntivo (Figs. 12 e 13).

As glândulas acessórias são revestidas, de dentro para fora, por células epiteliais do tipo simples cúbico e externamente por uma camada bastante delicada de tecido muscular estriado associada a tecido conjuntivo. No interior desse órgão observa-se grande quantidade de substância P.A.S. positiva (Figs. 14 e 15).

Morfometria da população celular dos folículos testiculares. Com relação a morfometria da população celular dos folículos testiculares de *C. speciosa*, os resultados obtidos indicaram que os fotoperíodos de 14L:10E, 10L:14E e 12L:12E, não afetaram quantitativamente na população celular, pois as médias não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$). Para as espermatogônias (F_2 , 15= 2,35; $p = 0,1381$), espermatócitos (primário e secundário) (F_2 , 15=1,50; $p = 0,2628$), espermátides (F_2 , 15= 1,37; $p = 0,2920$) e espermatozóides (F_2 , 15= 0,14; $p = 0,8731$) quantificados (Tabela 1).

De acordo com Takeda & Skopik (1997), Silveira *et al.* (2002) e Macedo *et al.* (2003) os insetos são influenciados por vários fatores ecológicos, entre eles o fotoperíodo, levando a mudanças comportamentais e podendo afetar o potencial reprodutivo atuando positiva ou negativamente sobre o número de indivíduos de uma população. Alguns autores relatam ainda que insetos machos quando mantidos em iluminação constante tem capacidade de fertilidade reduzida, sendo para algumas espécies, o último instar e a fase de pupa, os estágios mais sensíveis a esse fator (Lum & Flaherty 1969, Rieman & Rudd 1974, Cymborowski & Giebultowicz 1976, Hagan & Brady 1981, Giebultowicz *et al.* 1990, Bebas & Cymborowski

1999). De acordo com os resultados obtidos não houve influência dos fotoperíodos na maturidade sexual nos machos de *C. speciosa*, a qual segundo Turk & Barrera (1976) ocorre aproximadamente 10 dias após a última ecdise, pois a análise histológica dos órgãos e morfometria da população de células dos folículos testiculares, não revelaram alterações. Isto pode estar relacionado ao fato dos fotoperíodos 14L:10E e 10L:14E não terem interferido na redução do ecdsônio, pois de acordo com Saunders (1976) dependendo do fotoperíodo há uma inibição da liberação do hormônio protorácicotrópico impedindo a produção do ecdsônio pelas glândulas protorácicas. A descrição histológica para esses órgãos, de um modo geral, está de acordo com as citações de vários autores (Uvarov 1966, Romoser 1973, Borrer *et al.* 1989, Snodgrass 1993, Chapman 1998, Buzzi & Miyazaki 1999). Com relação à presença de tecido conjuntivo envolvendo os testículos, segundo Uvarov (1966), Romoser (1973) e Borrer *et al.* (1989) este tecido está relacionado com a membrana peritoneal. No entanto, esse resultado não está de acordo com as informações de Maranhão (1978), que cita apenas a presença de tecido epitelial revestindo esses órgãos, formando assim a bainha epitelial. Já Richards & Davies (1983) descrevem que os folículos testiculares são revestidos por uma camada de epitélio associada externamente com a membrana basal e logo abaixo uma camada de tecido conjuntivo.

Os ductos genitais têm importância não só no transporte de espermatozoides, mas no processo final de sua maturação e na garantia de sua sobrevivência no trato genital até o momento da cópula, além da sua transferência para a fêmea (Fernandez & Cruz-Landim 2004).

A análise histoquímica da secreção das glândulas acessórias indica natureza glicoprotéica, uma vez que se cora pelo P.A.S. Esses resultados estão de acordo com os relatos de vários autores que citam as proteínas como principal componente da secreção (Gillott 1995, Smid 1998, Fernandez & Cruz-Landim 2004).

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor, possibilitando a realização deste trabalho.

Literatura Citada

- Amorim, M.A. & J. Adis. 1995.** Desenvolvimento nifal do gafanhoto neotropical seme-aquático *Stenacris fissicauda fissicauda* (Bruner, 1908) (Orthoptera:Acrididae) em condições controladas. Acta Amazônica 25: 73-92.
- Azevedo, A.C.P. & G.J. Henning. 1983.** Zoologia. 6.ed. Porto Alegre, Professor Gaúcho, 318p.
- Baccetti, B.M. 1987.** Spermatozoa and phylogeny in orthopteroid insects, p.12-112. In Baccetti B.M. (ed.), Evolutionary biology of orthopteroid insects. New York, John Wiley & Sons, 612p.
- Bebas, P. & B. Cymboroswsk. 1999.** Effect of constant light on male sterility in the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. Physiol. Entomol. 24: 165-170.
- Beck, S.D. 1968.** Insect Photoperidism. New York, Academic Press, 288p.
- Behmer, O.A., Tolosa, E.M.C. & Freitas Neto, A.G. 1976.** Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo, Edart, 239p.
- Borror, D.J., C.A. Triplehorn & N.F. Johnson. 1989.** An introduction to the study of insects. 6.ed. Philadelphia, Saunders, 875 p.
- Bressac, D. 1994.** Storage of short and long sperm in *D. subobscura*. Drosophila Inf. Serv. 75: 120-121.
- Buzzi, Z.J. & R.D. Miyazaki. 1999.** Entomologia didática. 3. ed. Curitiba, Editora da UFPR, 306p.
- Carcupino, M., G. Profili, J. Kathirithamby & M. Mazzini. 1995.** Sperm ultrastructure of *Xenos vesparum* (Rossi) and its significance in the taxonomy and phylogeny of Strepsiptera (Insecta). Mém. Mus. Natn. Hist. Nat. 166: 291-296.
- Chapman, R.F., 1998:** The Insects: Structure and Function, 4th edn. London, Hodder & Stoughton, 788p.

- Cruz-Landim, C., D. Beig & R.L.M.S. Moraes. 1980.** The process of differentiation during spermatogenesis in bees (Hymenoptera, Apidae). *Caryologia* 33: 1-15.
- Cruz-Landim, C. & R.L.M.S. Moraes. 1980.** Observations on the mitochondrial complex and head differentiation during spermiogenesis of the stingless bee *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. *Cytobios* 27: 167-175.
- Cymborowski, B. & J.M. Giebultowicz. 1976.** Effect of Photoperiod on development and fecundity in the flour moth *Ephestia kuehniella*. *J. Insect Physiol.* 22: 1213-1217.
- Ergen, G. 2001.** The effects of precocene II on the final structure of corpus allatum in adult female *Anacridium aegyptium* L. (Orthoptera: Acrididae). *Turk J. Zool.* 25: 95-103.
- Fernandez, F.C. & C. Cruz-Landim. 2004.** Aspectos morfológicos do aparelho reprodutor masculino de *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Biociências* 12: 78-87.
- Giebultowicz, J.M., L.R. Ridgway. & R.B. Imberski. 1990.** Physiological basis for sterilizing effect of constant light in *Lymantria dispar*. *Physiol. Entomol.* 15: 149-156.
- Gillott, C. 1995.** *Entomology*. 2. ed. New York, Plenum Press, 729p.
- Hagan, D.V. & U.E. Brady. 1981.** Effects of male photoperiod calling, pheromone levels and oviposition of mated female *Trichoplusia ni*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74: 286-288.
- Junqueira, L.C.U. & L.M.M.S. Junqueira. 1983.** Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo, Santos, 123p.
- Lum, P.T.M. & B.R. Flaherty. 1969.** Effect of mating with males reared in continuous light or in light-dark cycles on fecundity in *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Phycidae). *J. Stored Prod Res.* 5: 89-94.
- Macedo, L.P.M., B. Souza, C.F. Carvalho & C.C. Escole. 2003.** Influência do fotoperíodo no desenvolvimento e na reprodução de *Chrysoperla externa* (Hangel) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotrop. Entomol.* 32: 91-96.
- Maranhão, Z.C. 1978.** *Entomologia geral*. 3.ed. São Paulo, Nobel, 396p.
- Michalany, J. 1990.** Técnica histológica em anatomia patológica. 2.ed. São Paulo, Michalany, 277 p.
- Okuda, T. & S. Tanaka. 1996.** An Allatostatic factor and juvenile hormone synthesis by corpora allata in locust. *J. Insect Physiol.* 43: 635-641.
- Quicke, D.L.J., S.N. Ingram, H.S. Baillie & P.V. Gaitens. 1992.** Sperm structure and ultrastructure in the Hymenoptera (Insecta). *Zool. Scr.* 21: 381-402.
- Richards, O.W. & R.G. Davies. 1983.** *Entomology*. 9.ed. London, Methuen, 418p.

- Rieman, J.G. & R.L. Ruud. 1974.** Mediterranean flour moth: effects of continuous light on the reproductive capacity. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67: 857-860.
- Romoser, W.S. 1973.** The science of entomology. New York, Macmill Publishing, 575p.
- SAS Institute, 1999-2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Saunders, D.S. 1976.** Seasonal cycles of development in: Insect clocks. New York, Pergamon Press, 280p.
- Saunders, D.S., R.D. Lewis & G.R. Warman. 2004.** Photoperiodic induction of diapause: opening the black box. *Physiol. Entomol.* 29: 1-15.
- Silveira, F.A., G.A.R. Melo & E.A.B. Almeida. 2002** Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação. IDM Composição e Arte: Belo Horizonte.
- Smid, H.M. 1998.** Transfer of male accessory gland peptide to the female during mating in *Leptinotarsa decemlineata*. *Invert. Reprod. Dev.* 34: 47-53.
- Snodgrass, R.E. 1993.** Principles of Insect Morphology. 2.ed. London, Cornell University Press, 667p.
- Takeda, M. & S.D. Skopik. 1997.** Photoperiodic Time Measurement and related physiological mechanisms in insects and mites. *Ann. Rev. Entomol.* 42: 323-349.
- Tanaka, S. & Y. Sadoyama. 1997.** Photoperiodic termination of diapause in field-collected adults of the Bombay locust, *Nomadacris succincta* (Orthoptera: Acrididae) in southern Japan). *Bull. Entomol. Res.* 87: 533-539.
- Turk, S.Z. & M. Barrera. 1976.** Acridios del NOA. I. Estudios biológicos, morfométricos y aspectos ecológicos de *Chromacris speciosa* (Thunberg) (Acrididae: Romaleinae). *Acta zool. Lilloana* 32: 121-145.
- Uvarov, S.B. 1966.** Grasshoppers and Locusts. London, Cambridge University Press., 481p.
- Weibel, E.R., G.S. Kistler. & W.F. Scherle. 1966.** Practical stereological method for morphometrics cytology. *J. Cell Biol.* 30: 23-38.

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) da população celular dos folículos testiculares de *C. speciosa* submetido a diferentes fotoperíodos. Temperatura $30\pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa $72\pm 10\%$ (n = 5).

Tipos celulares	Fotoperíodos		
	14L:10E	10L:14E	12L:12E
Espermatogônias	$14,60 \pm 2,01$	$11,60 \pm 1,94$	$9,80 \pm 0,58$
Espermatócitos (primário e secundário)	$39,40 \pm 4,23$	$38,80 \pm 3,43$	$47,80 \pm 4,60$
Espermátides	$18,40 \pm 2,82$	$15,80 \pm 2,08$	$13,20 \pm 1,59$
Espermatozóides	$179,60 \pm 9,79$	$174,60 \pm 12,74$	$184,0 \pm 15,0$

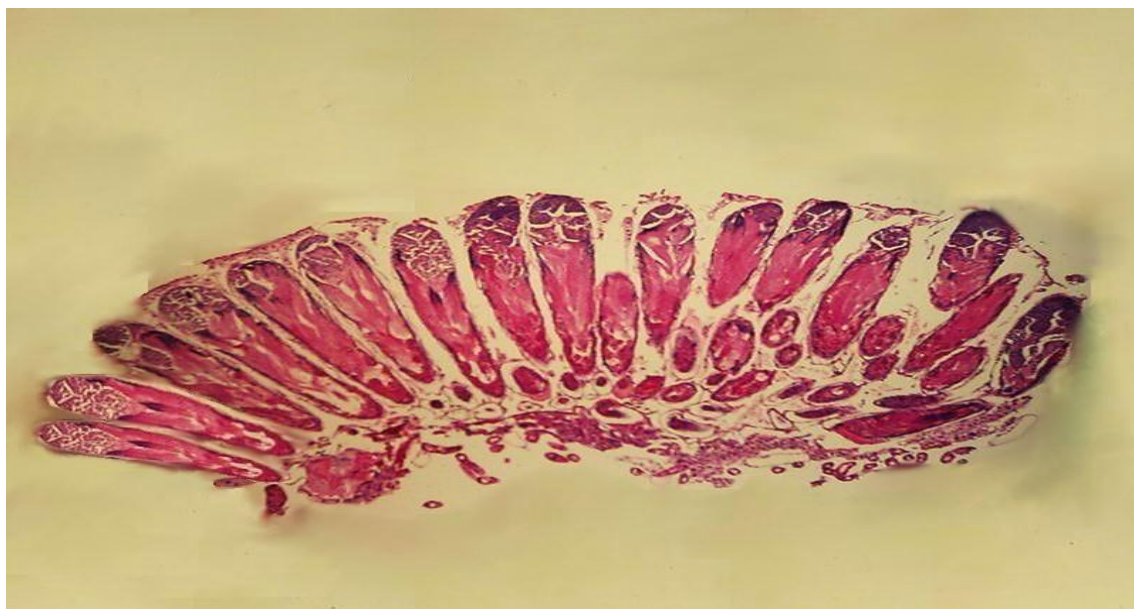


Figura 1. Aspecto geral do testículo de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Coloração H.E. Aumento 42x.

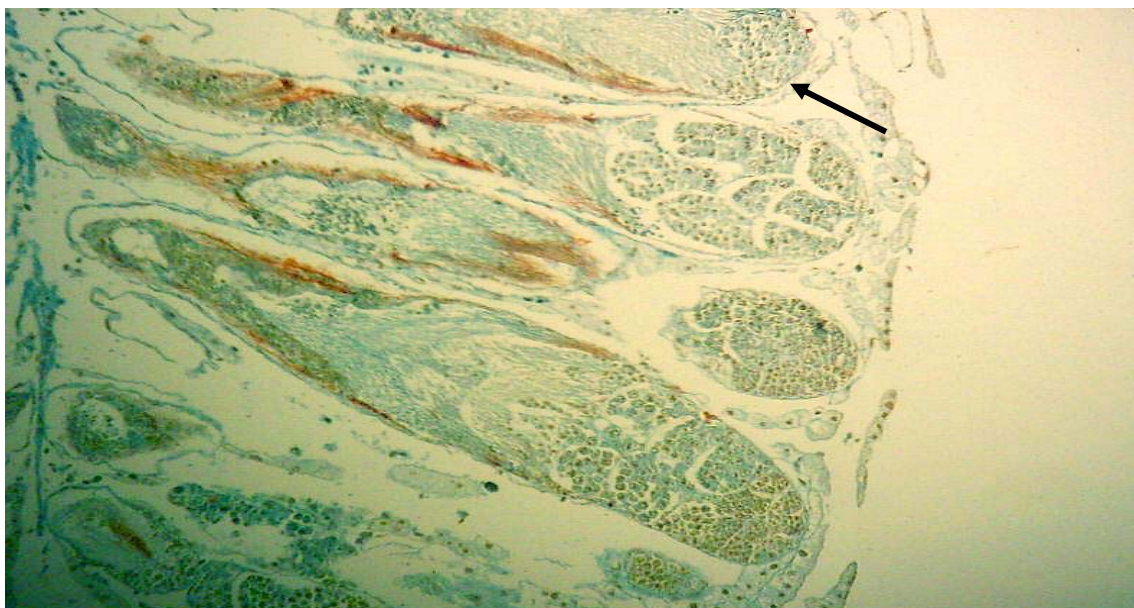


Figura 2. Testículo de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 12L:12E. Observar cápsula de tecido conjuntivo (seta). Coloração tricrômico de Mallory. Aumento 42x.

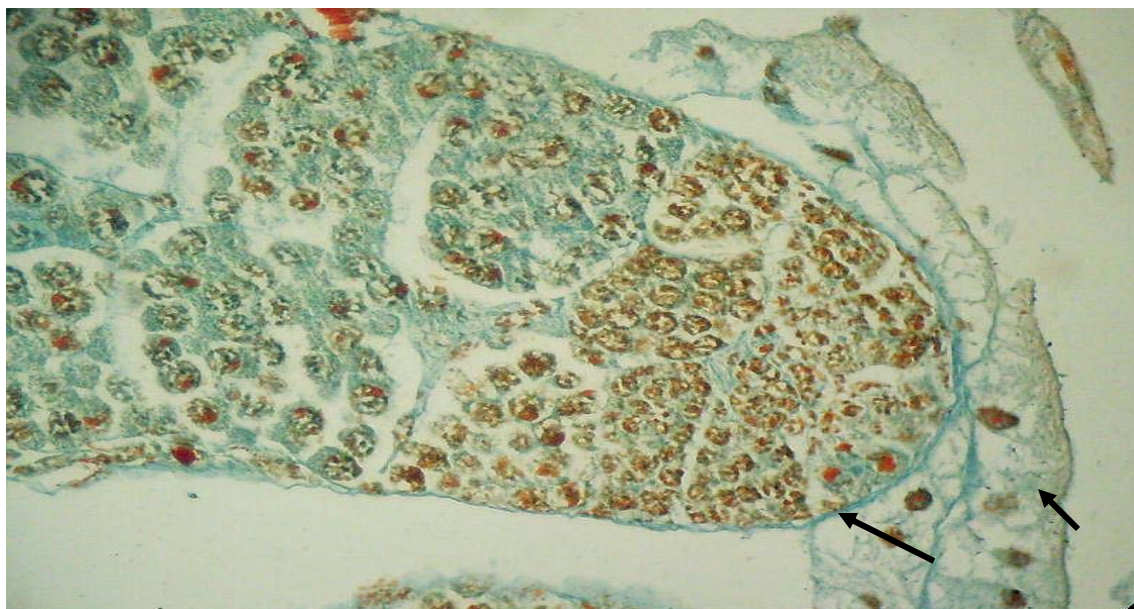


Figura 3. Folículo testicular de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 12L:12E. Observar revestimento de tecido conjuntivo associado (seta longa) com tecido gorduroso (seta curta). Coloração tricrômico de Mallory. Aumento 107x.

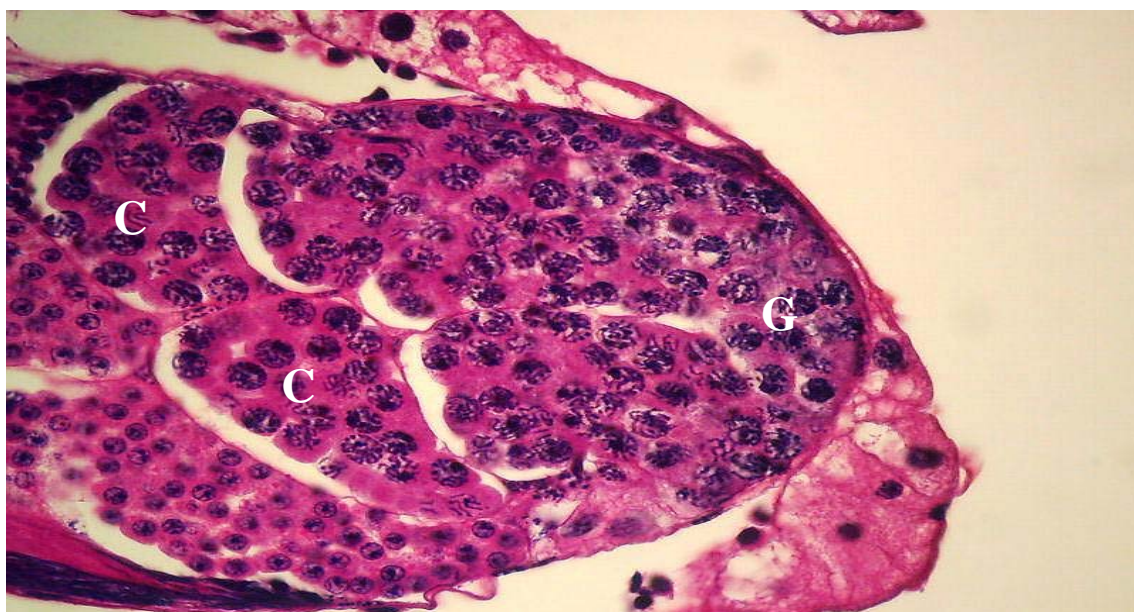


Figura 4. Folículo testicular de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 12L:12E. Observar germário (G) e zona de crescimento com vários cistos (C). Coloração H.E. Aumento 428x.

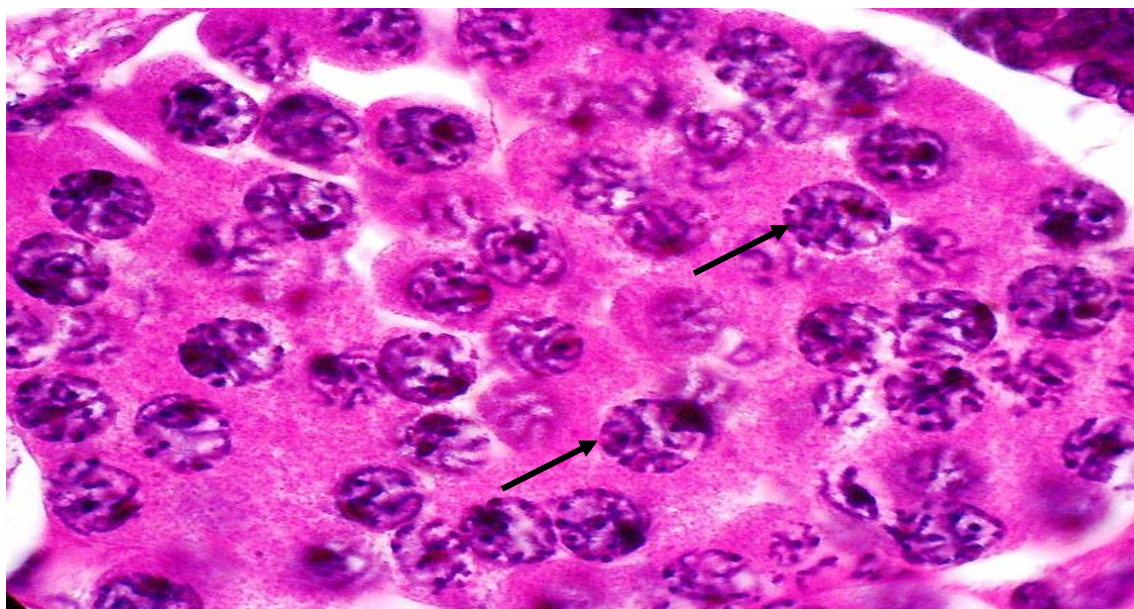


Figura 5. Folículo testicular de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Observar espermátocitos na subfase paquíteno (setas) da prófase da meiose I. Coloração H.E. Aumento 1071x.

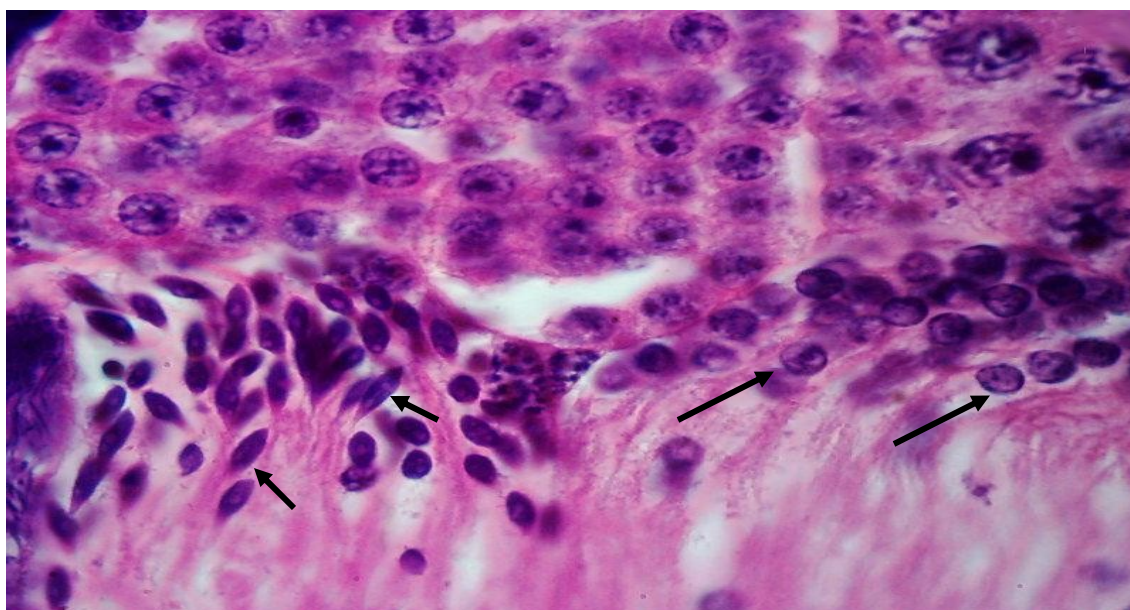


Figura 6. Folículo testicular de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Observar espermátides em vários estágios de desenvolvimento: espermátides esféricas (setas longas) e espermátides alongadas (setas curtas). Coloração H.E. Aumento 1071x.

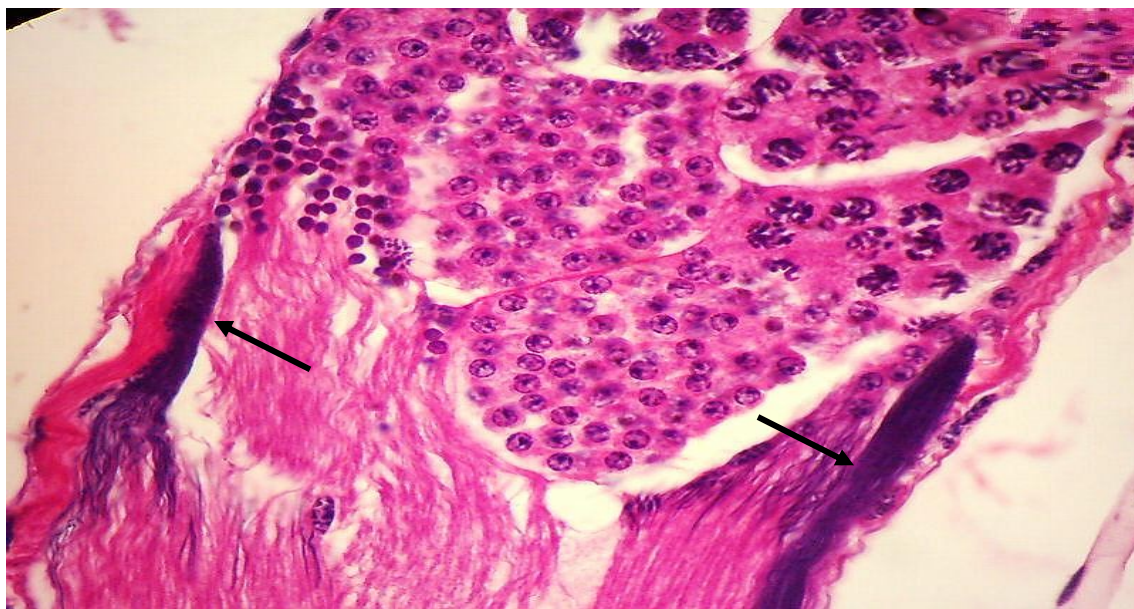


Figura 7. Folículo testicular de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 10L:14E. Observar espermatozóides agrupados em feixes (setas). Coloração H.E. Aumento 428x.

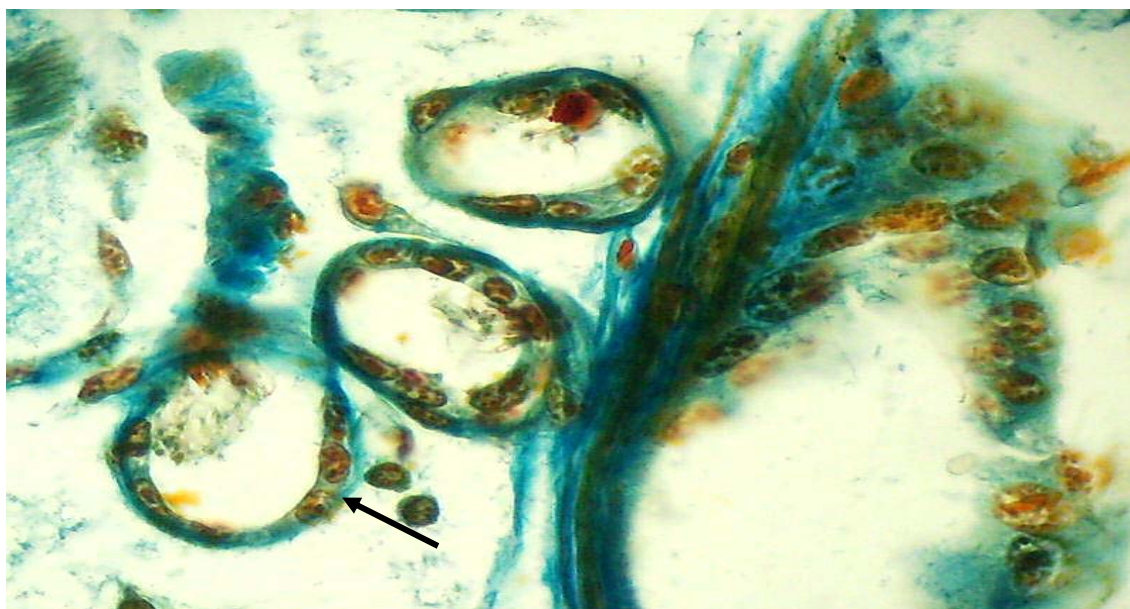


Figura 8. Corte transversal do canal eferente (seta) de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Coloração tricrômico de Mallory Aumento 428x.

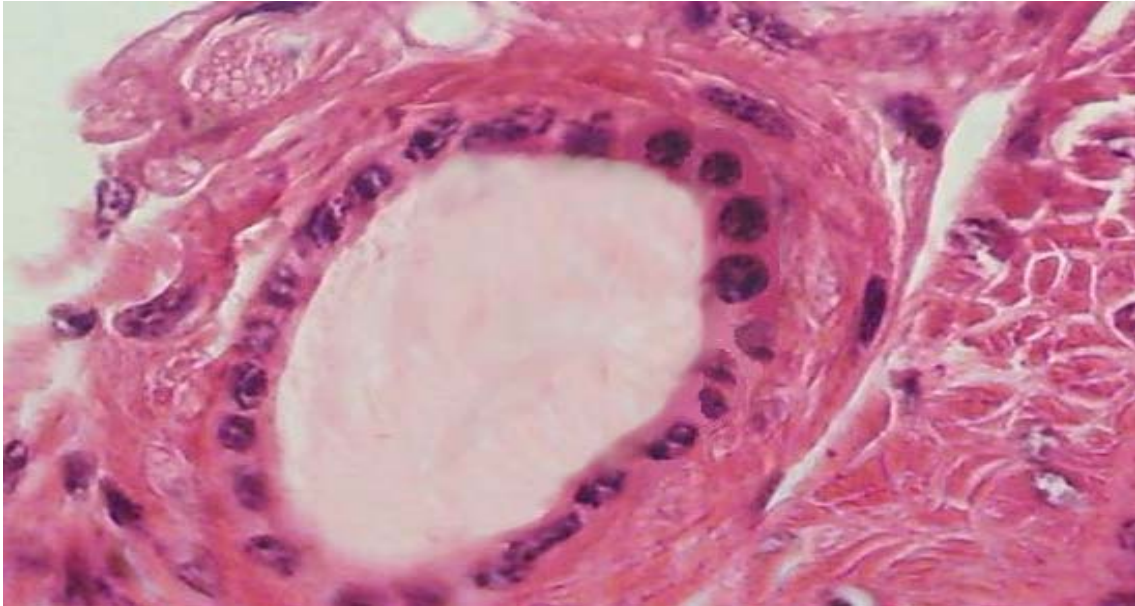


Figura 9. Corte transversal do canal deferente de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Coloração H.E. Aumento 428x.

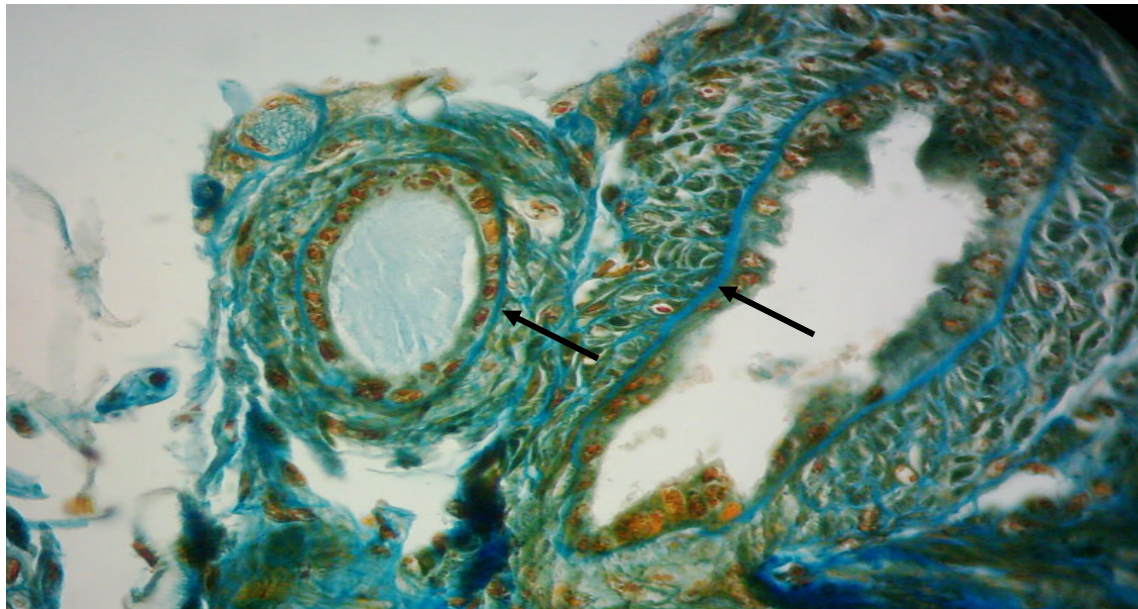


Figura 10. Observar delgada camada de tecido conjuntivo (setas) no corte transversal do canal deferente de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Coloração tricrômico de Mallory. Aumento 107x.



Figura 11. Vesícula seminal de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 12L:12E. Observar epitélio simples colunar (seta longa), espermatozóides na luz (*) e delgada camada de tecido muscular estriado (seta curta). Coloração H.E. Aumento 428x.

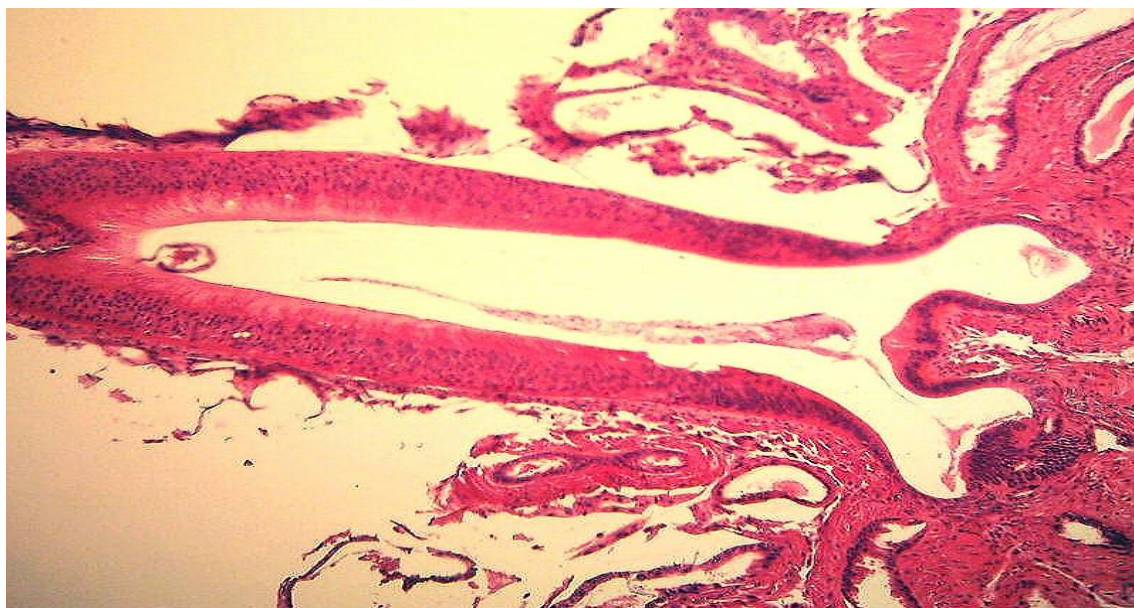


Figura 12. Visão geral do ducto ejaculador de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Coloração H.E. Aumento 107x.

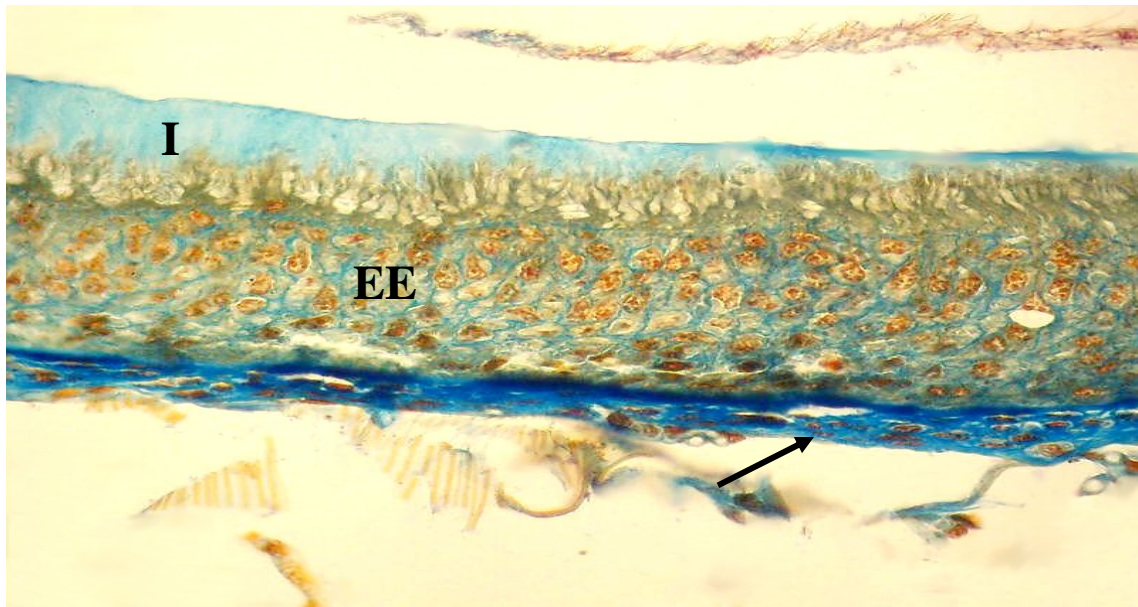


Figura 13. Parede do ducto ejaculador de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Observar epitélio estratificado (EE), íntima (I) e tecido conjuntivo (seta). Coloração tricrômico de Mallory. Aumento 428x.

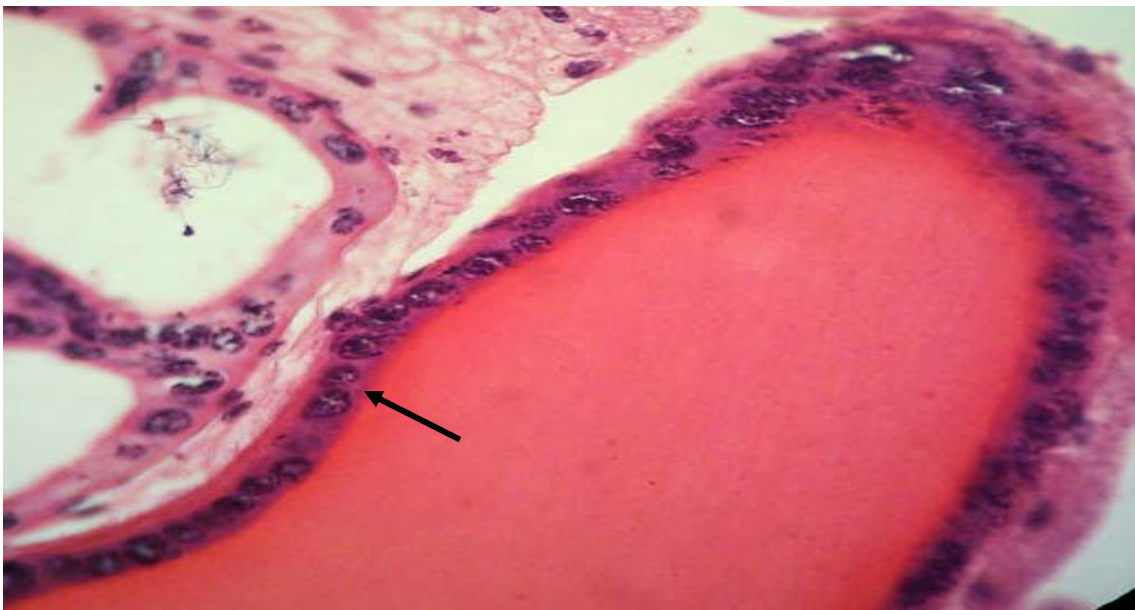


Figura 14. Glândula acessória de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Observar epitélio simples cúbico (seta). Coloração H.E. Aumento 428x.

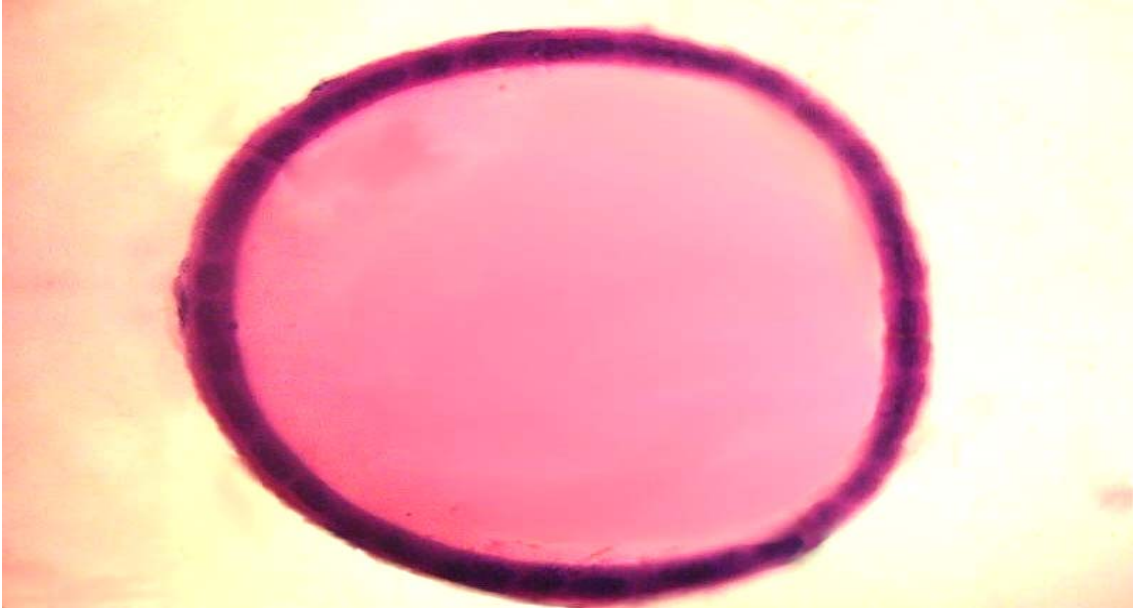


Figura 15. Glândula acessória de *C. speciosa* submetido ao fotoperíodo de 14L:10E. Observar no interior desse órgão grande quantidade de substância P.A.S. positiva. Coloração P.A.S. Aumento 428x.

CAPÍTULO 3

MORFOMETRIA DOS TESTÍCULOS E ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DA
ESPERMIOGÊNESE EM *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA:
ROMALEIDAE) SUBMETIDO A TRÊS FOTOPERÍODOS

ALEXSANDRE V.S. FERREIRA, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA, FABIO A.B. SANTOS,

ANTÔNIO F.S.L. VEIGA E ALVARO.A.C. TEIXEIRA

-
1. Ferreira, A.V.S.; Wanderley-Teixeira, V.; Santos, F.A.B.; Veiga, A.F.S.L.; Teixeira, A.A.C. Morfometria dos testículos e análise ultraestrutural da espermiogênese em *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) submetido a três fotoperíodos. Biociências.

RESUMO – A presente pesquisa teve o objetivo de realizar a morfometria dos testículos e analisar ultraestruturalmente a espermiogênese em *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae), submetido aos fotoperíodos de 14L:10E, 10L:14E e 12L:12E, no último instar. Trinta dias após atingirem o estágio de adulto, 10 machos de cada tratamento foram sedados para coleta dos testículos, os quais foram mensurados antes da fixação utilizando-se uma lupa binocular adaptada com uma ocular milimétrica. As médias foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA). Para análise em microscopia eletrônica de transmissão e varredura os testículos e folículos testiculares foram fixados em Karnovsky (Glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4% e T. cacodilato 0,1 M). Os resultados mostraram que não houve influência dos fotoperíodos sobre a morfometria dos testículos e da espermiogênese. Os testículos apresentaram-se com morfologia oval. Ultraestruturalmente observaram-se espermátides em estágios avançados de diferenciação e outras em estágios mais precoces. As espermátides em estágios iniciais de desenvolvimento são grandes, com morfologia esférica e núcleo volumoso, enquanto que as espermátides mais diferenciadas são menores, sendo possível observar a presença do axônema e mitocôndrias paralelas a este. Os espermatozóides acham-se agrupados em feixes, onde se observou o axônema e derivados mitocondriais típicos, característicos da peça intermediária e cauda. Na região da cabeça o núcleo apresentou-se alongado, elíptico e bastante eletrodenso.

PALAVRAS-CHAVE: *Chromacris speciosa*, morfometria, fotoperíodos, ultraestrutura, aparelho reprodutor masculino

MORPHOMETRY OF THE TESTICLES AND ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF THE
SPERMIOGENESIS IN *Chromacris speciosa* (THUNBERG, 1824) (ORTHOPTERA:
ROMALEIDAE) SUBMITTED TO THREE PHOTOPERIODS

ABSTRACT – The present research had the objective of performing the morphometry of the testicles and analyzing ultrastructurally the spermiogenesis in *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae), submitted to photoperiods 14L:10D, 10L:14D and 12L:12D, in the fifth instar. Ten males 30-d old from each photoperiod were sedated for testicles collection. Testicles were measured before fixation using an adapted binocular magnifying glass with a milimetric ocular. For the electronic microscopy of transmission and sweeping, the testicles and testicular follicles were fixated in Karnovsky (Glutaraldehyde 2,5%, paraformaldehyde 4% e T. cacodylate 0,1 M). Photoperiods studied did not influence the morphometry of the testicles and spermiogenesis. The testicles presented with an oval morphology. Ultrastructurally it has been observed spermatids in advanced stages of differentiation and others in more precocious stages. The spermatids in initial stages are big, with spherical morphology and a voluminous nucleus, while the more differentiated spermatids are smaller, being possible to observe the presence of the axoneme and parallel mitochondrias for this last one. The sperms were grouped in bunches, in which it was observed the axoneme and typical derived mitochondrials, characteristic of the intermediate part and tail. In the head region, the nucleus presented themselves as prolonged, elliptical and very electro-dense.

KEY WORDS: *Chromacris speciosa*, morphometry, photoperiods, ultrastructure, male reproductive system

Introdução

De acordo com Marchini & Nakano (1976), Roberts & Carbonell (1982) e Duranton et al. (1987) *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae) é conhecido popularmente como "gafanhoto soldado" apresentando cor verde brilhante com manchas amarelas e asas vermelhas alaranjadas, possuindo um tamanho médio de 20 a 30 mm para o macho e 35 a 50mm para a fêmea.

C. speciosa é considerada como devastadora ocasional endêmica da América do Sul tendo como hábito alimentar as solanáceas, preferindo as seguintes plantas: *Cestrum parqui*, *C. strigillatum*, *C. loretiziana*, *Lycium cestoides*, *Solanum agentinum* e *S. verbacifolium*, além de compostas, leguminosas, mirtáceas e gramíneas, registrando estragos em batata inglesa, arroz, cana-de-açúcar, girassol, fumo e tomateiro. Alguns autores afirmam ainda que sua presença em gramíneas é apenas casual (Lieberman, 1935; Lima, 1955; Turk & Barrera, 1976; Lara, 1992; Hora, 1995; Gallo *et al.*, 2002).

De acordo com Demerec (1950), Davey (1985), Snodgrass (1993) e Chapman (1998) o esboço básico dos órgãos do aparelho reprodutor masculino nos insetos é relativamente simples, onde tipicamente de cada testículo parte um ducto espermático, o qual se dilata para formar a vesícula seminal, terminando no ducto ejaculatório.

Em várias espécies de insetos há uma considerável diferença em relação ao tamanho das diferentes partes do trato reprodutor masculino, como por exemplo, os testículos, cujo comprimento e largura são extremamente variados (Bressac, 1994; Bressac *et al.*, 1994; Snook, 1998; Mery; Joly, 2002; Joly *et al.*, 2003), e segundo Gage (1995) e Gage; Cook (1994) em algumas ordens de insetos tem sido discutido que as medidas dos testículos são indicativas do nível de espermatozóides competitivos.

Duranton et al. (1987) sugerem ainda a morfometria para comparar espécimes em uma mesma população mesmo esta sendo fisionômica homogênea, pois os estudos morfométricos além da caracterização de fases (polimorfismo), podem servir igualmente para estudar a mistura de duas populações de origem diferentes em um mesmo local, e colocar em evidência as variações geográficas entre populações. Estudando a morfometria de *C. speciosa* de quatro localidades, Turk & Barreira (1976) verificaram a existência de diferenças entre os indivíduos das diferentes regiões.

Alguns autores relatam que insetos machos mantidos em iluminação constante têm capacidade de fertilidade reduzida, sendo para algumas espécies, o último instar e a fase de pupa, os estágios mais sensíveis a esse fator (Lum & Flaherty, 1969; Rieman & Rudd, 1974; Cymborowski & Giebultowicz, 1976; Hagan & Brady, 1981; Giebultowicz *et al.*, 1990; Bebas & Cymborowski, 1999). No entanto, na literatura não há estudos referindo se essa redução na fecundidade está relacionada a uma possível atrofia testicular ou alteração na espermiogênese.

Assim, diante do exposto, a presente pesquisa teve por objetivo analisar morfometricamente os testículos e investigar ultraestruturalmente a espermiogênese em *C. speciosa* (Thunberg, 1824), submetido a três fotofases (14h, 10h e 12h).

Material e Métodos

Obtenção e criação de *C. speciosa*. Insetos adultos foram coletados no Município de Pombos agreste de Pernambuco e levados para o Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da UFRPE, para criação dos mesmos. Esses insetos foram mantidos em gaiolas teladas, contendo recipiente para postura e alimentados com folhas de jurubeba (*Solanum paniculatum*), trocadas a cada dois dias.

Instalação do experimento. Para realização do experimento foram utilizadas 60 ninfas (30 machos e 30 fêmeas) no último estágio de desenvolvimento, sendo colocados 10 casais em gaiolas separadas e submetidos aos seguintes tratamentos: Tratamento I: 14 horas com luz/10 horas sem luz; Tratamento II: 10 horas com luz/14 horas sem luz; Tratamento III: 12 horas com luz/12 horas sem luz.

A temperatura e umidade foram registradas por meio de termômetro de bulbo seco e bulbo úmido (higrômetro). Foram feitas três aferições diárias onde as médias obtidas para a temperatura e umidade relativa foram de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e $72 \pm 10\%$, respectivamente.

Obtenção dos fotoperíodos. Foram obtidas por meio de uma modificação da técnica preconizada por Amorim & Adis (1995). Para isso, foi utilizada uma caixa de madeira, bem dimensionada (180cm X 60cm X 120cm) e ventilada, dividida em três compartimentos, cada um contendo lâmpadas (Phillips, modelo luz do dia, 40W) que forneceram cerca de 400 Lux na região ocupada pelos insetos. Dentro desta caixa foram colocadas as gaiolas com os insetos, onde foram submetidos aos respectivos tratamentos. O controle da luminosidade foi realizado por meio de um timer. A limpeza das gaiolas e a troca da alimentação dos insetos foram realizadas sempre no período de luz.

Coleta dos testículos para análise morfométrica. Trinta dias após atingirem o estágio adulto os machos foram levados para o Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE para coleta dos testículos. Para isso os insetos foram sedados com éter etílico e dissecados sob estereomicroscópio (marca QUIMIS - modelo 1069). Os testículos foram analisados mediante a uma lupa binocular de marca OLYMPUS SZX-12, adaptada com uma ocular milimétrica, sendo registrado o comprimento e a largura.

Análise da morfometria externa dos folículos testiculares. Cinco testículos de cada tratamento foram fixados em Karnovsky (Glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4% e T. cacodilato 0,1 M) e levados ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asame (LIKA) da UFPE, para processamento e análises em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Jeol JSN-T200, onde foram registrados o comprimento total e largura das regiões (germário, zona de crescimento, zona de divisão e redução, e zona de transformação) dos folículos testiculares.

Análise estatística. Foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA) utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 1999-2001).

Microscopia eletrônica de transmissão (MET). Amostras de folículos testiculares foram fixadas em Karnovsky (Glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4% e T. cacodilato 0,1 M) e levadas ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asame (LIKA) da UFPE, onde foram processadas e incluídas em resina Epom 812. A seguir, os blocos foram cortados em ultramicrótomos (LEICA) ajustado para 40 nm. Os cortes ultrafinos foram analisados e fotografados em Microscópio Eletrônico de Transmissão de marca Zeiss EM 109.

Resultados e Discussão

Os testículos de *C. speciosa* apresentaram forma oval e constituídos por vários folículos testiculares de morfologia tubular ligados ao canal deferente ao longo de todo o comprimento do testículo (Figs. 1 e 2). Com relação a morfometria verificou-se que não houve diferenças estatísticas significativas ($P > 0,05$) para o comprimento ($F_{2, 15} = 2, 53; P = 0,1130$) e largura ($F_{2, 15} = 0, 74; P = 0,4954$) dos testículos, bem como para o comprimento total ($F_{2, 6} = 3,86; p = 0,0837$) e largura das regiões dos folículos testiculares: Germário ($F_{2, 6} = 1,57; p = 0,2826$), Zona de crescimento ($F_{2, 6} = 0,05; p = 0,9515$), Zona de divisão e redução ($F_{2, 6} = 1,07; p = 0,3997$) e Zona de

transformação ($F_{2, 6} = 2,34; p = 0,1777$) em relação aos fotoperíodos (Tabelas 1 e 2). Os testículos dos gafanhotos podem ser classificados em três tipos básicos: chafariz, intermediário e pinulado, os quais, segundo Laird (1943) o comprimento da disposição dos folículos testiculares nos canais deferentes estão correlacionados ao comprimento dos testículos, sendo verificado para *C. speciosa* o tipo pinulado característico dos gafanhotos da família Romaleidae. De acordo com Chapman (1998) os folículos testiculares apresentam variações na sua forma, número e disposição nas diferentes espécies de insetos. Porém, alguns autores correlacionam as diferenças relativas ao comprimento dos testículos com o comprimento dos espermatozoides (Joly & Bressac, 1994; Pitnick & Markow, 1994; Hihara & Kurokawa, 1987).

Segundo Uvarov (1966) em gafanhoto, a mensuração de diferentes partes do corpo e seus apêndices são sempre explorados na descrição taxonômica das espécies, sendo as medidas mais comuns o comprimento do corpo, da antena, do pronoto, tergo e do fêmur. Esse mesmo autor relata ainda a necessidade de mais estudo para avaliar a importância taxonômica dos testículos. Assim, os valores obtidos do estudo morfométrico dos testículos em *C. speciosa*, podem ser utilizados como parâmetros para comparação com outras espécies da família Romaleidae.

Os fotoperíodos também não interferiram na espermiogênese, pois analisando ultraestruturalmente as espermátides e espermatozoides, verificou-se que essas células apresentaram o mesmo padrão morfológico em todos os tratamentos. Foram observadas espermátides em estágios avançados de diferenciação e outras em estágios mais precoces. As espermátides em estágios iniciais de desenvolvimento são grandes, com morfologia esférica e núcleo volumoso, enquanto que as espermátides mais diferenciadas são menores, sendo possível observar a presença do axônema e mitocôndrias paralelas a este (Figs. 3 e 4). Segundo Fontanetti (1999), Jamieson *et al.* (1999) e Kubo-Irie *et al.* (2003) as espermátides em estágios iniciais de

desenvolvimento apresentam o diâmetro nuclear 1,5 vezes maior do que as espermatides mais diferenciadas. Alguns autores relatam ainda que as espermátides sofrem modificações específicas durante a espermiogênese. Essas modificações funcionais estão envolvidas na formação de vários tipos de espermatozóides (polimorfismo) (Beatty & Burgoyne, 1971; Kurokawa *et al.*, 1974; Takamori & Kurokawa, 1986; Hihara & Kurokawa, 1987; Bressac *et al.*, 1991; Pasini *et al.*, 1996; Fernandez & Cruz-Landim, 2003). Os espermatozóides acham-se agrupados em feixes, onde se observou o axônema e derivados mitocondriais típicos, característicos da peça intermediária e cauda. Na região da cabeça o núcleo apresentou-se alongado, elíptico e bastante elétron-denso (Figs. 5 e 6). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Folliot & Maillet (1970), Caetano (1980), Wheeler *et al.* (1990), Lino-Neto; Dolder (2002), Fernandez & Cruz-Landim (2003), Mancini & Dolder (2004), Zama *et al.* (2004), Araújo *et al.* (2005), os quais analisando ultraestruturalmente espermatozóides de insetos, verificaram que eles estão agrupados em feixes e que na região da cabeça o núcleo apresentou-se alongado, elíptico e bastante elétron-denso, e que no flagelo foi observado a presença de axonema e derivados mitocondriais.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor, possibilitando a realização deste trabalho e ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Assami- LIKA – UFPE pela obtenção das eletromicrografias.

Literatura Citada

Amorim, M.A. & J. Adis. 1995. Desenvolvimento ninfal do gafanhoto neotropical seme-aquático *Stenacris fissicauda fissicauda* (Bruner, 1908) (Orthoptera:Acrididae) em condições controladas. Acta Amazônica 25: 73-92.

- Araújo, V.A., U. Zama, H. Dolder & J. Lino-Neto. 2005.** Morphology And Ultrastructure Of The Spermatozoa Of *Scaptotrigona xanthotricha* Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) Braz. J. Morphol. Sci. 22: 137-141.
- Beatty, R.A. & P.S. Burgoyne. 1971.** Size classes of the head and flagellum of *Drosophila* spermatozoa. Cytogenetics 10: 177-189.
- Bebas, P. & B. Cymboroswsk. 1999.** Effect of constant light on male sterility in the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. Physiol. Entomol. 24: 165-170.
- Bressac, D. 1994.** Storage of short and long sperm in *D. subobscura*. *Drosophila Inf. Serv.* 75: 120-121.
- Bressac, C., A. Fleury & D. Lachaise. 1994.** Another way of being anisogamous in *Drosophila* subgenus species: giant sperm, one-to-one gamete ratio, and high zygote provisioning. Proc. Natl. Acad. Sci. 91: 10399-10402.
- Bressac, C., D. Joly, J. Devaux, C. Serres, D. Feneux & D. Lachaise. 1991.** Comparative kinetics of short and long sperm in sperm dimorphic *Drosophila* species. Cell Mot. Cytoskeleton 19: 269-274.
- Caetano, F.H. 1980.** Ultra-estrutura dos espermatozóides de *Atta capiguara* e *Atta sexdens rubropilosa* (Formicidae). Naturalia 5: 105-111.
- Chapman, R.F. 1998:** The Insects: structure and function, 4th edn. Cambridge University Press. U. K. 788p.
- Cymborowski, B. & J.M. Giebultowicz. 1976.** Effect of Photoperiod on development and fecundity in the flour moth *Ephestia kuehniella*. J. Insect Physiol. 22: 1213-1217.
- Davey, K.G. 1985.** The male reproductive tract, p. 1-36. In: Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. (eds.), Comprehensive Insect physiology, biochemistry and pharmacology. embryogenesis and reproduction. Pergamon Press 487p.
- Demerec, M. 1950.** Biology of *Drosophila*. New York, Wiley; Chapman & Hall, 632p.
- Duraton, J.F.; M. Launois; H.L. Luong & M. Lecoq. 1987.** Guia prático de luta contra os gafanhotos devastadores no Brasil. 1. ed. Roma, Fao-Cirad-Prifas, 343p.
- Fernandez, F.C. & C. Cruz-Landim. 2003.** Morphological Differences Between Apyrene And Eupyrene Spermatozoa In *Achroia Grisella* (Lepidoptera, Piralidae) Acta Microscop. 12: 571-572.
- Folliot, R. & P.L. Maillet. 1970.** Ultrastructure de la spermiogenèse et du spermatozoý de divers insectes Homoptères, p. 289-300. In B. Baccetti (ed.), Comparative spermatology. New York, Academic Press, 573p.

- Fontanetti, C.S. 1999.** Spermiogenesis of the Brazilian species of Diplopoda, *Pseudonannolene tricolor* Brolemann, 1901 (Pseudonannolenida, pseudonannolenidae). *Naturalia* 24: 41-48.
- Gage, M.J.G. 1995.** Continuous variation in reproductive strategy as an adaptive response to population density in the moth *Plodia interpunctella*. *Proc. Royal Soc. London B* 261: 25-30.
- Gage, M.J.G. & P.A. Cook. 1994.** Sperm size or numbers? Effects of nutritional stress upon eupyrene and apyrene sperm production strategies in the moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Funct. Ecol* 8: 594-599.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zcchi, S.B. Alves, J.V. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Manual de Entomologia Agrícola. Piracicaba, Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queirós, 920p.
- Giebultowicz, J.M., L.R. Ridgway & R.B. Imberski. 1990.** Physiological basis for sterilizing effect of constant light in *Lymantria dispar*. *Physiol. Entomol.* 15: 149-156.
- Hagan, D.V. & U.E. Brady. 1981.** Effects of male photoperiod calling, pheromone levels and oviposition of mated fecal *Trichoplusia ni*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74: 286-288.
- Hihara, F. & H. Kurokawa. 1987.** The sperm length and the internal reproductive organs of *Drosophila* with special references to phylogenetic relationships. *Zool. Sci.* 4: 167-174.
- Hora, M.J.L. 1995.** Efeitos de diferentes regimes alimentares sobre a fecundidade e longevidade de *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Romaleidae). Monografia de Graduação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 37p.
- Jamieson, B.G.M., R. Dallai & B.A. Afzelius. 1999.** Order Hemiptera, p. 232-249. In Jamieson, B.G.M., R. Dallai & B.A. Afzelius (eds.). *Insects: Their Spermatozoa and Phylogeny*. UK, Science Publishers, 564p.
- Joly, D., C. Bressac, D. Jaillard, D. Lachaise & M. Lemullois. 2003.** The sperm roller: a modified testicular duct linked to giant sperm transport within the male reproductive tract. *J. Struct. Biol.* 142: 348-355.
- Joly, D. & C. Bressac 1994.** Sperm length in Drosophilidae (Diptera): estimation by testis and receptacle length. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 23: 85-92.
- Kubo-Irie, M., M. Irie, T. Nakazawa & H. Mohri. 2003.** Ultrastructure and function of long and short sperm in Cicadidae (Hemiptera) *J. Insect Physiol.* 49: 983-991.
- Kurokawa, H., H. Matsuo & Y.H. Hihara. 1974.** A study on sperm length and body size of *Drosophila bifasciata*. *Annotat. Zool. Jpn.* 47: 140-146.
- Lara, F.M. 1992.** Princípios de entomologia. 3. ed. São Paulo, Ícone, 331p.

- Laird, A.K. 1943.** A study of the types of male gonads found in the Acrididae (Orthoptera). *J. Morph.* 72: 477-490.
- Libermam, J. 1935.** Catalogo sistemático y razonado de Acridoideos argentinos género: *Prinolopha*, *Dietronotus*, *Eleochlora* y *Chromacris* (Orthoptera: Acrididae) *Rev. Soc. Entomol. Argentina* 7: 25-53.
- Lima, A.C. 1955.** Orthoptera. In: *Agronomia*. 14: 213-214.
- Lino-Neto J. & H. Dolder. 2002.** Sperm structure and ultrastructure of the fire ant *Solenopsis invicta* Bauren (Hymenoptera, Formicidae). *Tissue Cell* 34: 124-128.
- Lum, P.T.M. & B.R. Flaherty. 1969.** Effect of mating with males reared in continuous light or in light-dark cycles on fecundity in *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Phycidae). *J. Stored Product Res.* 5: 89-94.
- Marchini, L.C. & O. Nakano. 1976.** Observações sobre o gafanhoto *Chromacris speciosa* (Thunberg, 1824) (Orthoptera: Acrididae). *Rev. Agric.* 51: 89-91.
- Mancini, K. & H. Dolder. 2004.** Protein detection in spermatids and spermatozoa of the butterfly *Euptoieta hegesia* (Lepidoptera). *Biocell* 28: 299-310.
- Méry, F. & D. Joly. 2002.** Multiple mating, sperm transfer and oviposition pattern in the giant sperm species, *Drosophila bifurca*. *J. Evol. Biol.* 15: 49-56.
- Pasini, M.E., C.A. Redi, O. Cavaglia & M.E. Perotti. 1996.** Ultrastructural and cytochemical analysis of sperm dimorphism in *Drosophila subobscura*. *Tissue and Cell* 28: 165-175.
- Pitnick, S. & T.A. Markow. 1994.** Large male advantages associated with costs of sperm production in *Drosophila hydei*, a species with giant sperm. *Proc. Ntl. Acad. Sci. USA* 91: 9277-9281.
- Rieman, J.G. & R.L. Ruud. 1974.** Mediterranean flour moth: effects of continuous light on the reproductive capacity. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67: 857-860.
- Roberts, H.R. & C.S. Carbonell. 1982.** A revision of the grasshopper genera *Chromacris* and *Xestotrachelus* (Orthoptera: Romaleidae: Romaleinae). *Proc. Calif. Acad. Sci.* 43: 43-58.
- SAS Institute (1999-2001).** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Snodgrass, R.E. 1993.** Principles of insect morphology. 2. ed. London, Cornell University Press, 667p.
- Snook, R.R. 1998.** The risk of sperm competition and the evolution of sperm heteromorphism. *Anim. Behav.* 56: 1497-1507.

- Takamori, H. & H. Kurokawa. 1986.** Ultrastructure of the long and short sperm of *Drosophila bifasciata* (Diptera: Drosophilidae). *Zool. Sci.* 3: 847–858.
- Turk, S.Z. & M. Barrera. 1976.** Acridios del NOA. I. Estudios biológicos, morfométricos y aspectos ecológicos de *Chromacris speciosa* (Thunberg) (Acrididae: Romaleinae). *Acta zool. Lilloana* 32: 121-145.
- Uvarov, S.B. 1966.** Grasshoppers and locusts. London, Cambridge Univ. Press, 481p.
- Wheeler, D.E.; E.D. Crichton & P.H. Krutzsch. 1990.** Comparative ultrastructure of ant spermatozoa (Formicidae: Hymenoptera). *J. Morphol.* 206: 343-350.
- Zama U.; J. Lino-Neto & H. Dolder. 2004.** Structure and ultrastructure of spermatozoa in Meliponini (stingless bees) (Hymenoptera: Apidae). *Tissue Cell* 36: 29-41.

Tabela 1. Médias (\pm EP) do comprimento e largura dos testículos de *C. speciosa* submetido a diferentes fotoperíodos. Temp. 30 ± 2 °C e UR de $72 \pm 10\%$ (n = 6).

Fotoperíodos	Comprimento (mm)	Largura (mm)
10L/14E	$6,75 \pm 0,17$	$4,48 \pm 0,20$
12L/12E	$6,03 \pm 0,32$	$4,38 \pm 0,14$
14L/10E	$6,55 \pm 0,18$	$4,75 \pm 0,29$

Tabela 2. Médias (\pm EP) do comprimento e largura (μm) dos folículos testiculares de *C. speciosa* submetido a diferentes fotoperíodos. Temp. $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de $72 \pm 10\%$ (n = 3).

	Fotoperíodos		
	10L:14E	12L:12E	14L:10E
Comprimento total	1099,33 \pm 58,15	1366,67 \pm 93,59	1272,67 \pm 46,48
Germário	140,66 \pm 9,24	143,0 \pm 6,65	126,0 \pm 5,69
Zona de crescimento	199,67 \pm 21,61	203,0 \pm 21,94	207,66 \pm 4,33
Zona de divisão e redução	205,67 \pm 8,25	215,33 \pm 6,36	228,0 \pm 15,57
Zona de transformação	159,0 \pm 2,52	177,0 \pm 8,50	175,0 \pm 6,81

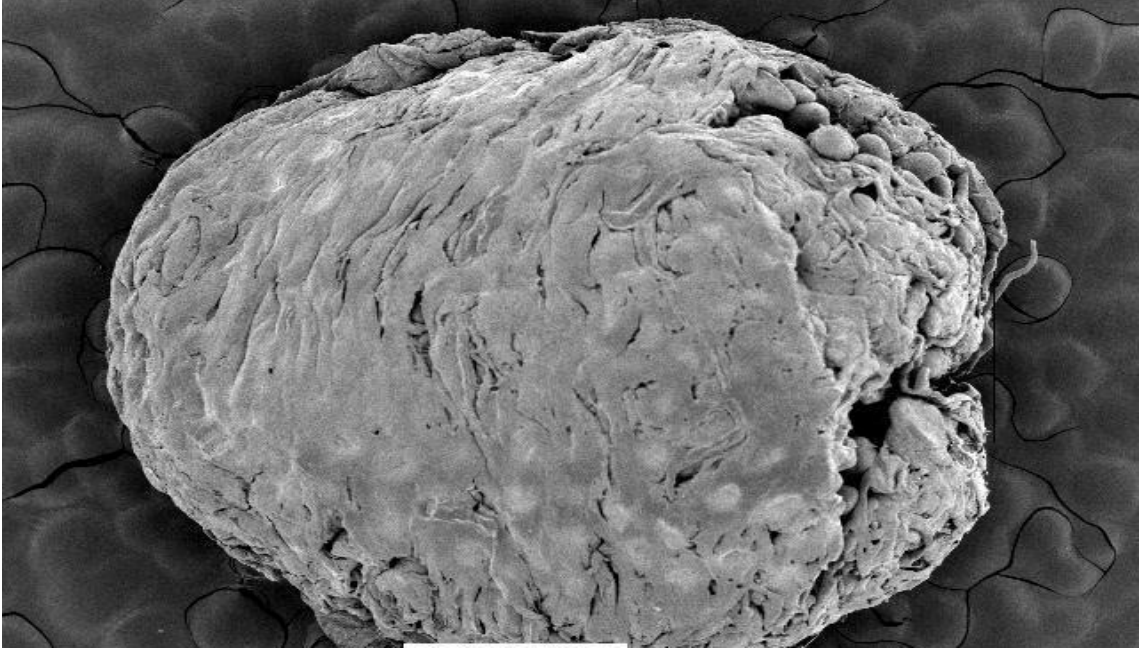


Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura do testículo de *C. speciosa*. Aumento 25X.

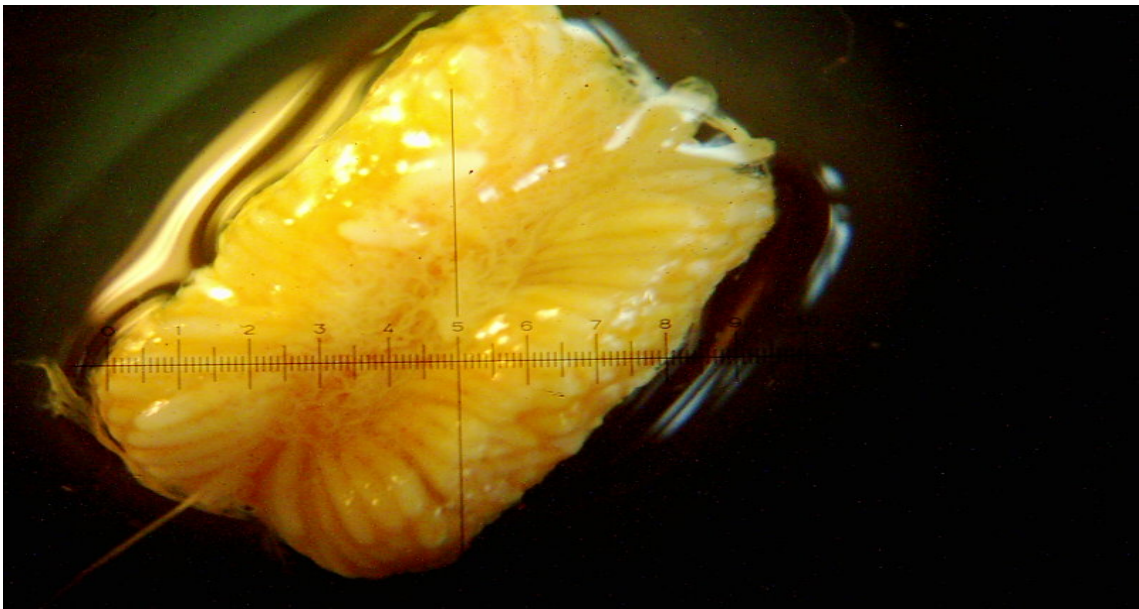


Figura 2: Vista geral da morfologia e disposição dos folículos testiculares de *C. speciosa*.

Aumento 20X.

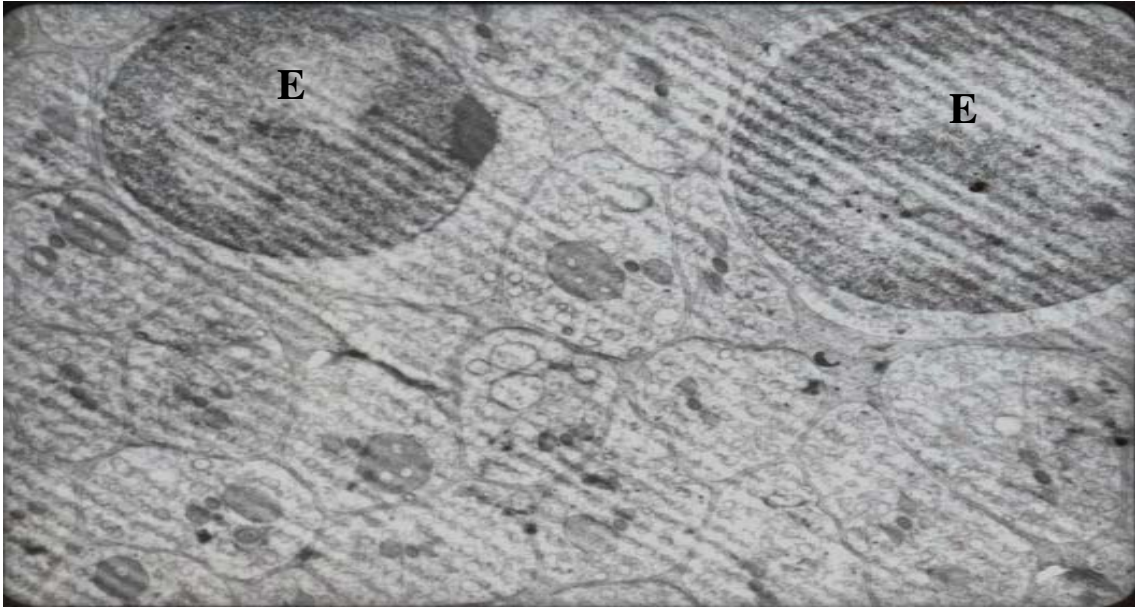


Figura 3: Microscopia eletrônica de transmissão mostrando espermátides de *C. speciosa* em estágio inicial de diferenciação (E). Aumento 3.000X.

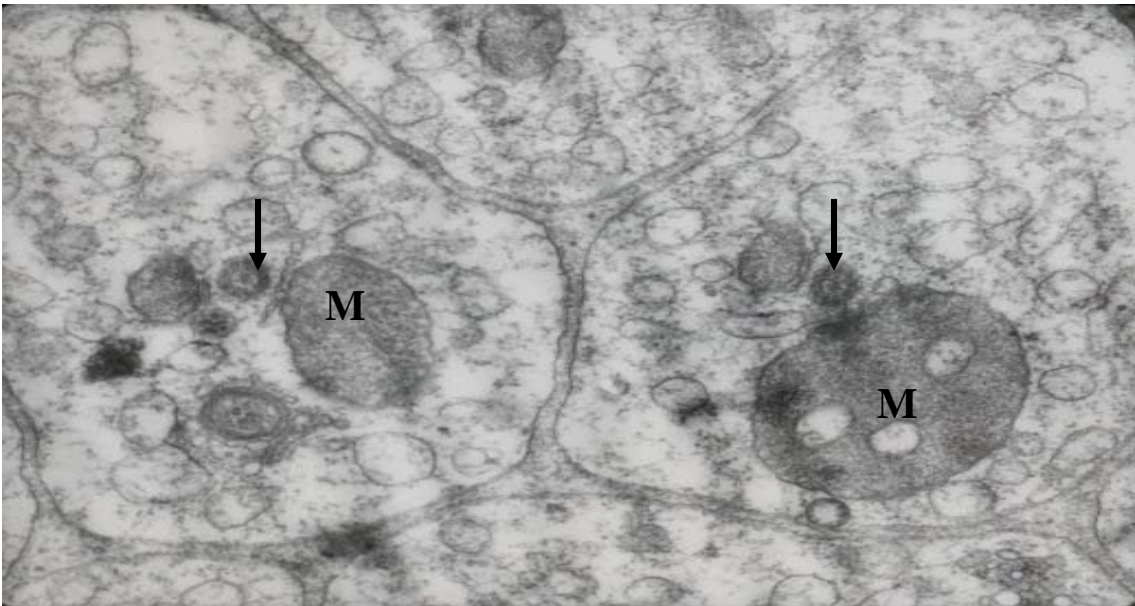


Figura 4: Microscopia eletrônica de transmissão mostrando espermátides de *C. speciosa* em estágio mais avançado de diferenciação. Notar axônema (setas) e mitocôndrias (M) Aumento 12.000X.

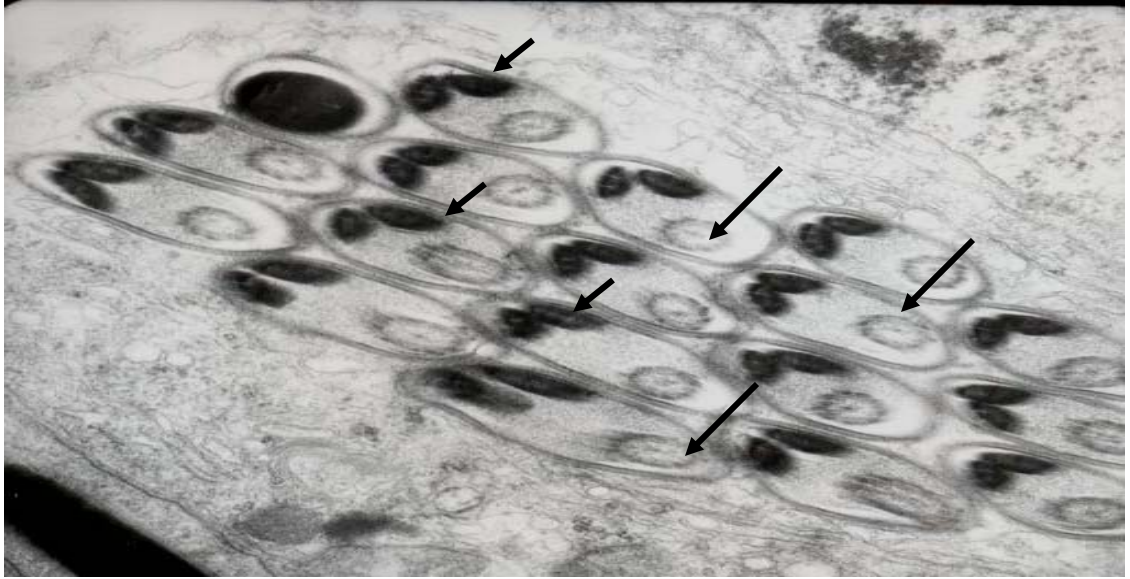


Figura 5: Microscopia eletrônica de transmissão mostrando peça intermediária de espermatozóides de *C. speciosa*. Notar axônema (setas longas) e derivados mitocondriais (setas curtas) Aumento 20.000X.



Figura 6: Microscopia eletrônica de transmissão mostrando cabeça de espermatozóides de *C. speciosa*. Notar núcleo alongado, elíptico e eletrodense (setas) Aumento 7.000X.