



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

**Morfologia comparada das terminálias masculinas e da ultraestrutura
do espermatozóide de Syrphidae (Diptera, Brachycera)**

Ingrid Gracielle Martins da Silva
Orientadora: Prof^a. Dra. Sônia Nair Bão

Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de pós-graduação em Biologia Animal

**Morfologia comparada das terminálias masculinas e da ultraestrutura
do espermatozóide de Syrphidae (Diptera, Brachycera)**

Ingrid Gracielle Martins da Silva

Tese apresentada no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutora em Biologia Animal.

Brasília, abril de 2026

“Não deixe que ninguém roube sua imaginação, sua criatividade ou sua curiosidade. É o seu lugar no mundo; é a sua vida. Vá em frente e faça tudo o que puder com ela, e faça dela a vida que você quer viver.” -

Mae Jemison, Engenheira, Médica e Ex-Astronauta da NASA

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela vida e por todos os desafios que me fizeram ser a pessoa que sou hoje. À minha família, pelas vivências, criação e apoio que recebi. À minha avó Beatriz, por ser o pilar que nos sustenta, exemplo de vida, de mulher, de mãe e de avó, sempre acolhendo e distribuindo amor e carinho a quem a procura.

À minha mãe, Maria de Jesus, por sempre estar ao meu lado, dando o apoio e suporte necessários; por ser exemplo de força, de mulher e exemplo de vida para mim e meus irmãos. Obrigada, por todos os sacrifícios despendidos, para que pudéssemos ter uma educação de qualidade e que nos fez chegar aonde chegamos. Ao meu pai, Miguel, por todo apoio e carinho, e por todo incentivo de sempre buscar o melhor.

Aos meus irmãos, por serem parceiros de vida, que sempre torceram para meu sucesso e estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis da minha vida.

À Handrya, amor da minha vida, que sempre esteve presente nos momentos de angústia, ansiedade e insegurança. Que é companheira de aventuras e de risadas e com quem pretendo partilhar e celebrar muitas outras conquistas que ainda virão.

Aos meus amigos, por serem parte da minha vida, por terem contribuído para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje. Agradeço por toda a amizade, afeto e inúmeros momentos memoráveis de risadas e partilha. Às minhas amigas e companheiras de vida Ana Carolina Vaqueiro, Rafaela Toledo, Carolina Borges e Juliana Bolzan, por estarem presentes em boa parte da minha vida, desde o início da minha trajetória acadêmica, na graduação até os dias de hoje. Pelos momentos de descontração, incentivo, conselho, acolhimento, jogatinas e muitas outras coisas que ainda viveremos até nossa velhice.

À minha mentora, chefe, segunda mãe e amiga Sônia N. Bão, por aceitar o desafio de ensinar aquela recém-chegada na universidade. Que há mais de 20 anos tem sido um exemplo de força, seriedade, compromisso, respeito e amor a ciência. Agradeço por todos os ensinamentos, não só acadêmicos, mas também profissionais e pessoais, que contribuíram para minha formação e crescimento pessoal. Obrigada por tudo, e sei que por trás dessa carinha de brava tem um coração enorme que acolhe a todos que a procuram.

À Karine Brenda, amiga, conselheira, colega de profissão. Faltam adjetivos para nomear a relação que temos a anos. Agradeço pelos anos de convivência, de implicâncias e de risadas. Agradeço imensamente por toda a ajuda que me foi dada ao longo do desenvolvimento deste trabalho, pois sem ela, boa parte deste trabalho não teria sido

possível. Obrigada por todo apoio necessário, pela amizade, pelos ouvidos amigo para as reclamações e por ter se juntado a mim nessa aventura maluca.

À Giovanna Lobo, pelas risadas, pelo apoio ao longo dos anos, por ser companheira de todas as horas e pela generosidade com que acolhe quem a cerca, meu muito obrigada! À todos os integrantes do LMM, pelo convívio diário, pelas trocas de experiências e pela descontração, que nos auxiliam a enfrentar os desafios de uma rotina acadêmica intensa. Agradeço a todos que passaram e/ou ainda estão presentes no laboratório, pelo suporte e incentivo nas horas necessárias.

Ao Professor Welinton Ribamar da UFG, que partiu precocemente registro meu agradecimento por toda contribuição. Foi com a ajuda dele que a ideia para o projeto desta tese nasceu e foi ele que forneceu os meios para que o início do trabalho fosse possível. Apesar de nosso pouco tempo de convivência sei que era uma pessoa incrível e de uma generosidade muito grande.

Ao Professor José Roberto Pujol, agradeço por toda a contribuição para que este trabalho fosse finalizado. Agradeço pelas orientações, dicas, risadas e pela convivência nestes anos de trabalho. Sua ajuda também foi inestimável para que o trabalho fosse concretizado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

À Universidade de Brasília pelo suporte e estrutura física necessária para a realização do trabalho.

Às agências de fomento CAPES, FINEP, CNPq e FAPDF pelos auxílios recebidos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Descrição das características das moscas da família Syrphidae.....	13
Figura 2: Abdômen e terminálias de macho da espécie <i>Syrphus ribesii</i> (Syrphidae)...	15
Figura 3: Desenho esquemático representando a morfologia do espermatozóide de <i>Cryomya megacephala</i>	17
Figura 4: Moscas submetidas ao processo de secagem a temperatura ambiente.....	23
Figura 5: Moscas submetidas ao processo de secagem ao ponto crítico.....	24
Figura 6: Vista ventral abdômen das terminálias das espécies da subfamília Syrphinae.....	30
Figura 7: Vista lateral das terminálias das espécies da subfamília Syrphinae.....	31
Figura 8: Vista lateral das terminálias das espécies da subfamília Microdontinae.....	34
Figura 9: Vista lateral das genitálias visualizadas por microscopia confocal.....	35
Figura 10: Vista ventral do abdomen evidenciando as terminálias das espécies da subfamília Eristalinae.....	39
Figura 11: Vista lateral da genitália das espécies da subfamília Eristalinae	40
Figura 12: Vista ventral das terminálias de representantes das 3 subfamílias.....	41
Figura 13: Micrografias eletrônicas de Transmissão mostrando a ultraestrutura do espermatozóide das moscas da família Syrphidae.....	44
Figura 14: Micrografias eletrônicas de Transmissão mostrando a ultraestrutura do espermatozóide de <i>O.obesa</i>	45
Figura 15: Dendograma da família Syrphidae.....	51

Sumário

Resumo8

Abstract9

Introdução10

 Morfologia12

 Morfologia das terminálias14

 Ultraestrutura do espermatozoide16

Justificativa18

Objetivos19

 Objetivos Específicos19

Material e Métodos20

 Preparo das genitálias22

 Preparo para Microscopia Eletrônica de Varredura22

 Preparo para Microscopia Confocal de Varredura a Laser23

 Preparo para Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)23

Resultados24

Morfologia da terminalia26

 Subfamília Syrphinae26

 Subfamília Microdontinae33

 Subfamília Eristalinae37

 Espermatozóide43

Discussão46

 Contribuições das técnicas para a conservação dos espécimes46

 Caracterização morfológica das terminálias48

 Ultraestrutura do espermatozóide53

Referências Bibliográficas57

Anexo66

Resumo

O estudo teve como objetivo caracterizar a morfologia das terminálias masculinas de moscas da família Syrphidae; trata-se de um grupo que apresenta grande diversidade e importância ecológica, pois além de serem polinizadoras são também indicadores ambientais e de degradação. O grupo apresenta desafios na identificação de suas espécies devido à variabilidade morfológica, em razão disso, as terminálias masculinas, estruturas genitais dos machos, são frequentemente utilizadas em estudos taxonômicos e filogenéticos. Por meio da análise detalhada da morfologia das terminálias, utilizando as técnicas de microscopia eletrônica de varredura e transmissão, além da microscopia confocal, buscamos contribuir para o conhecimento taxonômico do grupo e fornecer dados para estudos comparativos. Além disso, investigamos a ultraestrutura do espermatozóide em espécimes preservados em álcool 70%, visando avaliar a viabilidade da utilização desse material para estudos morfológicos. Os resultados obtidos neste estudo mostraram uma grande diversidade morfológica das terminálias, com características ultraestruturais importantes, como presença de cerdas, tamanho e formato das estruturas; que diferem visivelmente entre as espécies de subfamílias diferentes. Ademais, a caracterização ultraestrutural do espermatozóide das espécies forneceu dados que contribuem para ampliar a base de dados morfológicos disponíveis sobre as espécies do grupo.

Palavras-Chave: Moscas, genitália masculina, Syrphinae, Microdontinae e Eristalinae.

Abstract

The study aimed to characterize the morphology of the male genitalia of flies in the Syrphidae family; this is a group that exhibits great diversity and ecological importance, as these flies are not only pollinators but also serve as environmental indicators and indicators of degradation. The group presents challenges in the identification of its species due to morphological variability; for this reason, male terminalia, the genital structures of males, are frequently used in taxonomic and phylogenetic studies. Through a detailed analysis of terminalia morphology, using scanning and transmission electron microscopy techniques, as well as confocal microscopy, we aim to contribute to the taxonomic understanding of the group and provide data for comparative studies. In addition, we investigated the ultrastructure of spermatozoa in specimens preserved in 70% alcohol, aiming to evaluate the feasibility of using this material for morphological studies. The results obtained in this study showed a high morphological diversity of the terminal structures, with important ultrastructural characteristics, such as the presence of bristles, and the size and shape of the structures; these differ visibly among species of different subfamilies. Furthermore, the ultrastructural characterization of the spermatozoa of the species provided data that contributes to expanding the available morphological database on the species of the group.

Keywords: flies, male genitalia, Syrphinae, Microdontinae and Eristalinae.

Introdução

A Ordem Diptera é representada por moscas e mosquitos e faz parte do grupo dos insetos holometábolos, sendo considerada a quarta ordem em diversidade de insetos no mundo, com cerca de 180.000 espécies descritas e 277 famílias (Bánki *et al.*, 2026). Desse total, mais de 31.000 espécies são encontradas na região Neotropical, estando compreendidas em cerca de 119 famílias (Amorim *et al.*, 2002; Amorim, 2009; Carvalho *et al.*, 2024). As moscas são abundantes e sua diversidade é enorme, podendo ser encontradas em habitats variados e com hábitos alimentares e necessidade de recursos diversificados (Skevington & Dang, 2002). Atualmente, estima-se que o número de espécies ainda não descritas seja maior, principalmente nas regiões Afrotropical e Neotropical (Brown *et al.*, 2005; Kirk-Spriggs, 2017), parte disso se deve à grande diversidade do grupo e ao reduzido número de taxonomistas para estudá-lo, como acontece no Brasil (Rafael *et al.*, 2009).

As moscas pertencem a subordem Brachycera, grupo monofilético extremamente bem-sucedido, tendo evoluído nos últimos 200 milhões de anos e se diversificado (Grimaldi & Engel, 2005). A diversificação não se restringe apenas a riqueza de espécies, mas também à variedade estrutural e de hábitos ecológicos com importância econômica, médico-veterinária, agrícola e ecológica (Kirk-Spriggs, 2017; Rice *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2024). Há evidências de sua associação com plantas desde o surgimento das primeiras espécies com flores, sendo consideradas um dos principais grupos de insetos polinizadores (Endress, 1994; Larson *et al.* 2001). A Infraordem Muscomorpha, contém aproximadamente 100.000 espécies, e representa a grande maioria das moscas de Brachycera (Liao *et al.*, 2026).

Dentre as inúmeras famílias de Diptera, Syrphidae é uma das mais abundantes e ricas, possui mais de 6.300 espécies, organizadas em mais de 200 gêneros e distribuídas

em todo o mundo (Thompson *et al.*, 2010; 2013; Skevington *et al.*, 2019; Montoya & Wolff, 2020). Desse total, a região Neotropical compreende cerca de 1.600 espécies conhecidas, divididas em 82 gêneros, e é considerada uma das regiões biogeográficas mais ricas para essa família (Reemer, 2014; Carvalho *et al.*, 2024). No Brasil, são conhecidas cerca de 606 espécies, organizadas em 79 gêneros (Morales & Marinoni, 2024), e estima-se que esse número possa chegar próximo a 2 mil espécies, embora a maior parte permaneça desconhecida (Marinoni & Thompson, 2003).

Os sirfídeos são alocados em quatro subfamílias: Syrphinae, Microdontinae, Eristalinae (também conhecida por Milesiinae) e Pipizinae (Mengual *et al.*, 2015; Skevington *et al.*, 2019; Montoya & Wolff, 2020).

Essas moscas são conhecidas por prestarem importantes serviços ecossistêmicos, como polinizadoras (Golding & Edmunds, 2000; Feldman, 2006; Jauker & Wolters, 2008; Rader *et al.*, 2009) e como indicadoras ambientais de poluição (Gilbert, 1993; Sommaggio, 1999; Marshall, 2012). Dada tamanha relevância como polinizadoras de culturas agrícolas, já existem projetos de proteção na Europa, que visam protegê-las, junto as abelhas (Vujić, *et al.*, 2022; Reverté *et al.*, 2023 e Mazánek *et al.*, 2025). Além da importância ecológica, algumas espécies de sirfídeos também possuem importância para a saúde pública, pois, podem causar miíases (Aguilera *et al.*, 1999); e quando estão associadas a ambientes poluídos, podem atuar como veiculadoras mecânicas de patógenos (Frankuski *et al.*, 2011).

A maioria dos sirfídeos adultos são visitantes florais e se alimentam de néctar e pólen (Schneider, 1969; Rojo *et al.*, 2003). As larvas, por sua vez, possuem hábitos alimentares mais diversos e se desenvolvem em diferentes microhabitats (Speight, 2018; Rotheray, 2019), podendo ser: i) saprófagas, como em *Callicera* (Panzer, 1809), *Milesia* (Latreille, 1804), *Spilomya* (Meigen, 1803), *Criorhina* (Meigen, 1822), *Blera* (Billberg,

1820) e *Mallota* (Meigen, 1822) (Sommaggio, 1999); ii) fitófagas, como em *Merodon* (Meigen, 1803), *Eumerus* (Meigen, 1822), *Portevinia* (Goffe, 1944) e muitos *Cheilisia* (Meigen, 1822) (Sommaggio, 1999); iii) micófagas, como em algumas espécies de *Cheilisia* (Meigen, 1822) (Sommaggio, 1999); iv) mirmecófaga, como em algumas espécies de *Microdon* (Meigen, 1803) (Schönrogge *et al.*, 2002); v) parasitóides, como em algumas espécies de *Hypselosyrphus* (Hull, 1937) (Pérez-Lachaud *et al.*, 2014); e vi) predadoras, onde geralmente se alimentam de pulgões ou insetos sugadores de seivas de plantas, como as espécies de *Toxomerus* e *Allograpta* (Smith & Chaney, 2007; Marshall, 2012).

No contexto da identificação e taxonomia dos insetos, várias espécies de Syrphidae tem sido um grande desafio para os pesquisadores, pois além de serem um grupo diverso (Bánki *et al.*, 2026), possuem ampla variação morfológica, sendo alguns táxons representados por espécies robustas e grandes e outras delicadas e pequenas, como *Toxomerus* (Macquart, 1855) e *Ocyrtamus* (Macquart, 1834). Já no contexto filogenético, no que diz respeito às subfamílias, Microdontinae, Pipizinae e Syrphinae são consideradas grupos monofiléticos, sendo Eristalinae a exceção (Morales & Marinoni, 2009; Mengual *et al.*; 2015 e 2022; Wu *et al.*, 2025).

Morfologia

As moscas da família Syrphidae são conhecidas como moscas das flores (flower flies) ou moscas que pairam (hover flies) devido ao comportamento de voo de algumas espécies. O comprimento do corpo varia entre 4 e 25 mm e sua coloração é usualmente negra, amarela, verde metálica ou azul (Vockeroth & Thompson, 1987). Várias espécies de Syrphidae são excelentes miméticos de vespas e abelhas devido seus padrões de

coloração, forma e comportamentos de voo (Gilbert, 2005; Reemer, 2013; Polidori *et al.*, 2014).

Em Syrphidae há grande variação morfológica nas espécies, em geral, apresentam cabeças grandes, antenas curtas e olhos usualmente holópticos nos machos (Fig.1B) (Skevington *et al.*, 2019). Algumas características como a modificação dos segmentos terminais do macho em terminália, começando no segmento 5 ao invés do 6; na asa a presença da veia espúria, entre as veias R e M, podem auxiliar na identificação, já que, são características presente na maioria das espécies (Fig. 1A) (Vockeroth & Thompson, 1987; Skevington *et al.*, 2019). Contudo, a veia espúria pode se apresentar assemelhando-se a uma dobra na asa, como em *Ornidia* (Lepelletier & Serville, 1828) e *Graptomyza* (Weidemann, 1820) (Ssymank *et al.*, 2021). O abdômen é variável quanto à forma, podendo ser peciolado ou oval. Além disso, muitas espécies exibem desenhos característicos que permitem sua identificação, como é o caso de *Toxomerus* sp. (Fig.1C).

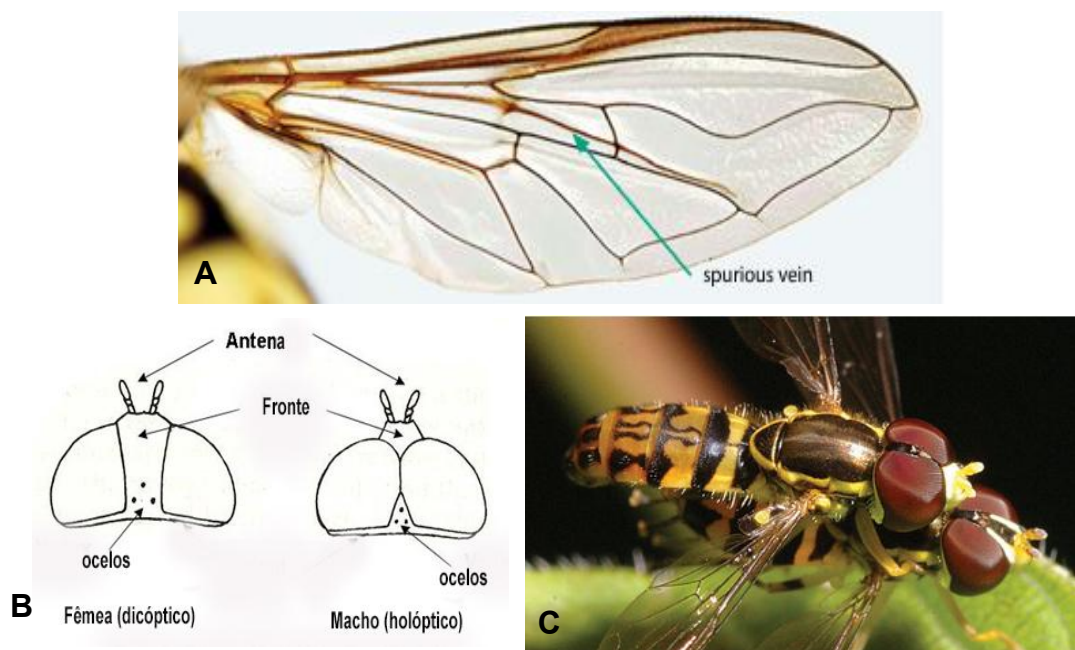


Figura 1: Características como a presença da veia espúria, diferença dos olhos entre machos (holópticos) e fêmeas (dicópticos) e desenhos do abdômen podem auxiliar na identificação de moscas da família Syrphidae. (A e C) adaptado de Skevington *et al.* 2019 e (B) adaptado de Duke (2007).

Morfologia das terminálias

Estudos comparativos de Diptera utilizando a morfologia das genitálias e a anatomia interna têm sido feitos há muito tempo, sendo os primeiros registros encontrados em publicações do século XIX. Segundo Sinclair e colaboradores (1994), as terminálias de machos em Diptera têm demonstrado grande diversidade e variabilidade, se comparada a outras estruturas do corpo do inseto.

Diversos trabalhos envolvendo moscas tem utilizado a terminália de machos como fonte para estudos não só morfológicos, mas também de desenvolvimento, evolução e comportamento, como é o caso do trabalho de Rice e colaboradores (2019) com *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830). A ideia de que a terminália de machos evoluiu muito rápido em comparação a outras partes do corpo é bem difundida, sendo frequentemente interpretado como resultado da ação da seleção sexual, que pode promover rápida divergência por meio de escolha de fêmeas, competição espermática ou mecanismos de isolamento reprodutivo (Buenaventura & Pape, 2018; Eberhard & Lehmann, 2019).

Assim como ocorre com outras espécies de mosca da Infraordem Muscomorpha, dentre elas as da família Syrphidae, as terminálias sofrem uma rotação de 360°, denominada circunversão, onde os segmentos 5 a 8 são girados em 180° e o segmento 9 em mais 180°, ficando o segmento 8 imediatamente atrás do segmento 9 (epândrio) (Vockeroth & Thompson, 1987; Sinclair, 2000) (Fig.2).

Segundo Cumming & Wood (2009) e Van Steenis (2023), a terminália em Diptera é formada por seis estruturas principais: 1) Epândrio, formado pelo tergito IX e que carrega um par de lobos ou sustilos; 2) Hipândrio: esternito IX fusionado com os gonocoxitos; 3) Pré e pós-gonito: par de lobos articulados na porção apical do hipândrio, lateral ao edeago; 4) Edeago: órgão copulatório intromitente e que junto com a bainha

parameral formam o falo, que pode se apresentar com um ou dois segmentos – basifalo ou distifalo; 5) Bainha parameral: parâmetros fusionados ou modificados, combinados com o edeago formam o falo e 6) Proctiger: todas as estruturas posteriores ao segmento IX, em machos de Syrphidae restritos aos cercos e ânus (Fig.2).

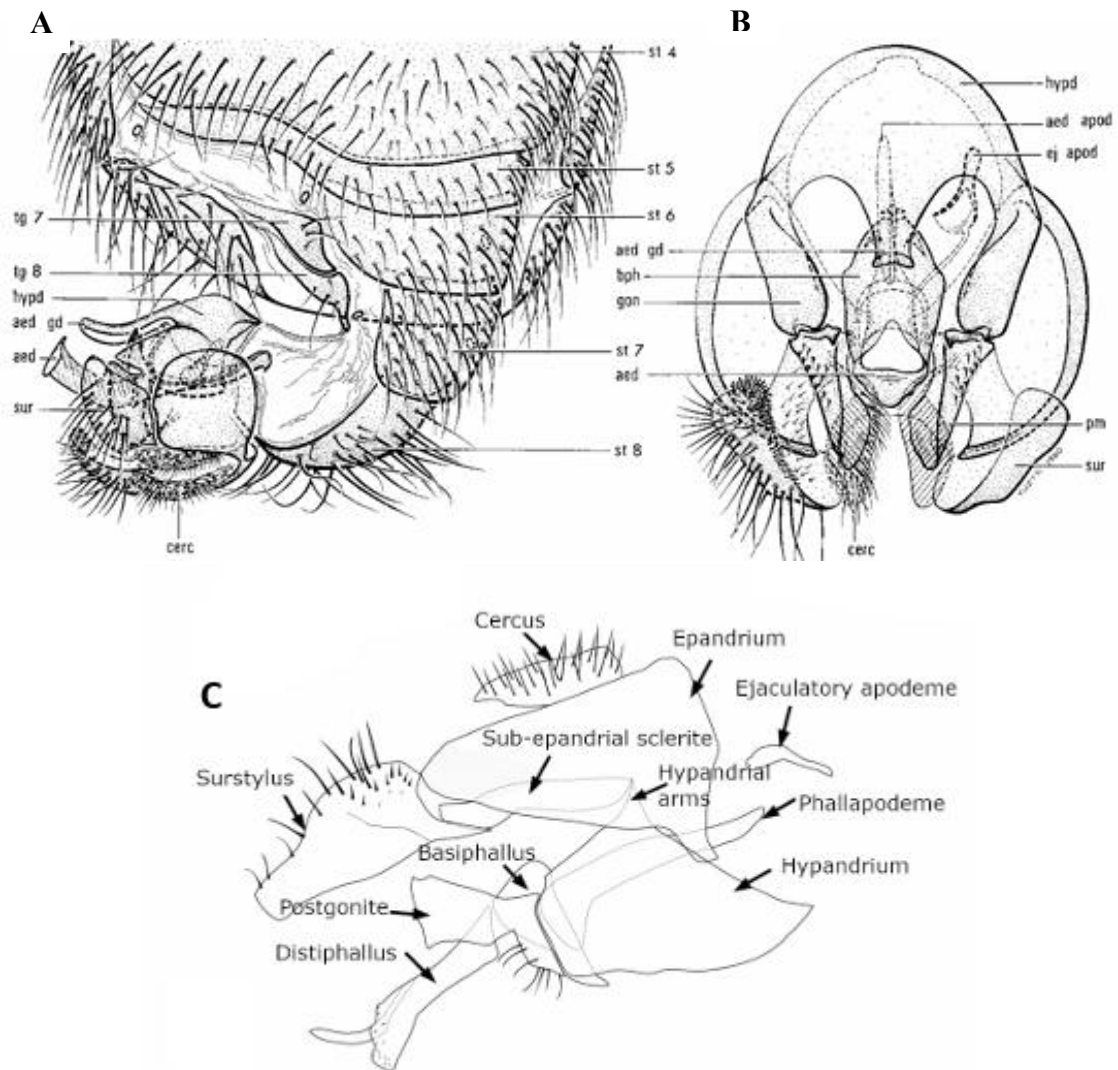


Figura 2: Abdômen e terminálias de macho da espécie *Syrphus ribesii* (A-B) e *Ocyrtamus gastroctatus* (C) (Syrphidae). Figuras A e C mostram a vista lateral e a figura B vista ventral da terminálias. Abreviaturas: aed: edeago; aed apod: apódema do edeago; bph: basifalo; cerc: cercos; epand: epândrio; hypd: hipândrio; st: esternito; sur: surstilo e tg: tergito. (Fonte: McAlpine, 1981 e Van Steenis *et al.*, 2023)

Ultraestrutura do espermatozoide

O estudo sobre a ultraestrutura de espermatozoides é considerada importante, já que, a diversidade da morfologia espermática, pode fornecer dados a respeito do caminho evolutivo de espécies (Higginson, 2011; Rezende *et al.*, 2024) e potenciais mecanismos relacionados a variabilidade na fertilização e reprodução das espécies (Malawey *et al.*, 2019). Em estudos que propuseram analisar a ultraestrutura do espermatozoide de insetos, foi possível descrever os caracteres que o compõem, tais como, núcleo, acrossoma, derivados mitocondriais, adjunto do centríolo e axonema; onde a descrição precisa e detalhada de tais estruturas é capaz de evidenciar as diferenças morfológicas existente entre as espécies (Name *et al.*, 2010; Gracielle *et al.*, 2016; Mercati *et al.*, 2023).

Quando dados dos caracteres morfológicos dos espermatozoides são analisados em conjunto com outras informações, como dados moleculares ou morfologia externa, os resultados se tornam mais consistentes, robustos e confiáveis, melhorando o entendimento sobre as relações filogenéticas existentes (Gottardo *et al.*, 2016; Tavares-Bastos *et al.*, 2024).

A ultraestrutura do espermatozoide em Diptera, tende a apresentar enorme heterogeneidade, se comparada a outras ordens de inseto, como Lepidoptera e Coleoptera. Tal diversidade pode ser encontrada principalmente na variação dos adjuntos do centríolo, nas assimetrias e organização dos derivados mitocondriais e nas modificações na estrutura do flagelo, enquanto em outras ordens a estrutura básica do espermatozoide tende a ser mais conservada (Jamieson, 1987; Jamieson *et al.*, 1999).

Em Diptera, a ultraestrutura de espermatozoides de nematóceros foi mais bem estudada do que dos braquíceros (Name *et al.*, 2010). Nas espécies de braquíceros estudadas, a ultraestrutura do espermatozoide segue o mesmo padrão morfológico, com

a presença de um acrossoma apical, núcleo com cromatina compactada, derivados mitocondriais apresentando região paracristalina em seu interior e axonema com o padrão 9+9+2 (Jamieson, 1987; Jamieson *et al.*, 1999) (Fig.3).

Dessa forma, é possível perceber que o estudo da morfologia tanto das terminálias quanta da ultraestrutura do espermatozóide são importantes para complementar o conhecimento existente acerca das espécies de Diptera.

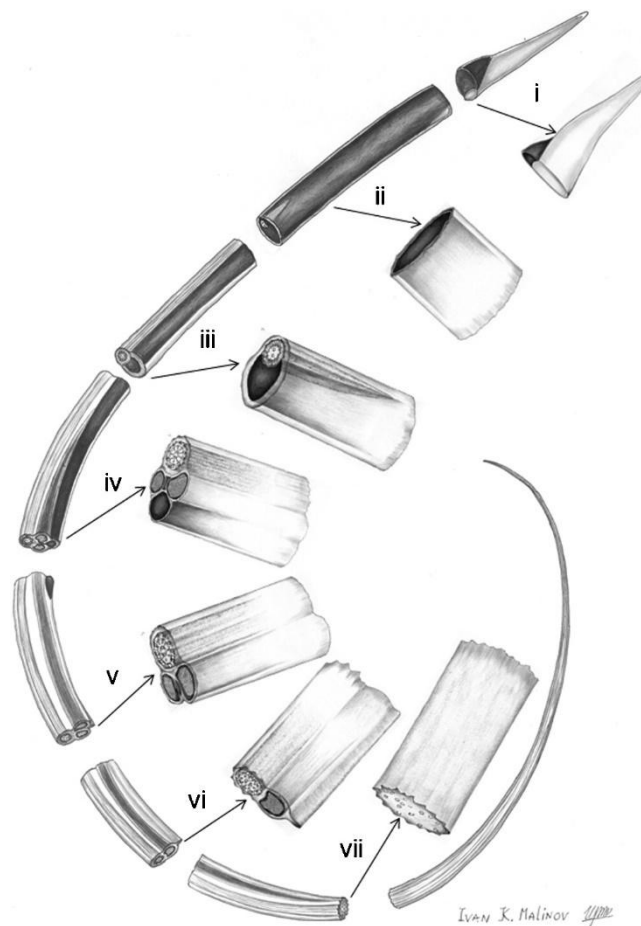


Figura 3: Desenho esquemático representando a morfologia do espermatozóide de *Cryomya megacephala* (Calliphoridae) comumente encontrada em Diptera. Em i: acrossoma, ii: núcleo, iii: transição núcleo-flagelo, iv: adjunto do centríolo, v: axonema e derivados mitocondriais, vi: final da cauda axonema e derivado mitocondrial (Fonte: Name *et al.*, 2010).

Justificativa

A morfologia da terminália de machos é uma fonte de caracteres para se distinguir espécies na maioria das famílias de Diptera, contudo, há poucos estudos taxonômicos modernos que incluam ilustrações dessa estrutura para ajudar no diagnóstico dessas espécies.

Na literatura, embora existam descrições da terminália masculina de sirfídeos (*e.g.* Nagatomi & Iwata, 1976; Nagatomi, 1984; Sinclair *et al.*, 1994), nenhuma delas se propôs a comparar a morfologia entre as espécies/grupos. Nessa perspectiva, há a necessidade de ampliar as descrições morfológicas das terminálias de mais espécies de Syrphidae, de forma a explorar a ultraestrutura e aprimorar os estudos sobre a família.

O uso de dados estruturais e ultraestruturais das terminálias masculinas apresentam-se como uma ferramenta que possibilita a ampliação do quantitativo de dados e informações, cobrindo assim as lacunas existentes na caracterização das terminálias masculinas de Diptera.

Apesar da diversidade e importância de Syrphidae, a identificação precisa das espécies ainda é um desafio. Em muitos casos é dependente do padrão de coloração nas asas, abdômen e tórax (Metz & Thompson, 2001; Borges & Couri, 2009), que em sua maioria, podem estar danificados ou perdidos por causa de métodos tradicionais de montagem e preservação. Além disso, a utilização de técnicas de microscopia por si só ou combinadas, embora bem estabelecidas, não são comumente utilizadas para o processamento de amostras entomológicas, especialmente sirfídeos (Harbach, 1984; Metz & Thompson, 2001; Mengual, 2011), que são em sua maioria descritas por meio de ilustrações e montadas com métodos tradicionais, tais como, secagem em estufas ou a temperatura ambiente.

A terminália dos machos é uma fonte de caracteres morfológicos usada para distinguir muitas espécies de moscas (Vockeroth and Thompson, 1987; Reemer, 2014). O trabalho de Sinclair e colaboradores (2013), trouxe uma representação detalhada das terminálias de várias famílias, utilizando a morfologia como base para sua abordagem evolutiva.

O estudo da ultraestrutura dos espermatozóides tem se mostrado importante, pois, devido a sua diversidade morfológica pode fornecer dados sobre o desenvolvimento evolutivo das espécies (Jamieson, 1987; Jamieson *et al.*, 1999, Higginson, 2011; Rezende *et al.*, 2024) e potenciais mecanismos associados a diversidade de processos de fertilização e reprodução (Melawey *et al.*, 2019). Além disso, pouco se conhece sobre a ultraestrutura do espermatozóide das espécies de Syrphidae.

Objetivos

Considerando a complexidade morfológica, as modificações estruturais, a falta de consenso sobre a classificação de algumas espécies e ainda o número reduzido de publicações, relacionadas ao grupo, nesse contexto, este trabalho tem por objetivo a caracterização morfológica das terminálias masculinas e da ultraestrutura do espermatozóide em representantes de três subfamílias de Syrphidae.

Assim, pretende-se, por meio da sua descrição e ilustração (micrografias e análise comparativa), ampliar os dados disponíveis e contribuir para um melhor entendimento da biologia e taxonomia deste grupo.

Objetivos Específicos

- Demonstrar como técnicas usadas no preparo de amostras para Microscopia Eletrônica podem contribuir para a preservação de espécimes de moscas da família Syrphidae.
- Demonstrar como as microscopias podem contribuir para a caracterização morfológica das terminálias de moscas da família Syrphidae.
- Aprimorar as informações morfológicas existentes das terminálias já descritas na literatura.
- Realizar descrição das estruturas e ultraestruturas que compõem as terminálias masculinas de algumas espécies da família Syrphidae e, a partir disso, comparar as diferenças entre os representantes das subfamílias Microdontinae, Eristalinae e Syrphinae (estudo da morfologia comparada);
- Realizar a descrição morfológica da ultraestrutura do espermatozóide e a descrição de seus componentes a partir de testículos e espermatecas de moscas armazenados em álcool 70%, por longos períodos.

Material e Métodos

Os espécimes foram coletados por meio de armadilhas de interceptação de voo do tipo Malaise. Representantes das subfamílias Syrphinae, Microdontinae e Eristalinae foram fornecidos pelo Laboratório de Insetos Necrófagos, da Universidade Federal de Goiás, coletados no Parque Nacional das Emas, Floresta Nacional de Silvânia, Reserva Particular de Desenvolvimento Sustentável Legado Verdes do Cerrado e área rural do município de Varjão. Todas as áreas no estado de Goiás. Outros ainda, foram fornecidos pelo Laboratório de Desenvolvimento e Metamorfose de Díptera – LADDI da Universidade de Brasília, provenientes de coletas realizadas na Fazenda Água Limpa, Taguatinga e Ceilândia, todas situadas no Distrito Federal. A identificação dos espécimes coletados foi realizada utilizando chave dicotômica (Metz & Thompson, 2001; Marinoni

et al., 2007; Borges & Couri, 2009) e consulta ao acervo da Coleção Entomológica da Universidade de Brasília – UnB. Os espécimes estavam armazenados em álcool 70%.

As espécies utilizadas nesse trabalho, os respectivos locais de coleta e o número de espécimes utilizados podem ser vistos na tabela 1.

Os espécimes utilizados para cada uma das técnicas só puderam ser utilizados uma única vez, pois é necessário o preparo adequado para cada uma das técnicas.

Tabela 1. Relação das espécies e seus locais de coleta.

Subfamília	Espécies	Local da coleta	Espécimes utilizados
Microdontinae			
	<i>S.rolanderi</i> (Reemer, 2008)	Parque Nacional das Emas	5
	<i>S.barretoii</i> (Carrera, Lopes & Lane, 1947)	Parque Nacional das Emas	3
	<i>P.nigrispinosus</i> (Shannon, 1927)	Varjão-GO	2
	<i>C.chrysidimima</i> (Hull, 1937)	Varjão-GO	2
Eristalinae			
	<i>C.chalybescens</i> (Wiedemann, 1830)	Varjão - GO	3
	<i>O.obesa</i> (Fabricius, 1775)	Varjão - GO, FAL-UnB, UnB	5
	<i>E.taeniops</i> (Wiedemann, 1818)	FAL-UnB, Taguatinga-DF	3
	<i>P.furcata</i> (Wiedemann, 1819)	FAL-UnB, Ceilândia-DF	3
	<i>P.vinetorum</i> (Fabricius, 1798)	FAL-UnB, Ceilândia-DF	3
	<i>P.scutellaris</i> (Fabricius, 1805)	FAL-UnB	3
Syrphinae			
	<i>T.lacrymosus</i> (Bigot, 1885)	Parque Nacional das Emas	5
	<i>T.politus</i> (Say, 1823)	Parque Nacional das Emas	5
	<i>T.dispar</i> (Fabricius, 1794)	FAL-UnB	2
	<i>T.laenas</i> (Walker, 1852)	FAL-UnB	2
	<i>T.watsoni</i> (Curran, 1930)	FAL-UnB	2
	<i>D.clavata</i> (Fabricius, 1794)	Floresta Nacional Silvânia, Varjão-GO, RPDS	5
	<i>Ocyptamus</i> (Macquart, 1834) sp.	Floresta Nacional Silvânia	2
	<i>Xanthandrus</i> (Verral, 1901) sp.	Floresta Nacional Silvânia	2

A terminologia adotada para a descrição dos caracteres morfológicos da genitália foi baseada nos trabalhos de Cumming & Wood (2017) e Van Steenis e colaboradores (2023). As moscas foram fotografadas utilizando uma câmera Canon EOS Rebel T7, lente Canon EF 100 mm macro. As imagens foram tratadas utilizando o software Darktable versão 4.4.2. O focus stacking foi feito no Helicon Focus 8.0.2.

Preparo das genitálias

Para o estudo das terminálias de machos de Syrphidae, os abdomens foram removidos e diafanizados em solução de KOH a 10% por aproximadamente 24 h. Após o processo de diafanização, as peças foram neutralizadas em solução de ácido acético 10%, posteriormente lavadas em água destilada e armazenadas em microtubos contendo álcool 70%. Para observação prévia das estruturas, as peças foram montadas em lâminas escavadas temporárias com glicerol.

Preparo para Microscopia Eletrônica de Varredura

As genitálias dos machos foram fixadas em solução Karnovsky (glutaraldeído 2%, paraformaldeído 2%, 5 mM CaCl₂ e sacarose 3% em tampão cacodilato de sódio 0,1M), pH 7,2 a 4°C por aproximadamente 12 h. Pós-fixados por 1 h em tetróxido de ósmio 1%, em seguida foram desidratados em séries crescentes de acetona (30, 50, 70, 90, 100%) por 15 minutos cada. As amostras foram secas no equipamento de secagem ao ponto crítico (Balzers - CPD 030) e metalizadas com ouro (equipamento: Leica - EM SCD 500). As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura marca Jeol, modelo JSM-7001F a 15Kv.

As imagens de todas as espécies foram coloridas artificialmente, respeitando um padrão de coloração para cada estrutura, da seguinte forma: surstilo (azul), cercos (verde),

epândrio (rosa), processo pós anal (vermelho), pós-gonito (amarelo), hipândrio (azul claro), edeago (laranja).

Preparo para Microscopia Confocal de Varredura a Laser

As genitálias dos machos foram montadas em lâminas de vidro com glicerol e lamínula e analisadas no Microscópio Confocal de Varredura a Laser, marca Leica, modelo TCS SP5, equipado com lasers com os seguintes comprimentos de onda: 408, 488 e 594. O sinal da autofluorescência foi captado em 3 canais PMT com as seguintes janelas: azul (410-470), verde (500-545) e vermelho (600-720). As estruturas foram analisadas usando a objetiva x10 com lente seca (NA 0,3). Imagens sequenciais foram obtidas utilizando o Z-stack e posteriormente visualizadas recorrendo-se a projeção 3D. A metodologia adotada foi baseada nos trabalhos de Chetverikov (2013) e Grzywacz e colaboradores (2014).

Preparo para Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Os testículos de machos e espermatecas de fêmeas foram retirados de moscas previamente armazenadas em álcool 70% e fixados em solução Karnovsky (glutaraldeído 2%, paraformaldeído 2%, 5 mM CaCl₂ e sacarose 3% em tampão cacodilato de sódio 0,1M), pH 7,2 a 4°C por aproximadamente 12 h. Pós-fixados por 1 h em tetróxido de ósmio 2%, ferricianeto de potássio 1,6% em tampão cacodilato de sódio 0,2 M, em seguida foi feita a contrastação *in block* em solução aquosa de acetato de uranila 0,5% por 12 h, desidratados em série de acetona (30, 50, 70, 90, 100%) e embebidos em resina Spurr. Os cortes ultrafinos foram feitos em ultramicrótomo marca Leica, modelo EM UC7, contrastados em acetato de uranila e citrato de chumbo, posteriormente examinados e fotografados em Microscópio Eletrônico de Transmissão marca Jeol, modelo JEM-1011 a 80 kV.

Resultados

As moscas secas em temperatura ambiente sofreram descoloração e seu tegumento colapsou, o que levou a uma aparência enrugada e alteração de vários caracteres morfológicos (Fig. 4 A-B). Os espécimes submetidos ao protocolo de MEV (desidratação e secagem por ponto crítico) mantiveram um alto grau de integridade morfológica, quando comparados aos espécimes secos em temperatura ambiente ou em estufas. As estruturas mais delicadas, como a cabeça, os olhos e o abdômen, não foram danificadas quando submetidas à secagem por ponto crítico; da mesma forma, a coloração original do espécime também foi mantida (Fig.5 A-H).

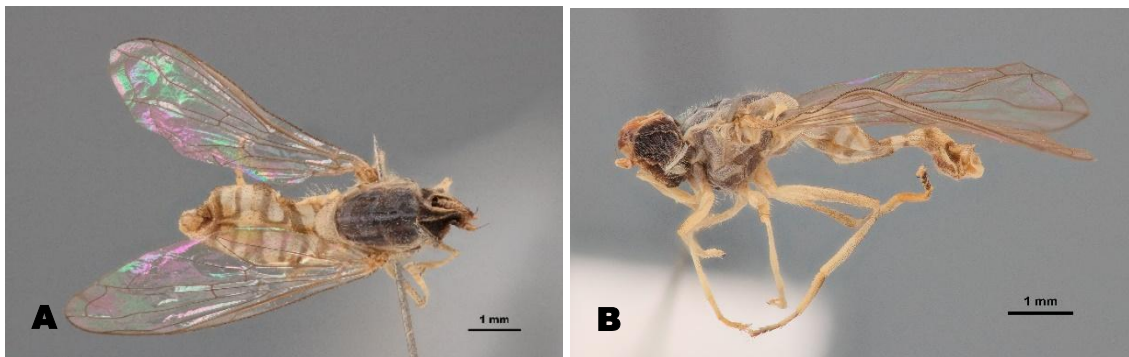


Figura 4: Moscas da espécie *T. politus*, submetidas ao processo de secagem tradicional, a temperatura ambiente. Em (A) fotografia com vista dorsal em (B) vista lateral.

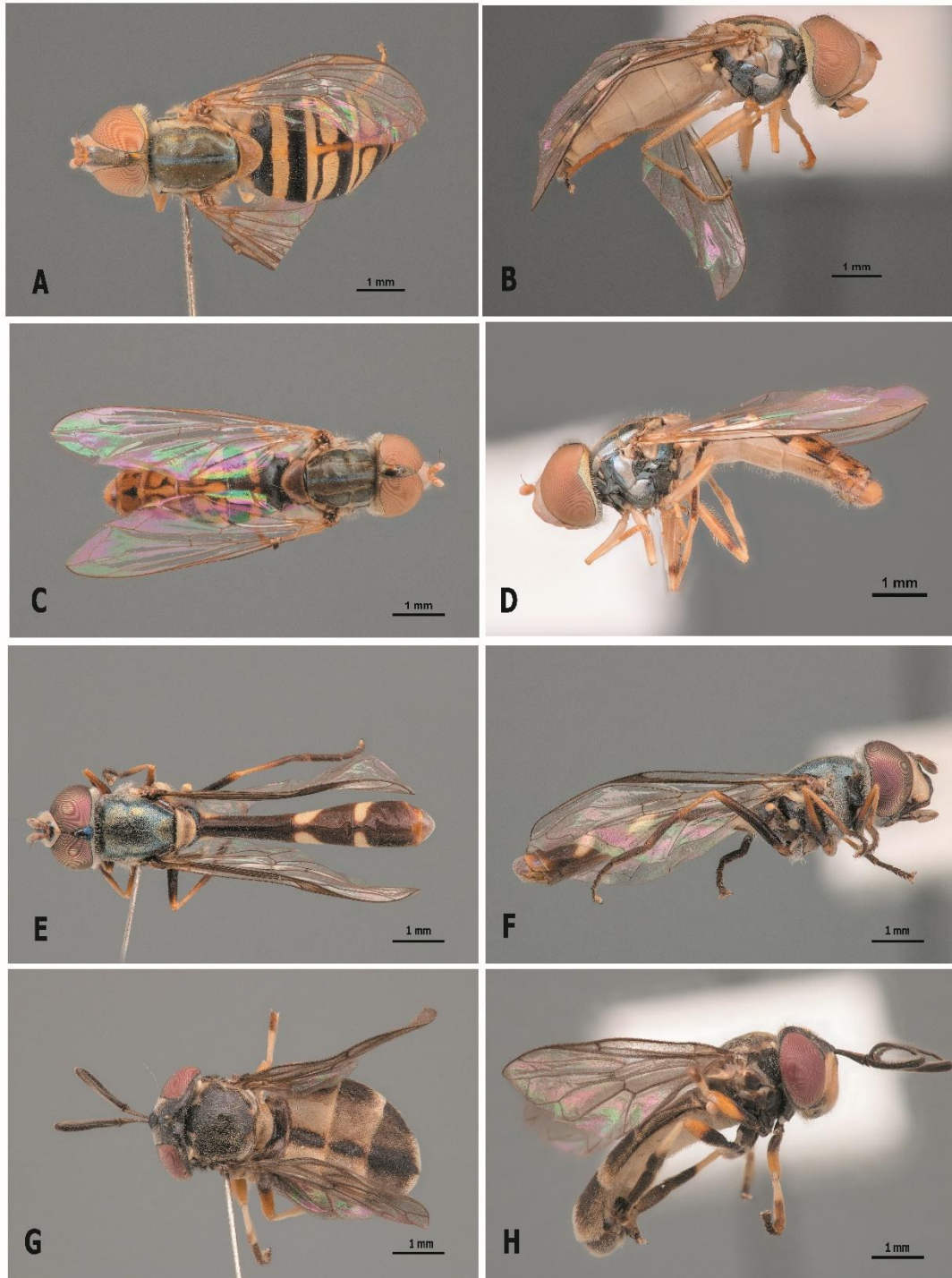


Figura 5: Moscas submetidas ao processo de secagem utilizando o equipamento ponto crítico. Em (A-B) *T. politus*, (C-D) *T. lacrymosus*, (E-F) *D. clavata* e (G-H) *S. rolanderi*. Em (A, C, E e G) fotografia com vista dorsal em (B, D, F e H) vista lateral. Todas as imagens apresentam escala de 1 mm.

Morfologia da terminalia

Subfamília Syrphinae

As terminálias de machos das espécies *Toxomerus lacrymosus* (Bigot, 1884), *Toxomerus politus* (Say, 1823), *Toxomerus dispar* (Fabricius, 1794), *Toxomerus watsoni* (Curran, 1930), *Toxomerus laenas* (Walker, 1852), *Dioprosopa clavata* (Fabricius, 1794), *Ocyptamus* (Macquart, 1834) sp. – grupo *cilindricus* e *Xanthandrus* (Verral, 1901) sp. pertencentes a subfamília Syrphinae foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura, o que possibilitou evidenciar os principais componentes da terminália e forneceu maior resolução e precisão para a caracterização de estruturas como cercos, surstilos, epândrio, entre outras, além da presença de ultraestruturas como cerdas e espinhos e sua distribuição. Seguem os resultados obtidos para cada espécie:

- *T. lacrymosus*: Em vista ventral do abdômen, é possível visualizar o processo pós-anal curto, sem a presença de cerdas. Sustilos ovais, contudo, mais largo na região apical do que na base, se comparados aos de *T. politus*. Apresentam cercos e surstilos com cerdas longas por toda a superfície. O epândrio, está posicionado lateralmente aos cercos, e edeago é visível na vista ventral do abdômen (Fig. 6A). Em vista lateral da genitália, pós-gonito, posicionado abaixo do surstilo, apresenta espinhos bem evidentes. Edeago largo e curto (Fig. 7A e Fig. 9A).
- *T. politus*: Em vista ventral do abdômen, surstilo oval, com cerdas longas espaçadas por toda a superfície. Pequenas cerdas na porção central. O processo pós anal (processo triangular ou post anal hood) se apresenta bem evidenciado, em formato triangular. Em sua extensão é possível visualizar uma fileira de cerdas em cada uma de suas laterais. Tem sua base junto ao epândrio, posicionando-se entre os surstilos (Fig. 6B). Os cercos são

densamente recobertos com cerdas curtas e longas, distribuídas ao longo de toda a estrutura. São circundados pelo epândrio, na vista ventral do abdômen, estrutura densamente recoberta por pequenas cerdas ao longo de toda sua superfície (Fig 6B). Em vista lateral da genitália, o pós-gonito está posicionado logo abaixo do surstilo e, apresenta grandes espinhos, distribuídos ao longo das regiões laterais. O edeago é largo (Fig. 7B e 12A). Na Figura 9B é possível visualizar o apódema do falo, logo após a inserção do edeago.

- *T. dispar*: Processo pós-anal evidente com seu ápice ficando atrás dos surstilos. Estes apresentam cerdas muito longas no ápice, cerdas curtas nas extremidades laterais e cerdas medianas ao longo de toda a superfície. São observados cercos ovais, recobertos por cerdas pequenas e medianas espalhadas ao longo de toda a superfície; são circundados pelo epândrio, que é recoberto de cerdas curtas por toda sua superfície. Edeago proeminente e visível na vista ventral do abdômen. (Fig. 6C).
- *T. watsoni*: Surstilos com cerdas curtas no centro e cerdas medianas distribuídos ao longo de toda a superfície. Processo pós-anal bem evidenciado e longo, quase do tamanho dos surstilos. Possui cerdas em toda superfície. Cercos ovais, recoberto por cerdas curtas e medianas distribuídos ao longo de toda superfície. Epândrio circundando os cercos, em vista ventral, pegando a base do processo pós-anal. Ainda em vista ventral, é possível visualizar as pontas dos espinhos do pós-gonito, atrás da porção apical dos surstilos e a porção apical do edeago (Fig. 6D).
- *T. laenas*: Surstilos ovais com a presença de cerdas muito longas ao longo de toda superfície, além de grande concentração de cerdas curtas na região

central. Processo pós-anal situado entre os surstilos, possui base larga, chegando à altura da porção medial dos surstilos, sendo todo recoberto por cerdas curtas. Observou-se que os cercos são ovais e recobertos de cerdas curtas e médias, distribuídas ao longo de toda superfície; são circundados pelo epândrio, que é recoberto por cerdas curtas. Na vista ventral do abdômen, é possível visualizar uma pequena porção do edeago, com aparência pontiaguda, situado atrás dos surstilos, logo acima do processo pós-anal (Fig. 6E). Na vista lateral da genitália, é possível visualizar o pós-gonito, situado abaixo dos surstilos, próximo ao edeago. O pós-gonito possui espinhos distribuídos por toda a sua extensão. Edeago constitui-se de uma estrutura larga com várias reentrâncias. Hipândrio encaixado logo abaixo do epândrio (Fig. 7C).

- *D. clavata*: Surstilos mais largos na base e na região medial, tornando-se mais pontiagudo na região apical. Cercos possuem formato semi-circular, mais largo na base e mais pontiagudo nas extremidades, contudo o ápice é mais delgado, em vista ventral do abdômen. Além disso, é todo recoberto por longas cerdas. Processo pós-anal não é aparente nessa espécie, sendo visível em vista ventral do abdômen, entre os surstilos, apenas o edeago (Fig. 6F). Em vista lateral e ventral da genitália, o pós-gonito não possui espinhos ao longo de sua superfície, apresentando em sua extremidade anterior apenas cerdas longas. Epândrio apresenta-se recoberto de cerdas curtas por toda sua extensão. Hipândrio não apresenta cerdas e se encaixa logo abaixo do epândrio. Edeago é longo, estendendo-se desde a altura dos surstilos até abaixo do hipândrio (Fig. 7D e Fig 12B). Na figura 9C é

possível visualizar, por transparência, que uma porção do edeago se dobra por trás do pós-gonito.

- *Ocyptamus* sp1. – Grupo Cilindricus: Em vista lateral, os surstilus apresentam cerdas medianas e esparsas, em toda a sua extensão; o seu ponto de encontro com o epândrio não é delimitado por uma sutura ou uma linha forte, o que passa a impressão, das duas estruturas, de serem uma forma única e contínua. Epândrio arredondado na porção mais proximal e mais fino e estreito na porção mais distal, próxima ao surstilo; recoberto em toda sua extensão por cerdas curtas. Cercos recobertos de cerdas longas e curtas ao longo de toda sua extensão, sendo circundado pelo epândrio. Hipândrio encaixado logo abaixo do epândrio, e junto a sua porção anterior está localizado o pós-gonito. Possui cerdas muito curtas em sua extremidade oposta ao epândrio. Pós-gonito aparenta ser uma estrutura retangular com cerdas esparsas em sua superfície. Não apresenta espinhos, somente cerdas longas na porção anterior. O edeago é longo e se dobra ao se encaixar entre os pós-gonitos. Apresenta uma região serrilhada na porção distal, logo abaixo do pós-gonito (Fig. 7E). Na figura 9D, indicado pelo (*) é possível visualizar o apódema do falo logo após a inserção do edeago.
- *Xanthandrus* sp1.: Assim como *Ocyptamus* sp., em vista lateral da genitália, apresenta surstilo alongado, situado a frente do epândrio, em sua porção distal. Possui poucas cerdas, algumas longas em suas extremidades laterais, e em sua porção central, cerdas curtas e esparsas. Também se apresenta recurvado para baixo. Cercos recoberto por cerdas muito longas e curtas por toda sua extensão. Estão localizados circundados pelo

epândrio. Epândrio, é mais arredondado na porção proximal e alongado na porção distal, onde se encontra com o surstilo, sendo recoberto por cerdas curtas na sua porção média. Hipândrio está localizado logo abaixo do epândrio, onde em sua porção distal se encontra com o pós-gonito. Também possui cerdas muito curtas em sua extremidade oposta ao epândrio. Pós-gonito é uma estrutura retangular que se alarga na sua porção distal, possui espinhos em sua base, próximo ao hipândrio. Edeago se localiza entre os pós-gonitos, é alongado e se dobra de modo a se encaixar por entre essas estruturas. Assim como *Ocyptamus* sp. possui uma região serrilhada, em sua região distal, próximo a abertura (Fig.7F).

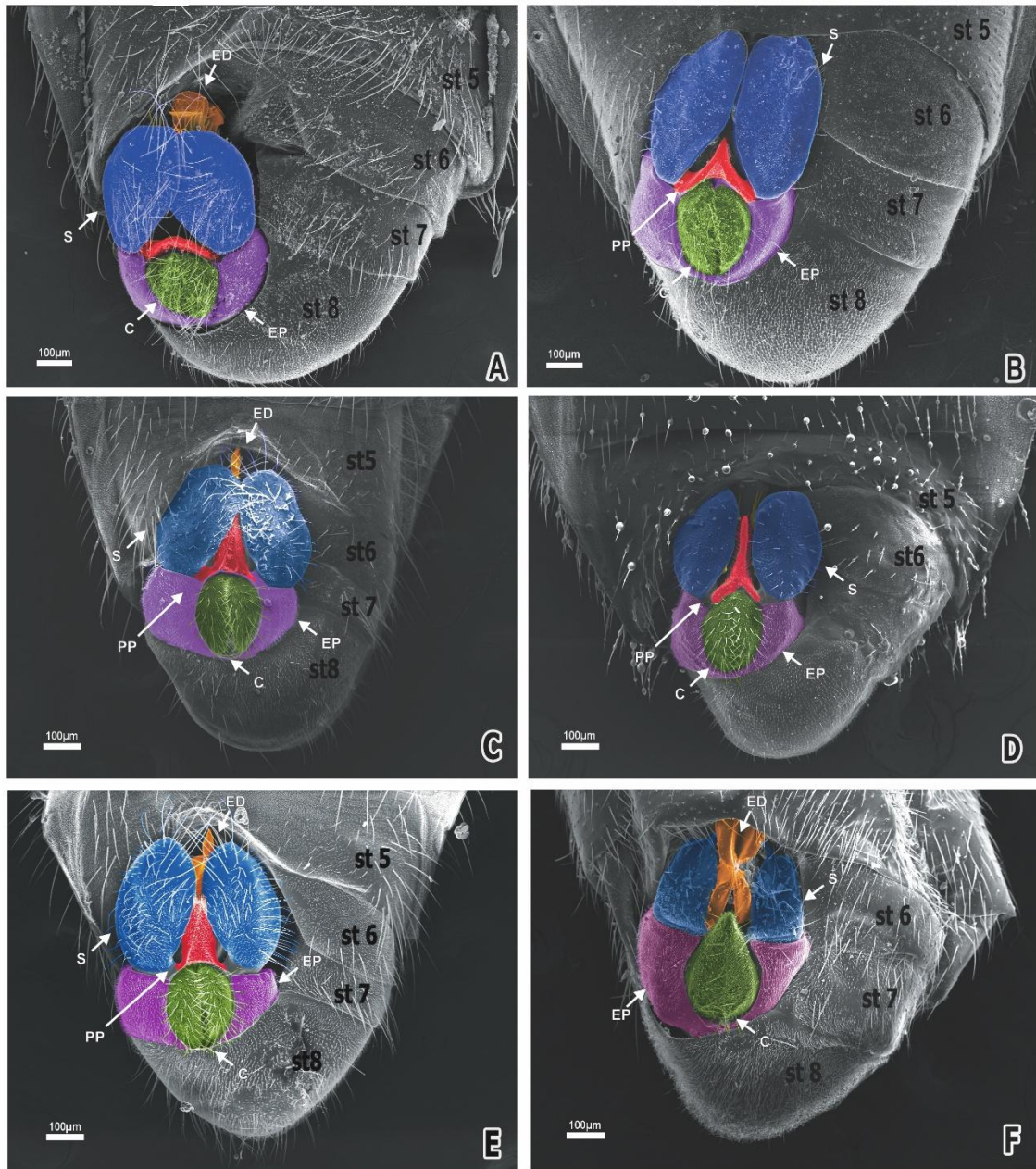


Figura 6: Vista ventral abdômen das terminálias das espécies da subfamília Syrphinae. Em (A) *T. lacrymosus*, (B) *T. politus*, (C) *T. dispar*, (D) *T. watsoni*, (E) *T. laenas* e (F) *D. clavata*. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Processo pós-anal (Vermelho), Epândrio (Lilás) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **st:** esternito, **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio, **PP:** processo pós-anal. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

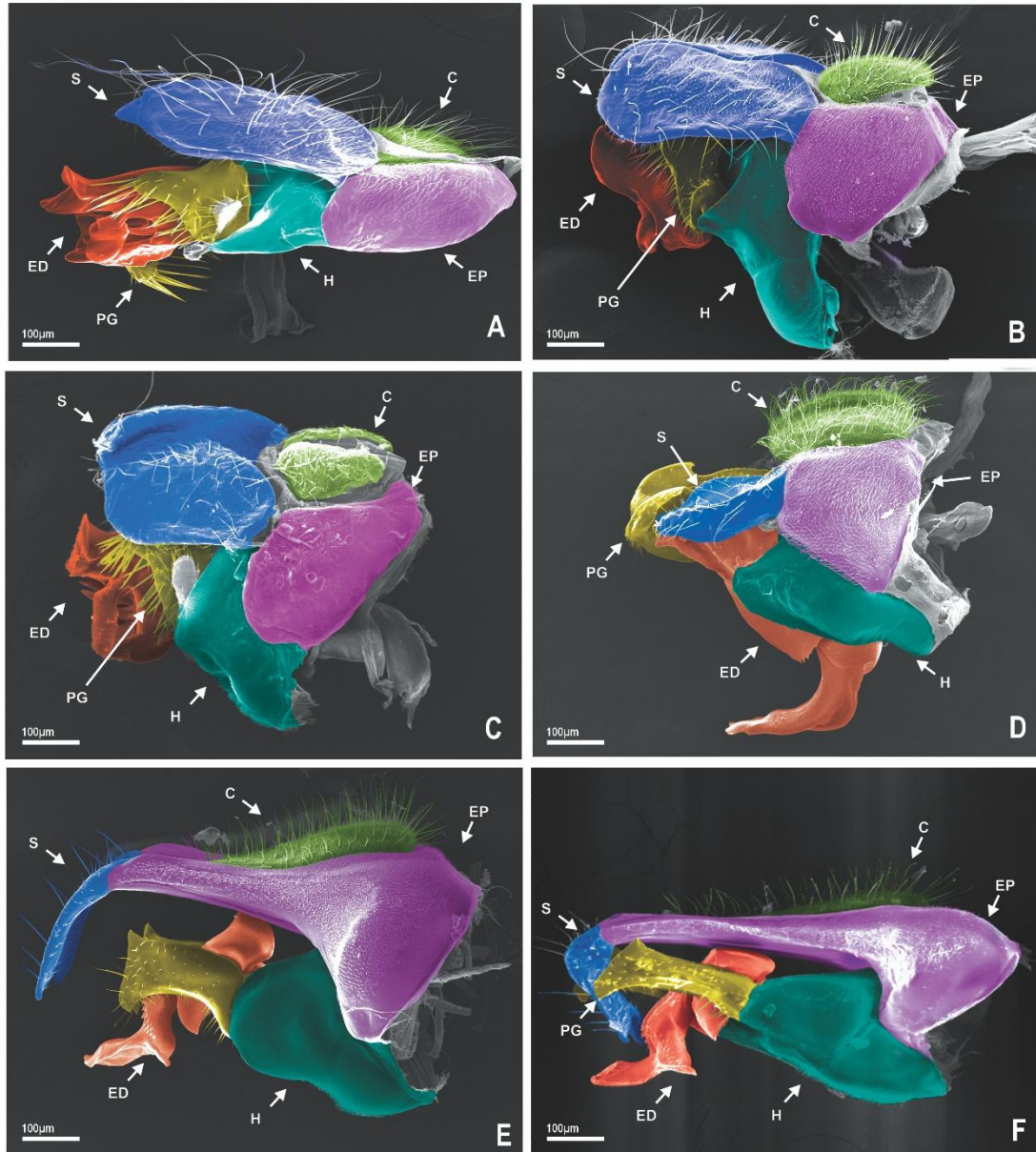


Figura 7: Vista lateral das terminálias das espécies da subfamília Syrphinae. Em (A) *T. lacrymosus*, (B) *T. politus*, (C) *T. laenas*, (D) *D. clavata*, (E) *Ocyptamus* sp1 e (F) *Xanthandrus* sp1. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás), Hipândrio (Azul claro), Pós-gonito (Amarelo) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio, **H:** hipândrio, **PG:** pós-gonito. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

Subfamília Microdontinae

As espécies analisadas foram *Surimya rolanderi* (Reemer, 2008), *Schizoceratomyia barretoii* (Carrera, Lopes & Lane, 1947), *Pseudomicrodon nigrispinosus* (Shannon, 1927), *Chrysidimyia chrysidimima* (Hull, 1937).

Segue a descrição da morfologia encontrada para cada espécie:

- *S. rolanderi*: Surstilos em formato de bastão recoberto de pequenos espinhos ao longo de toda sua superfície. Cercos retangulares com cerdas médias ao longo da superfície. Epândrio situado logo abaixo dos cercos, tendo os surstilos ligados na sua porção distal. Edeago longo e fino, bifurcado, iniciando na porção média. O ápice do edeago é arredondado (Fig. 8A e Fig. 12C). Na figura 9E é possível visualizar o apódema ejaculatório junto a base do edeago. Bifurcação do edeago se iniciando na porção medial (Fig. 9E). Em vista ventral da genitália, hipândrio recobre toda a base do edeago (Fig. 12C).
- *S. barretoii*: Em vista lateral da genitália, surstilo em formato de bastão alargando-se próximo a base, sendo recoberto de cerdas medianas ao longo de toda sua superfície. Cercos retangulares com densa pilosidade. As extremidades laterais dos cercos mais próximas dos surstilos apresentam cerdas longas em toda sua extensão. Cercos menores do que a extensão dos surstilos., situados junto ao epândrio na sua região distal. Epândrio com pouco pilosidade, apresentando cerdas curtas apenas na região próxima aos cercos. A ponta arredondada do edeago é possível de ser visualizada, logo abaixo do surstilo (Fig.8B). Na figura 9F é possível visualizar as estruturas por trás do epândrio. Em vista ventral da genitália, o edeago apresenta-se bem evidenciado, sendo possível notar sua bifurcação. Hipândrio posicionado logo abaixo do epândrio e do edeago (Fig. 12D).

- *P. nigrispinosus*: Em vista lateral da genitália, surstilo curto com espinhos curtos ao longo de toda sua extensão. Cercos logo acima dos surstilos, com superfície toda recoberta por cerdas curtas e cerdas muito longas distribuídas em sua superfície. Situados junto ao epândrio em sua porção distal. Epândrio recoberto de cerdas medianas em toda sua extensão. Hipândrio situado logo abaixo do epândrio e dos surstilos (Fig. 8C).
- *C. chrysidimima*: Em vista lateral da genitália, surstilos recobertos por espinhos e em formato de bastão, contudo, quando comparado com *S. barretoii*, são menores e a sua porção distal possui dimensões semelhantes ao dos cercos. Cercos recobertos por densa pilosidade, sendo em sua maioria cerdas curtas ou medianas. Junto aos cercos, em sua porção proximal, encontra-se o epândrio, estrutura arredondada e recoberta por cerdas em sua porção central. Abaixo do epândrio, destaca-se o hipândrio, estrutura grande que recobre a inserção do edeago. Edeago longilíneo e delgado, sendo maior que o tamanho dos surstilos (Fig. 8D).

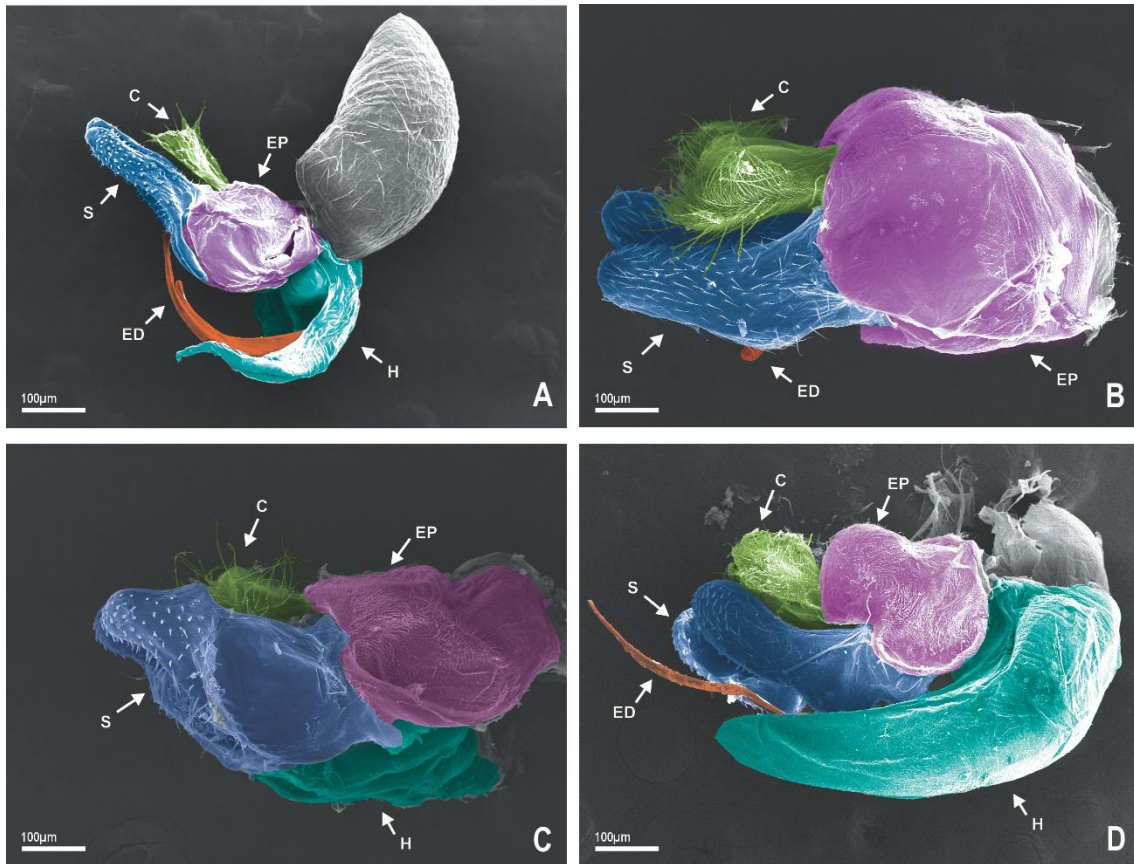


Figura 8: Vista lateral das terminálias das espécies da subfamília Microdontinae. Em (A) *S. rolanderi*, (B) *S. barretoii*, (C) *P. nigrispinosus* e (D) *C. chrysidimima*. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás), Hipândrio (Azul claro) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio, **H:** hipândrio. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

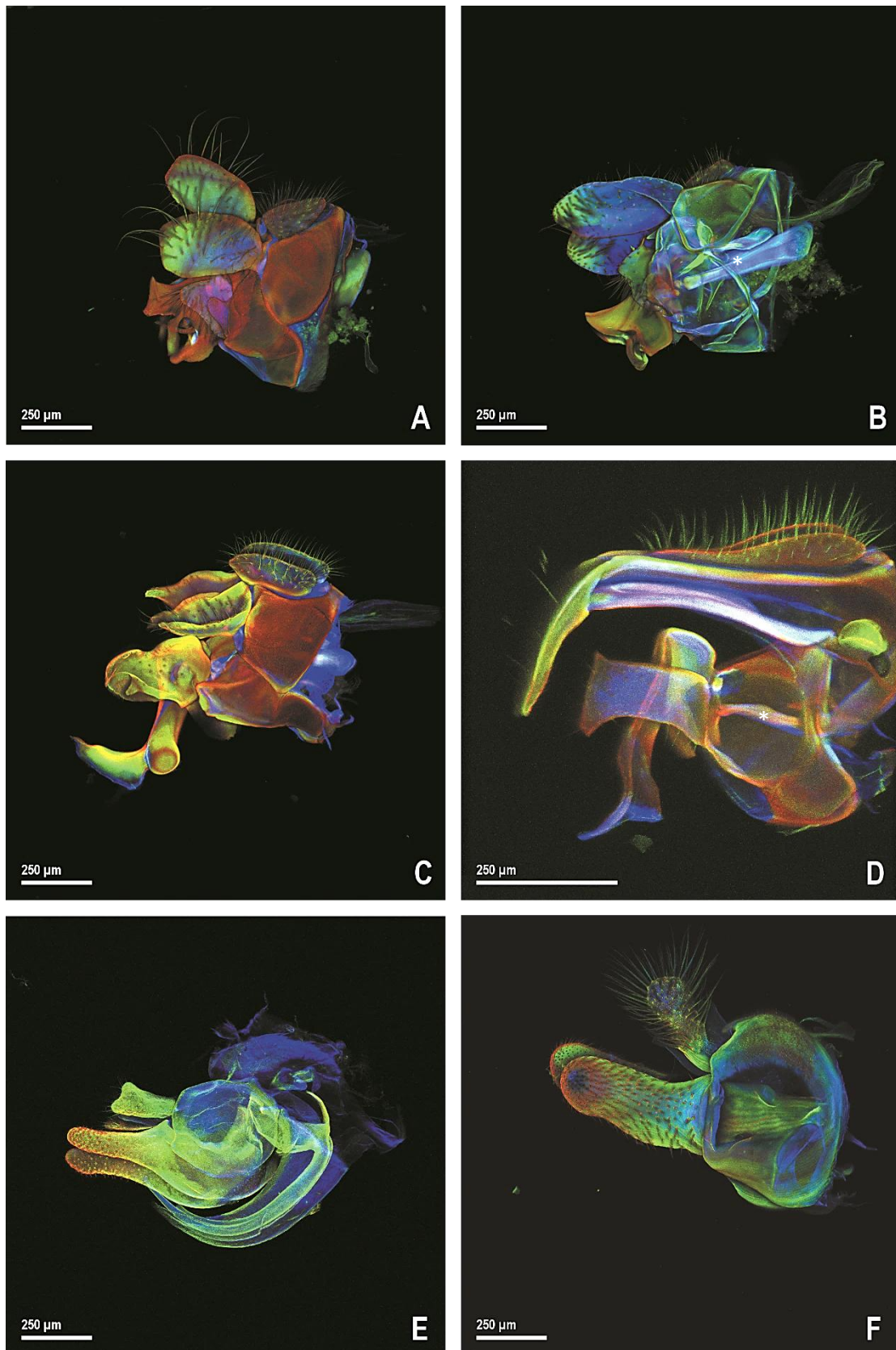


Figura 9: Vista lateral das genitálias visualizadas por microscopia confocal. É possível notar que a técnica produz um efeito translúcido no material, tornando possível a visualização de estruturas que estão atrás de outras. Subfamília Syrphinae: (A) *T. lacrymosus*, (B) *T. politus*, (C) *D. clavata* (D), *Ocyptamus* sp1; subfamília Microdontinae: (E) *S. rolanderi* e (F) *S. barretoii*. O * indica o apódema do falo. Todas as imagens possuem com escala de 250 µm.

Subfamília Eristalinae

As espécies analisadas, da subfamília Eristalinae, foram: *Copestylum chalybescens* (Wiedemann, 1830), *Ornidia obesa* (Fabricius, 1775), *Eristalinus taeniops* (Wiedemann, 1818), *Palpada furcata* (Wiedemann, 1819), *Palpada vinetorum* (Fabricius, 1798) e *Palpada scutellaris* (Fabricius, 1805).

A estrutura do pós-gonito parece ser fusionada ao hipândrio, formando uma estrutura única. Segue a descrição morfológica encontrada:

- *C. chalybescens*: em vista ventral do abdômen (Fig 10A), epândrio aparece evidenciado, com a presença dos cercos em sua porção central. Uma pequena parte dos surstilos é aparente. Cercos em formato oval, recobertos por cerdas longas. Em vista lateral, surstilos em formato arredondado, com cerdas longas em sua região distal. Epândrio situado junto a porção proximal do surstilo; possui cerdas curtas em toda sua extensão. Hipândrio situado logo abaixo do epândrio; não possui cerdas em sua extensão. Em sua porção mais distal, o hipândrio apresenta região mais afilada e curvada para baixo, em formato de gancho. Edeago largo, envolvido pelo hipândrio, com porção visível logo abaixo do mesmo (Fig.11A).
- *O. obesa*: Em vista ventral do abdômen, cercos rodeados pelo epândrio que é bem evidenciado. Entre os cercos é possível visualizar parte do edeago (Fig.10B). Em vista lateral, surstilo em formato de bastão, com pouca cobertura de cerdas, distribuídas ao longo da porção distal. Cercos com formato ovalado, posicionados acima do epândrio; eles possuem cerdas longas e curtas ao longo de toda sua extensão. Epândrio situado na porção proximal dos surstilos; ele possui cerdas curtas por toda sua extensão média até a base. Hipândrio situado logo abaixo do epândrio;

possui pequenos espinhos na região inferior, próxima ao edeago e uma depressão semicircular, com pequenos dígitos, em sua porção média inferior. Além disso, o hipândrio também apresenta um espinho único na margem superior da porção distal. Em sua porção mais proximal, é recoberta por cerdas muito curtas (Fig. 11B).

- *E. taeniops*: Em vista ventral do abdômen, surstilos aparentes e bem evidenciados; possuem cerdas muito longas e curtas recobrimdo toda sua extensão. Epândrio envolvendo os cercos. Cercos recobertos de cerdas curtas, contudo, em sua porção distal, apresenta cerdas longas (Fig.10C). Em vista lateral, o epândrio está situado junto aos cercos em sua porção proximal. Possui cerdas muito curtas em sua porção próxima aos cercos e aos surstilos. Surstilos situados logo abaixo dos cercos, se estendendo até a parte média da base do epândrio.; possuem cerdas curtas na região próxima ao epândrio e cerdas longas em sua região distal; apresenta espinhos em sua região interna (Fig.11C). Hipândrio sem cobertura de cerdas e apresentando dois pequenos ganchos em sua porção mais distal, próxima ao surstilo. Porção apical do edeago visível, em formato de dois tubos finos paralelos (Fig.11C) e em vista ventral da genitália, é possível visualizar que o edeago é envolto pelo hipândrio (Fig. 12E).
- *P. furcata*: Em vista ventral do abdômen, surstilos, cercos e epândrio em evidência. Cercos posicionados na porção central, com formato oval (Fig.10D). Em vista lateral, surstilos se estendendo da região anterior até a porção média abaixo do epândrio; possui cerdas muito longas em seu ápice, cerdas médias em sua porção distal. Não possui cerdas em sua porção central. Epândrio arredondado, coberto de cerdas muito curtas,

situado entre os cercos e os surstilos. Hipândrio situado logo abaixo do epândrio e dos surstilos, não possuindo cerdas em sua extensão. Edeago localizado entre as alças do hipândrio, com uma porção convexa dorsalmente a mostra (Fig.11D).

- *P. vinetorum*: Em vista ventral do abdômen, surstilos, epândrio e cercos evidenciados. Pequena porção do edeago é visível entre os cercos (Fig.10E). Em vista lateral da genitália, cercos posicionados acima do epândrio; possuem cerdas curtas e longas em toda sua extensão. Surstilos curtos e recurvados para baixo; recobertos por cerdas na sua porção proximal, junto ao epândrio; além disso, também possui cerdas muito longas na mesma região. Epândrio arredondado, recoberto de cerdas curtas por toda sua extensão. Hipândrio longo, com extremidade denteada em sua região distal, próximo aos surstilos, não possuindo cerdas em sua extensão; extremidade proximal rugosa e porção aparente do edeago convexa (Fig. 11E). Em vista ventral da genitália, edeago localizado entre as alças do hipândrio (Fig. 12E).
- *P. scutellaris*: Em vista ventral do abdômen, surstilos, epândrio, cercos e parte do hipândrio evidenciados. Cercos recobertos por cerdas muito curtas em toda sua extensão; em sua porção mais externa apresenta grande quantidade de cerdas muito longas. Entre os cercos é possível observar uma pequena porção do edeago (Fig 10F). Em vista lateral, da genitália, o surstilo apresenta uma forma mais arredondada; com a presença de cerdas muito curtas na região central e cerdas mais longas nas adjacências. Se estende até abaixo do epândrio, quase até a base hipândrio Cercos localizados acima dos surstilos e epândrio. Epândrio recoberto por cerdas

curtas em toda sua extensão. Hipândrio com a extremidade distal em formato de garra; apresenta pequenos espinhos. Parte do edeago visível localizado entre as alças do hipândrio (Fig.11F).

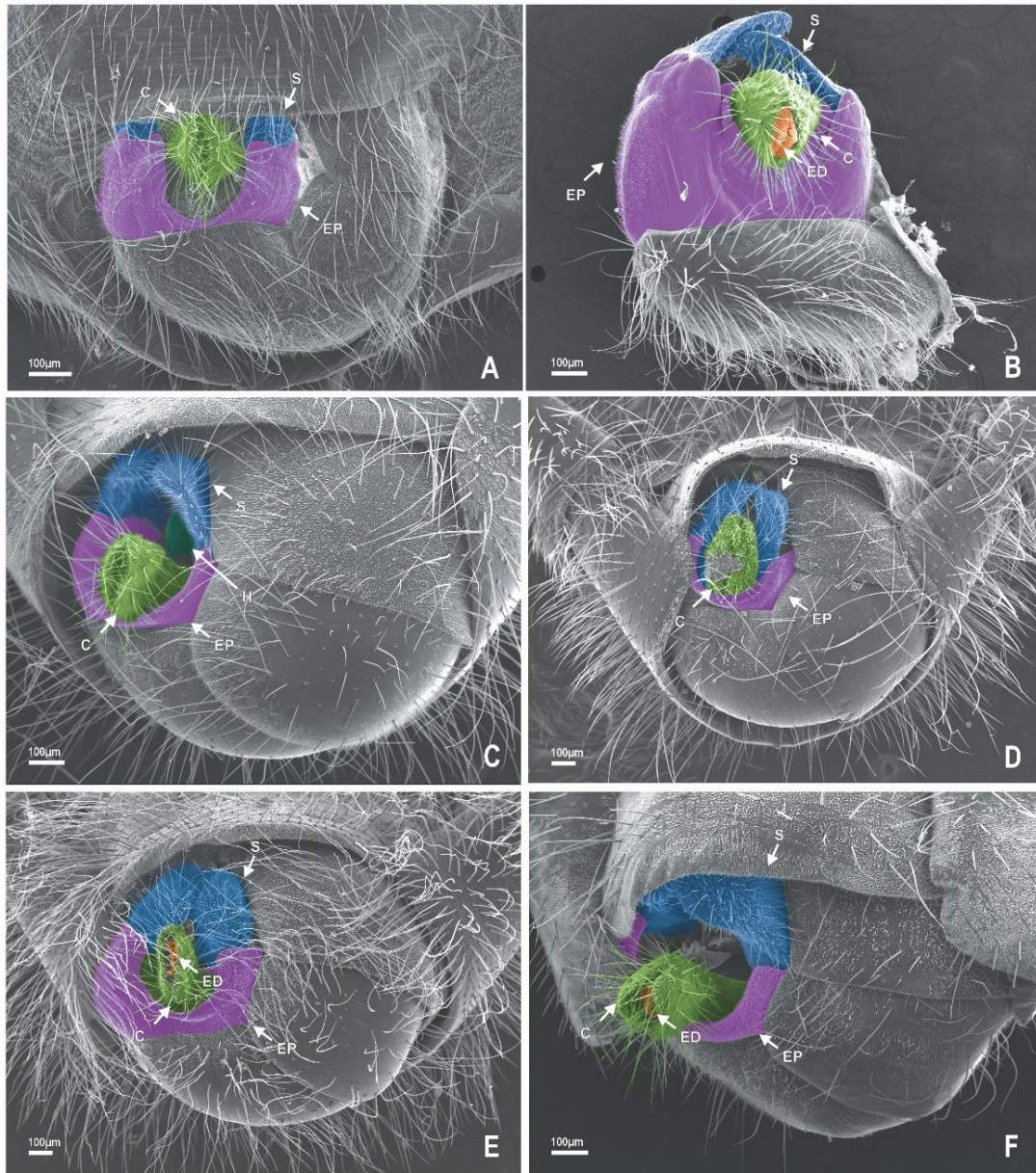


Figura 10: Vista ventral do abdômen evidenciando as terminálias das espécies da subfamília Eristalinae. Em (A) *C. chalybescens*, (B) *O. obesa*, (C) *E. taeniops*, (D) *P. furcata*, (E) *P. vinetorum* e (F) *P. scutellaris*. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

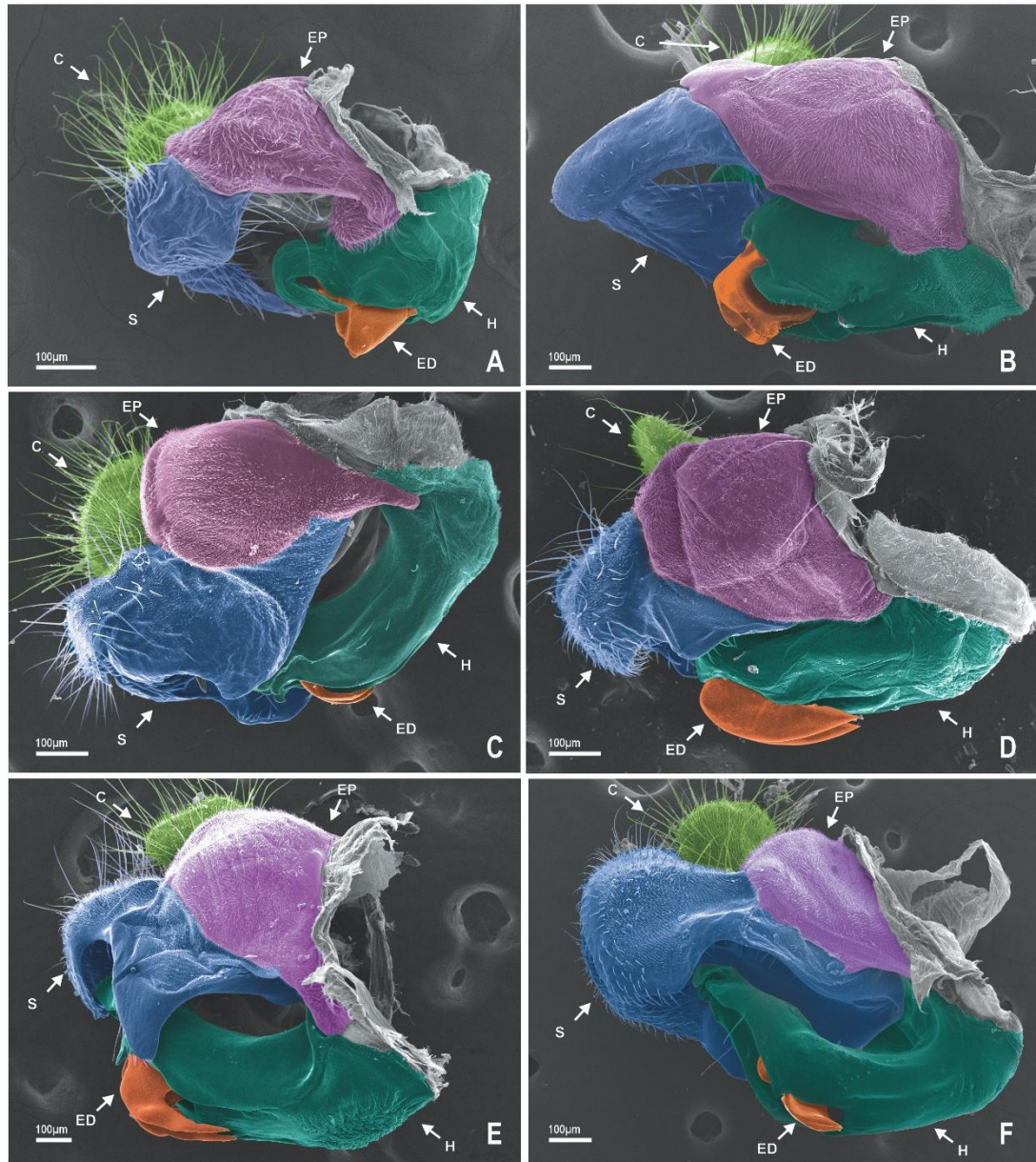


Figura 11: Vista lateral da genitália das espécies da subfamília Eristalinae. evidenciando as terminálias das espécies da subfamília Eristalinae. Em (A) *C. chalybescens*, (B) *O. obesa*, (C) *E. taeniops*, (D) *P. furcata*, (E) *P. vinetorum* e (F) *P. scutellaris*. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás), Hipândrio (Azul claro) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio, **H:** hipândrio. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

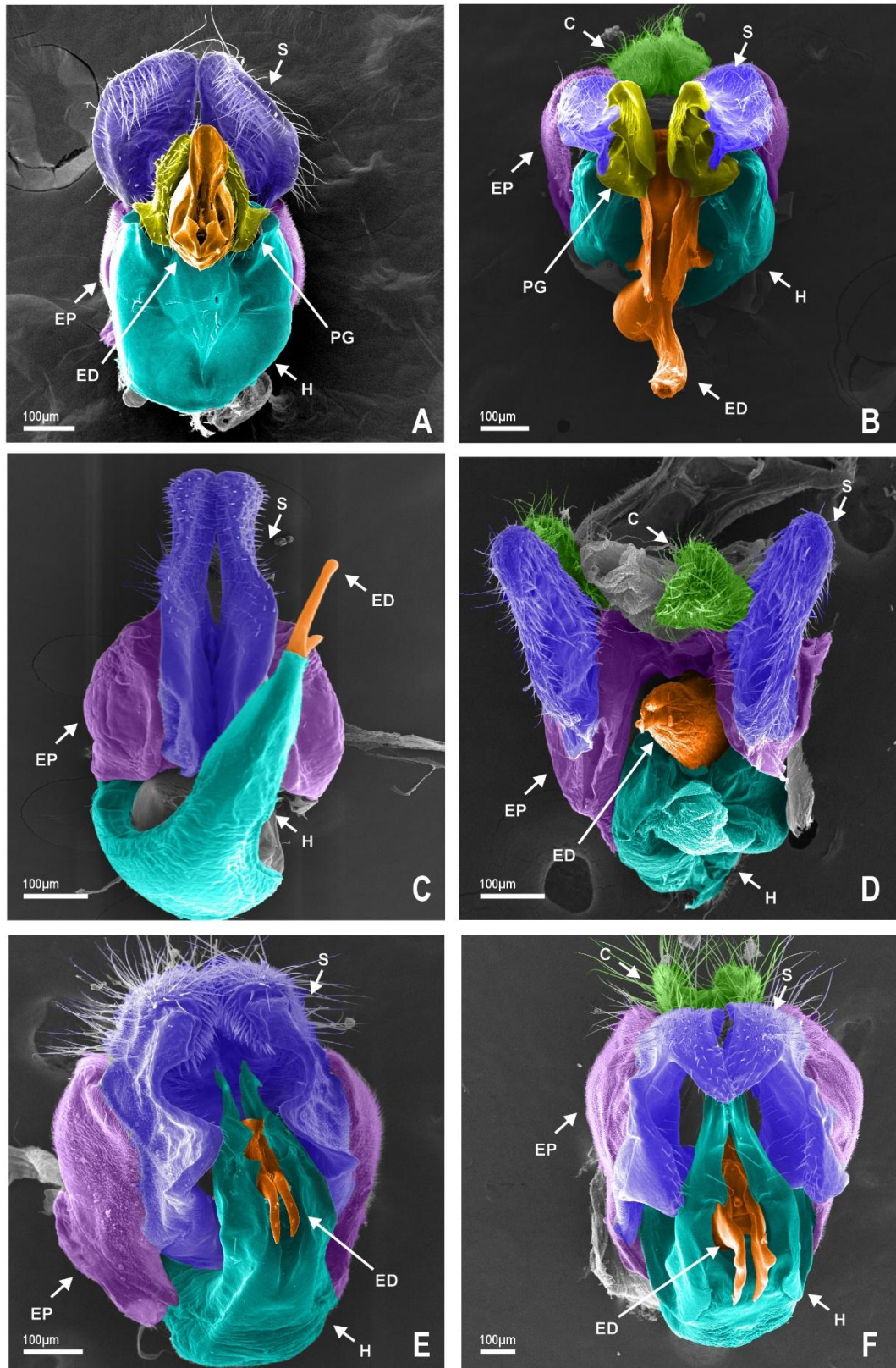


Figura 12: Vista ventral das terminálias de representantes das 3 subfamílias. Em (A) *T.lacrymosus* (B) *T.politus* – Syrphinae; (C) *S.rolanderi* e (D) *S.barretoii* – Microdontinae; (E) *P. vinetorum* e (F) *P. scutellaris* - Eristalinae. As estruturas estão indicadas pela coloração a seguir: Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás), Hipândrio (Azul claro) e Edeago (Laranja). Abreviatura: **S:** surstilo, **C:** cercos, **ED:** edeago, **EP:** epândrio, **H:** hipândrio, **PG:** pós-gonito. Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

Espermatozóide

Foi analisada a ultraestrutura dos espermatozoides das espécies: *T. lacrymosus*, *T. politus*, *D. clavata*, *S. barretoii*, *S. rolanderi* e *O. obesa*.

Embora as espécies analisadas tenham apresentado algum grau de degradação dos espermatozoides, ainda foi possível fazer uma descrição geral de estruturas como derivados mitocondriais e axonema, no que diz respeito a formato e tamanho. Para as espécies da subfamília Syrphinae (Fig 13 A-C) foi possível observar que os derivados mitocondriais de *T. lacrymosus* (Fig.13A) são diferentes dos apresentados por *T. politus* (Fig. 13B) sendo os últimos, com formato mais oval ou arredondado. Ambas as espécies apresentam material paracristalino no interior dos derivados mitocondriais e possuem derivados mitocondriais de tamanhos diferentes (um maior e outro menor). Foi possível observar ainda, que em *T. lacrymosus*, a inserção do adjunto do centríolo acontece paralela ao final do núcleo, na região de transição cabeça-cauda (Fig.13A). *D. clavata*, por sua vez, apresenta derivado mitocondrial maior com formato triangular e o derivado menor reduzido. É possível visualizar a inserção do adjunto do centríolo na região de transição cabeça-cauda. (Fig. 13C).

Já para a família Microndontinae, observou-se que *S. rolanderi* apresenta dois derivados mitocondriais em formato semi-circular, em corte transversal, os quais apresentam região paracristalina em seu interior. (Fig. 13D). Em *S. barretoii*, os derivados mitocondriais são ovais e possuem região paracristalina, contudo, possuem pontos próximo as bordas pouco elétron-densos (Fig. 13E). Em corte longitudinal, figura 13F, é possível visualizar que na região de transição cabeça-cauda, o núcleo localiza-se paralelamente ao axonema, e logo abaixo do núcleo se inicia o adjunto do centríolo.

A espécie *O. obesa*, representante da subfamília Eristalinae, apresenta núcleo com cromatina densamente condensada, com lacunas circulares menos elétron-densas (Fig.

14A - *). Na região de transição, foi possível observar o final do núcleo paralelo ao centríolo (Fig. 14C) e mais abaixo, que a porção final do núcleo também se apresenta paralela ao axonema e ao adjunto do centríolo (Fig. 14D). Os derivados mitocondriais possuem formato fusiforme, mais largos no meio e se estreitando nas extremidades. Possuem região paracristalina em seu interior (Fig. 14B).

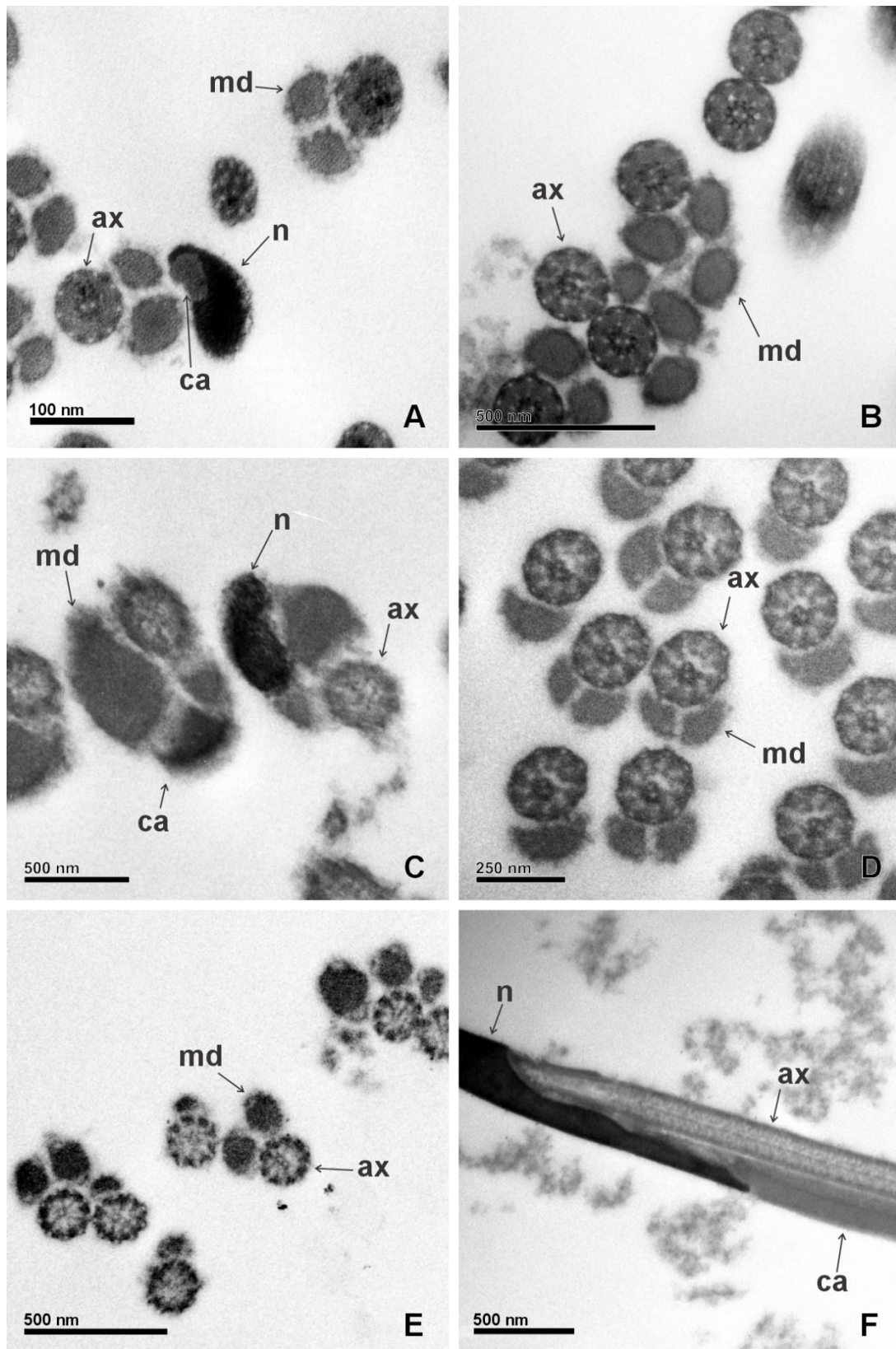


Figura 13: Micrografias eletrônicas de Transmissão mostrando a ultraestrutura do espermatozóide das moscas da família Syrphidae. Em (A) *T. lacrymosus*, (B) *T. politus*, (C) *D. clavata*, (D) *S. rolanderi* e (E-F) *S. barretoii*. Abreviações: ax: axonema; ca: adjunto do centríolo; md: derivado mitocondrial; n: núcleo.

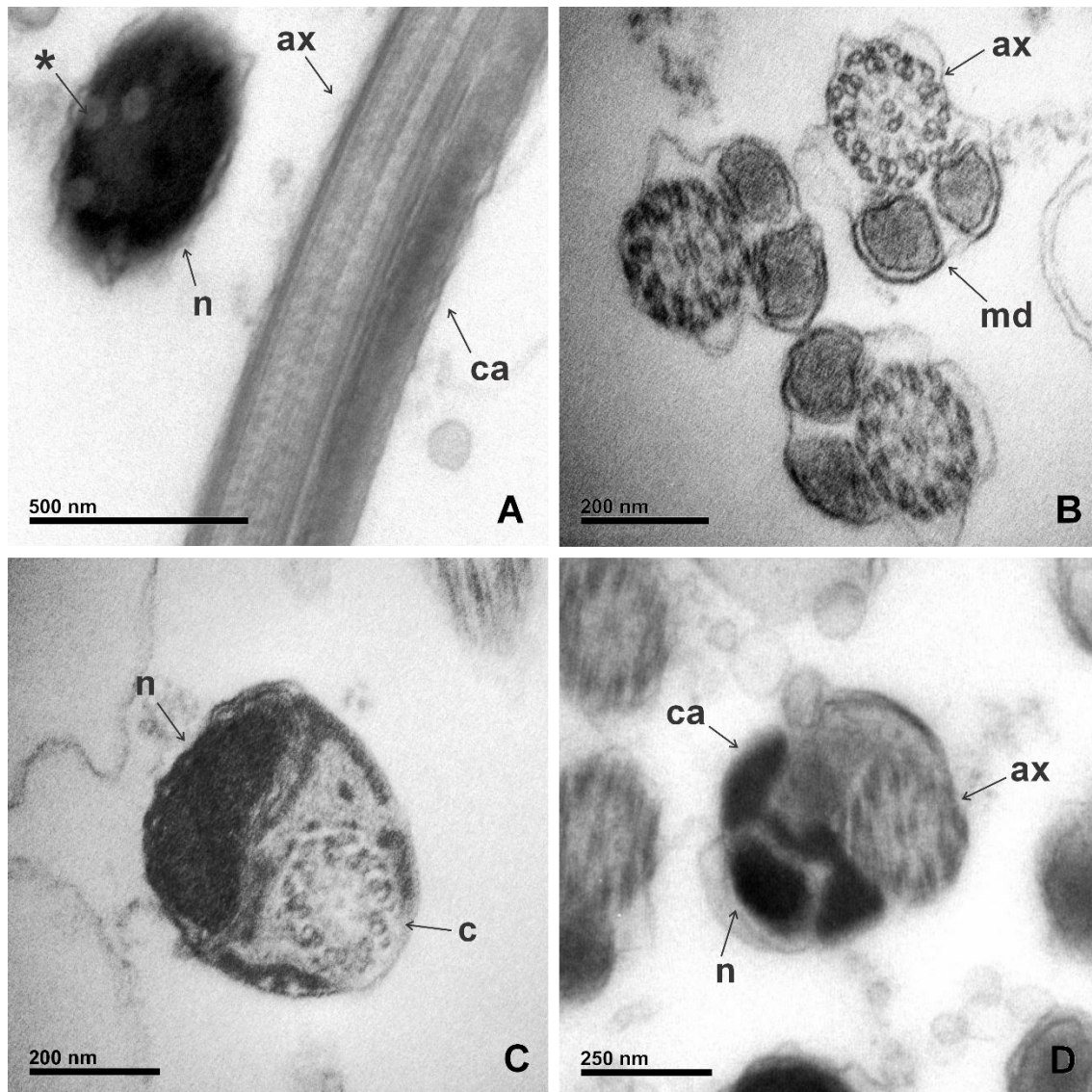


Figura 14: Micrografias eletrônicas de Transmissão mostrando a ultraestrutura do espermatozóide de *O. obesa*. Abreviaturas: ax: axonema; ca: adjunto do centríolo; c: centríolo; md: derivado mitocondrial; n: núcleo.

Discussão

Contribuições das técnicas para a conservação dos espécimes

Um dos grandes problemas enfrentados por quem trabalha com entomologia e taxonomia é conseguir preservar, da melhor maneira possível, a estrutura do inseto. Em insetos com estrutura frágil e delicada, geralmente não se tem obtido muito sucesso, já que o protocolo padrão de secagem dos insetos é realizado a temperatura ambiente ou estufa. É exatamente isso que se tem encontrado na literatura, quando os objetos de estudo

são insetos inseridos nesse contexto. Em trabalhos envolvendo moscas da família Syrphidae, por exemplo, constantemente, observa-se espécimes com estrutura morfológica preservada, contudo, ainda apresentando deformações em regiões como abdômen e cabeça (Reemer, 2010; Carvalho-Filho *et al.*, 2014; Miranda *et al.*, 2020) mas que devido a sua importância para os estudos taxonômicos aproveita-se o que é possível de ser observado.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram uma maior preservação de estruturas delicadas como olhos, cabeça e abdômen, por meio do aproveitamento de etapas utilizadas no preparo para a microscopia eletrônica de varredura, como a desidratação e secagem ao ponto crítico, o que evidencia que é possível aumentar o grau de preservação das estruturas corporais e de caracteres morfológicos importantes da região da cabeça e abdômen. Além disso, a manutenção da coloração original do espécime, é um relevante fator a ser considerado, já que, a coloração é um caráter morfológico eventualmente importante para a diferenciação taxonômica (Badejo *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2021).

Gordh & Halls (1979) já haviam descrito em seu trabalho as vantagens de se utilizar o equipamento de secagem ao ponto crítico como meio de preservação e montagem de insetos. No presente trabalho, a mesma técnica foi aplicada a moscas da família Syrphidae e os resultados mostram que o grau de preservação dos caracteres morfológicos, comumente deteriorados pela fragilidade dos espécimes, é superior ao utilizado em trabalhos disponíveis na literatura para essa família (Metz & Thompson, 2001; Borges & Couri, 2009; Reemer, 2010).

Embora seja um método que consuma tempo e recursos, a secagem ao ponto crítico pode vir a ser uma escolha mais adequada, no que se refere a preservação de espécimes, pois, garante que eles serão mais facilmente identificáveis no futuro,

especialmente quando se trabalha com descrição de novas espécies e designação de espécimes-tipo. O método permite que a amostra permaneça intacta, preservando as características do inseto vivo, como coloração e morfologia. Dessa forma, eles podem ser depositados em coleções entomológicas para futuras análises.

Caracterização morfológica das terminálias

A caracterização da morfologia da terminália de machos das espécies da família Syrphidae mostrou, por meio da microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal, que é possível uma melhor visualização e descrição das estruturas que compõem a terminália, o que possibilita uma fonte mais confiável de distinção entre muitas espécies e amplia os dados morfológicos que se tem na literatura sobre a genitália dessa espécie.

Na literatura é possível encontrar estudos semelhantes, que utilizaram outras espécies. No trabalho de Samerjai e colaboradores (2021), duas espécies de moscas pertencentes a família Sarcophagidae foram identificadas com base nas variações morfológicas e morfométricas da ultraestrutura da terminália masculina (cercos e juxta). Buenaventura e colaboradores (2018) trazem uma análise filogenética, a partir de dados morfológicos da genitália de machos da subfamília Sarcophaginae, onde para a visualização dos caracteres morfológicos foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura. Pela mesma técnica, análises do detalhamento morfológico da genitália de *Parasacophaga dux* (Sarcophagidae) (Chaiwong *et al.*, 2007), permitiram a distinção entre esta e outras espécies previamente reportadas na literatura (Bänziger & Pape, 2004). Estes estudos demonstram a relevância da caracterização morfológica utilizando a microscopia eletrônica de varredura, sendo ela uma importante ferramenta complementar capaz de fornecer dados relevantes e importantes que podem auxiliar nos estudos taxonômicos das espécies.

Os resultados apresentados neste estudo, com relação às moscas da família Syrphidae, permitem evidenciar diferenças morfológicas em estruturas específicas dentro de um mesmo gênero, como é o caso do processo pós-anal bem evidenciado nas espécies *T. politus*, *T. watsoni* e *T. laenas* e quase inexistente em *T. lacrymosus*. Além disso, a morfologia dos surstilos e cercos, aliados a presença ou ausência de densa cobertura pilosa e de espinhos também são características notáveis quando se faz uma comparação entre as espécies. A diferença no tamanho do processo pós-anal já é uma característica morfológica conhecida, como se pode ver nos trabalhos de Metz & Thompson (2001) e Borges & Couri (2009), contudo, são tratadas de forma genérica, somente quanto ao tamanho, não descrevendo de forma detalhada a estrutura. Por ser um dos caracteres morfológicos que contribuem para a determinação de espécies dentro do gênero *Toxomerus* é de suma importância uma descrição morfológica detalhada, com um maior número de características que possam vir a diferenciá-la entre as espécies.

Um grande desafio encontrado ao longo do desenvolvimento deste trabalho foram as poucas informações disponíveis acerca das espécies. Neste estudo, para alguns gêneros, como foi o caso de *Ocyptamus* e *Xanthandrus* não se conseguiu chegar ao nível de espécie, pois, houve a dificuldade de se encontrar chaves dicotômicas que chegasse a esse nível. Na literatura, informações sobre a genitália das outras moscas da subfamília Syrphinae analisadas no presente estudo, não estão disponíveis em grande quantidade. Contudo, ainda sim foi possível evidenciar a diferença morfológica existente entre os gêneros. Apesar de possuírem morfologias muito semelhantes, as genitálias das moscas dos gêneros *Ocyptamus* sp1. e *Xanthandrus* sp1. possuem características estruturais e ultraestruturais que diferenciam o formato e tamanho de estruturas como os surstilos, epândrio e pós-gonito. Em *Ocyptamus* sp1. a base do surstilo é estreita, a base do epândrio é arredondada e a base do pós-gonito é larga; por sua vez, em *Xanthandrus* sp1. a base do

surstilo é mais larga, epândrio mais comprido do que arredondado e base do pós-gonito mais estreita; portanto, sendo possível observar diferenças morfológicas sutis entre os gêneros avaliados.

Ao se observar os representantes da subfamília Microdentinae, notou-se que o formato e tamanho dos surstilos é diferenciado quando se comparam as espécies. O edeago apresentou morfologia distinta para cada espécie analisada. Comparando os dados disponíveis na literatura, é possível perceber que características como o edeago fino e bifurcado, e surstilo se iniciando abaixo do epândrio são características que estão presentes em outras espécies da subfamília Microdentinae. Portanto, podem ser uma característica da subfamília, como observado nos trabalhos de Reemer & Mengual (2026) que apresenta a descrição de uma nova espécie do gênero *Ubristes*; de Reemer (2008) que apresenta a descrição de outra espécie do gênero *Surimya*, e Reemer & Ståhls (2013) que apresenta a descrição de outras espécies dos gêneros *Schizoceratomyia* e *Chrysidimya*,

Já para a subfamília Eristalinae foi possível observar que a morfologia dos cercos se apresentou semelhante em todas as espécies, onde a presença de cerdas longas e curtas em toda sua extensão e o formato ovalado foi evidenciado. Além disso, algumas características morfológicas parecem ser próprias do gênero ao qual pertencem, como é o caso da porção distal do hipândrio recurvada para baixo, vista em *C. chalybescens*, e que também pode ser visualizado em outras espécies do gênero *Copestylum* descritas nos trabalhos de Rotheray e colaboradores (2007) e Ricarte e colaboradores (2015). No hipândrio de *O. obesa*, a depressão encontrada na região média e o espinho na margem superior são estruturas que já foram descritas anteriormente por Carvalho-Filho e colaboradores (2009); característica essa que não estavam presente em *O. therezinhae* espécie nova descrita no mesmo trabalho. As espécies do gênero *Palpada* apresentam

características morfológicas semelhantes, quanto ao formato geral da genitália, o que parece ser um padrão do gênero. O formato arredondado dos surstilos, a extremidade distal do hipândrio em formato de garra ou gancho e o edeago com a porção visível convexa são características que também são encontradas nos trabalhos que descrevem outras espécies do gênero, tais como em Morales & Marinoni (2009) e Reemer & Morales (2016).

Quando se compara o padrão estrutural da genitália, levando-se em consideração as subfamílias como um todo, é possível perceber que nas espécies da subfamília Microdontinae não foi observado a presença da estrutura pós-gonito, o que está de acordo com o descrito por Van Steenis (2023) que traz em seu Glossário de terminologias a informação de que em Syrphidae, o pós-gonito pode estar ausente ou fusionado ao hipândrio.

Na literatura, há um debate sobre qual seria a origem e a nomenclatura do pós-gonito; alguns autores, como McAlpine, (1981), trazem a estrutura com o nome de parâmero, enquanto Cumming e colaboradores (1995) afirmam se tratar de uma nova estrutura em Cyclorhapha homóloga ao gonóstilo. O que pudemos observar nas espécies analisadas é que de fato a estrutura se mostra de forma diferenciada quando se compara as subfamílias. Nas espécies aqui analisadas de Microdontinae, a estrutura estava ausente (Fig. 8), em Eristalinae parecia estar fusionada ao hipândrio em sua porção distal e em formato de gancho (Fig. 11) e em Syrphinae, apresenta-se como uma estrutura separada (Fig.7). Cumming e colaboradores (1995) trazem que em linhagens basais de Cyclorhapha o gonóstilo (pós-gonito) é uma estrutura reduzida a lobos em formato de gancho ou estão ausentes citando como exemplo algumas espécies de Syrphidae e a maioria das espécies de Pipunculidae.

Com base em filogenias disponíveis na literatura, como os trabalhos de Mengual e colaboradores (2008), Morales & Marinoni (2009), Reemer & Ståhls (2013) e Mengual e colaboradores (2015), é possível observar que a subfamília Microdontinae é considerada a mais basal, o que pode explicar as diferenças morfológicas encontradas nas genitálias, principalmente se comparadas a Syrphinae, a subfamília mais derivada (Fig. 15).

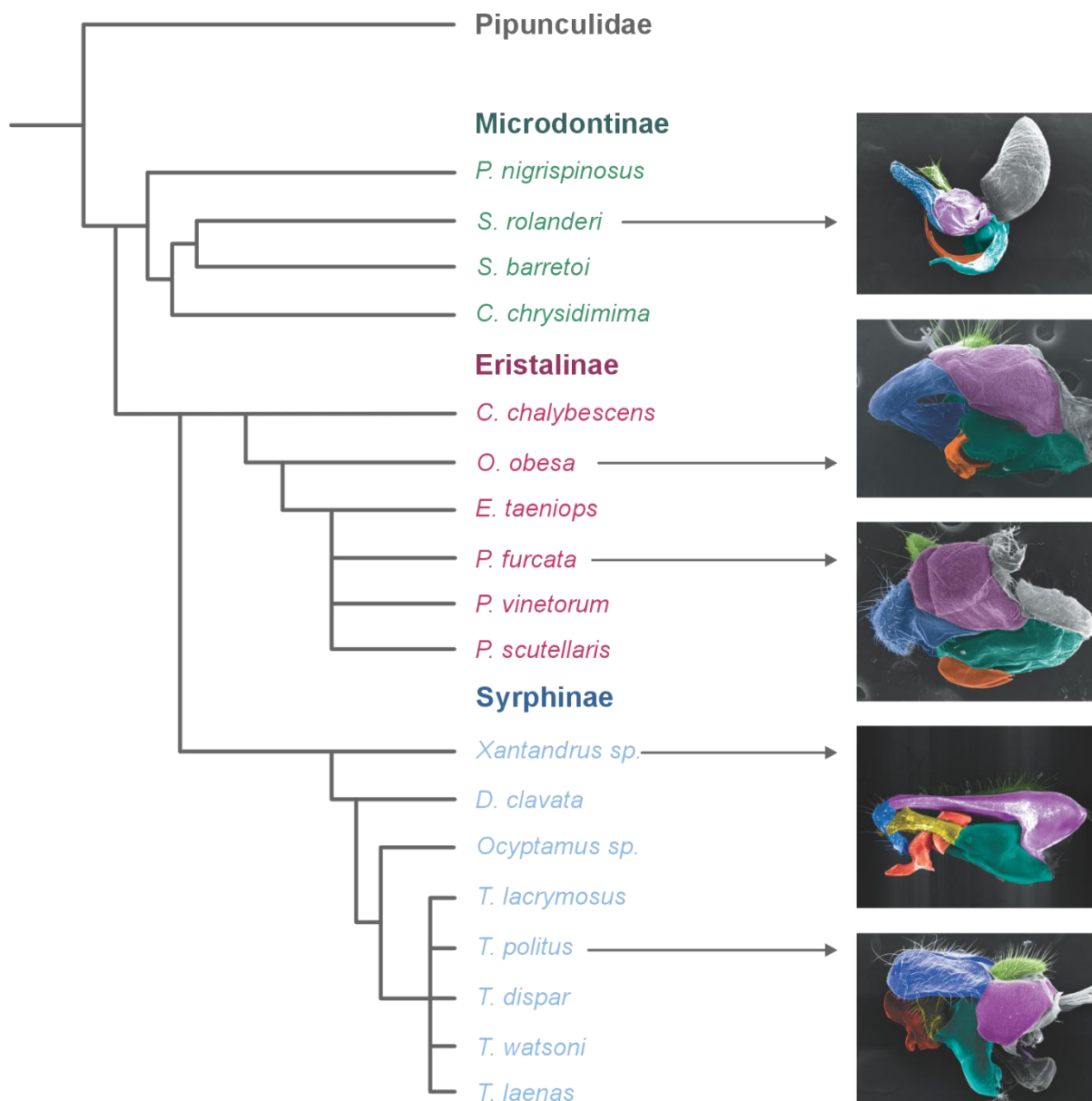


Figura 15: Dendrograma da família Syrphidae. Na figura é possível visualizar como as estruturas morfológicas das genitálias de representantes de cada subfamília se diferenciam entre si. Pipunculidae aparece como o grupo externo. Surstilo (Azul), Cercos (Verde), Epândrio (Lilás), Hipândrio (Azul claro) e Edeago (Laranja). Todas as imagens estão com a escala de 100 µm.

Com relação a utilização da Microscopia Confocal para a análise morfológica da genitália, observou-se que a técnica permitiu uma melhor visualização e identificação de estruturas que naturalmente estão sobrepostas e que por meio da microscopia de luz ou eletrônica de varredura não era possível de serem vistas. Em *Ocyrtamus* sp1, por exemplo, foi possível observar a inserção do apódema do falo, estrutura essa que fica por trás do epândrio (Fig.9D -*). Isso porque a técnica utiliza a visualização de múltiplos planos focais, que, combinados, permite a reconstrução tridimensional das estruturas (Grzywacz *et al.*, 2014). Na literatura, a utilização da autofluorescência do exoesqueleto de quitina para a visualização na microscopia confocal, tem sido utilizada como ferramenta no estudo morfológico de insetos, principalmente no estudo de imaturos de díptera. Grzywacz e colaboradores (2014), trouxeram a caracterização morfológica de larvas de Calliphoridae e Muscidae, evidenciando as particularidades do cefaloesqueleto. Em outro estudo, Klaus e colaboradores (2003), utilizaram a genitália de *Drosophila melanogaster* e *Culex tarsalis* para demonstrar como a reconstrução 3D e a microscopia confocal são úteis para estudos morfológicos.

Ultraestrutura do espermatozóide

No que se refere a ultraestrutura do espermatozóide, a literatura tradicionalmente traz como protocolo padrão a fixação dos testículos logo após a dissecação, isso para que a estrutura de tecidos e células seja preservada. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que apesar dos testículos não terem sido submetidos a protocolo de fixação adequado, ainda foi possível visualizar as principais estruturas dos espermatozóides, com exceção das membranas, que não foram preservadas. A possibilidade de reconhecimento e caracterização de pelo menos alguns caracteres ultraestruturais de espermatozóides são

de grande valia, pois, em casos em que há pouca disponibilidade de material ou até mesmo em casos em que se tratam de espécimes raros é possível a utilização desse recurso.

As espécies analisadas neste trabalho, não possuem dados disponíveis na literatura relacionados a ultraestrutura do espermatozóide, dessa forma, apesar de poucos caracteres morfológicos terem sido recuperados e descritos, ainda sim, são dados importantes a serem acrescentados acerca da morfologia das espécies e de Syrphidae. A ultraestrutura do espermatozóide encontrada para as espécies analisadas está de acordo com o padrão descrito para dípteros braquíceros e que estão disponíveis na literatura (Dallai *et al.* 1993; Jamieson *et al.*, 1999; Name *et al.*, 2012; Gracielle *et al.*, 2016), onde foram descritos derivados mitocondriais com a presença de região paracristalina e o arranjo dos microtúbulos no axonema no padrão 9+9+2, sendo um par central, nove pares de microtúbulos periféricos e 9 microtúbulos acessórios.

A identificação dos caracteres morfológicos, da região da cabeça (núcleo) e da região da cauda (adjuntos dos centríolos, derivados mitocondriais e axonema) condizem com o padrão descrito por Wu & Zhou (1986) que descreve a ultraestrutura do espermatozóide de *Eristalinus tarsalis*, espécie também da família Syrphidae. As espécies *T. lacrymosus*, *D. clavata*, *S. barretoii* e *O. obesa* apresentaram o núcleo com uma inserção na região de transição cabeça-cauda, ficando sua extremidade inferior lado a lado com o adjunto do centríolo, assim como foi descrito para *E. tarsalis*.

Em trabalhos que analisaram a ultraestrutura do espermatozóide de insetos foi possível fazer a caracterização de cada um dos caracteres morfológicos que o compõe, tendo eles sido capazes de fornecer a descrição e evidenciar a diferença morfológica quando há comparação entre espécies (Name *et al.*, 2010; Gracielle *et al.*, 2016; Mercati *et al.*, 2023). Kotzé e colaboradores (2019) compararam, a ultraestrutura do espermatozóide de *Hermetia illucens* (*Stratiomyidae*) com outras subespécies de Dipteros,

revelando características distintas na região da cabeça, zona de transição (parte posterior do núcleo) e região anterior do flagelo.

Conclusão

As técnicas aplicadas neste estudo podem contribuir para os estudos da morfologia comparada desse grupo. Embora o uso da microscopia eletrônica de varredura já tenha sido relatado na literatura como a melhor técnica para o estudo morfológico de insetos, a literatura não fornece imagens comparativas mostrando essas diferenças.

A caracterização morfológica das terminálias das moscas das subfamílias Syrphinae, Microdontinae e Eristalinae contidas neste trabalho é uma importante contribuição para ampliar a base de dados morfológicos sobre a família Syrphidae. A maior resolução das imagens fornecidas pela microscopia eletrônica de varredura permite uma caracterização mais precisa e detalhada da estrutura morfológica das terminálias. Dessa forma, uma melhor compreensão das estruturas e das interrelações entre as espécies, será possível. A microscopia Confocal, por sua vez, possibilitou a visualização de estruturas internas por transparência, sem a necessidade da retirada de peças, o que viabilizou a compreensão da morfologia e conexão entre as estruturas.

A caracterização ultraestrutural do espermatozóide de *T. lacrymosus*, *T. politus*, *S. rolanderi*, *S. barretoii*, *D. clavata* e *O. obesa* realizada neste trabalho foi o primeiro registro morfológico feito para essas espécies, contudo, ainda é necessária a descrição de mais caracteres morfológicos para que se possa definir a estrutura do espermatozóide de cada espécie. As descrições ultraestruturais do espermatozóide mostram que, assim como já descrito para outras espécies de Diptera na literatura, é possível distinguir características e especificidades morfológicas. Entender a morfologia da ultraestrutura de

mais espécies dessa família é importante, pois, enriquece o banco de dados de morfologia, contribui com a taxonomia do grupo e possibilita um melhor entendimento sobre as relações entre seus representantes e sobre a família Syrphidae.

Referências Bibliográficas

- Aguilera, A.; Cid, A.; Regueiro, B.J.; Prieto, J.M. e Noya, M. 1999. Intestinal Myiasis caused by *Eristalis tenax*. **J Clin Microbiol** 37:3082.
- Amorim, D.S.; V.C. Silva & M.I.P.A Balbi. 2002. Estado do conhecimento dos Diptera Neotropicais. *In*: Costa, C.; Vanin, S.A., Lobo, J.M. & Melic, A., **Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática**. SEA, Saragoza 2: 29- 36.
- Amorim, D.S. 2009. Neotropical Diptera Diversity: Richness, Patterns and Perspectives. *In*: **Diptera Diversity: Status Challenges e Tools**. T. Pape, D. Bickel & R. Meir (eds). Chater Three. Koninklijke Brill NV.
- Badejo, O.; Skaldina, O.; Gilev, A.; Sorvari, J. 2020. Benefits of insect colours: A review from social insect studies. *Oecologia*, 194: 27-40.
- Bánki, O., Roskov, Y., Döring, M., Ower, G., Hernández Robles, D. R., Plata Corredor, C. A., Stjernegaard Jeppesen, T., Örn, A., Vandepitte, L., Pape, T., Hobern, D., Garnett, S., Little, H., DeWalt, R. E., Ma, K., Miller, J., Orrell, T., Aalbu, R., Abbott, J., *et al.* (2026). Catalogue of Life (Version 2026-03-09). Catalogue of Life, Amsterdam, Netherlands. <https://doi.org/10.48580/dgdwl>
- Bänziger H, Pape T. 2004. Flowers, faeces and cadavers: natural feeding and laying habits of flesh flies in Thailand (Diptera: Sarcophagidae, Sarcophaga spp.). *J. Nat. His.* 38:1677–1694.
- Borges, Z.M. and Couri, M.S. 2009. Revision of *Toxomerus* Macquart, 1855 (Diptera: Syrphidae) from Brazil with synonymic notes, identification key to the species and description of three new species. **Zootaxa**. 77pp.
- Brown, B.V. 2005. Malaise trap catches and the crisis in neotropical dipterology. **American Entomologist**. 51(3): 180-183.
- Buenaventura, E. and Pape, T. 2018. Phylogeny, evolution and male terminalia functionality of Sarcophaginae (Diptera: Sarcophagidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**. 183: 808-906.
- Carvalho-Filho, F.S. and Esposito, M.C. 2009. A review of the flower fly genus *Ornidia* Lepelletier & Serville (Diptera: Syrphidae) with the description of a new species from Brazil. **Zootaxa**. 2014 (1): 1-18.

- Carvalho-Filho, F.S. 2014. Description of new species of *Surimyia* Reemer and *Carreramyia* Doesburg (Diptera: Syrphidae) from the Brazilian Amazon. **Zootaxa**. 3887 (1): 79-87.
- Carvalho, C.J.B.; Rafael, J.A.; Couri, M.S.; Riccardi, P.R.; Silva, V.C.; Oliveira, S.S.; Lamas, C.J.E. 2024. Cap. 36, Diptera Linnaeus, 1758, pp.783-831. *In*: Rafael, J.A.; Melo, G.A.R.; Carvalho, C.J.B. Casari, S. and Constantino, R. (eds). Insetos do Brasil. 2^a ed. **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**. Manaus, 880p.
- Chaiwong, T.; Sukontason, K.L.; Chaitong, U.; Olson, J.K.; Kurahashi, H. and Sukontason, K. 2007. Male genitalia of flesh fly *Parasarcophaga* (*Liosarcophaga*) *dux* (Diptera: Sarcophagidae) revealed by scanning electron microscopy. **J. Am Mosq Control Assoc.** 23 (1): 80-83.
- Chetverikov, P. E. 2013. Comparative confocal microscopy of internal genitalia of phytoptine mites (Eriophyoidea, Phytoptidae): new generic diagnoses reflecting host-plant associations. **Experimental and Applied Acarology**. 62(2): 129-160.
- Cruz, D.D; Denis, D.; Arellano, E.; Ibarra-Cerdena, C.N. 2021. Quantitative imagery analysis of spot patterns for the three-haplogroup classification of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae), an important vector of Chagas disease. **Parasites Vector**. 14: 90.
- Cumming, J.M.; Sinclair, B.J. and Wood, D.M. 1995. Homology and phylogenetic implications of male genitalia in Diptera – Eremoneura. **Entomologica Scandinavica**. 26:120-151.
- Cumming, J.M. & Wood, D.M. (2009) Adult morphology and terminology. *In*: Brown, B.V., Borkent, A., Cumming, J.M., Wood, D.M. & Zumbado, M. (Eds) **Manual of Central American Diptera**. Volume 1. NRC Research Press, Ottawa, ON, pp. 9–50
- Cumming, J.M. & Wood, D.M. 2017. Adult Morphology and Terminology. *In*: **Manual of Afrotropical Diptera**. Kirk-Spriggs, A.H and Sinclair, B, J. (Eds.). Vol. 1. Ed. Suricata.
- Dallai, R. Bellon, P.L.; Vecchia, S.L. and Afzelius, B.A. 1993. The dipteran sperm tail: ultrastructural characteristics and phylogenetic considerations. **Zoologica scripta**. 22(2): 193-202.
- Duke, C.V. 2007. All about Hoverflies. Disponível em: <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artmay07/cd-hoverflies.html> . Acessado em: Fevereiro/2026.

- Eberhard, W.G. and Lehmann, G.U.C. 2019. Demonstrating sexual selection by cryptic female choice on male genitalia: what is enough? **Evolution**. 73 (12): 2415-2435.
- Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge, Cambridge University Press, 511pp.
- Feldman, T.S. 2006. Pollinator aggregative and functional responses to flower density: Does pollinator response to patches of plants accelerate at low densities? **Oikos** 115:128–140.
- Francuski, L.J; Matic, I.; Ludoski, J. and Milankov, V. 2011. Temporal pattern of genetic and phenotypic variation of epidemiologically important species *Eristalis tenax*. **Med Vet Entomol**. 25:135–147.
- Gilbert, F.S. 1993. Hoverflies, 2nd ed. Naturalists handbooks no. 5. Slough, England: Richmond Press. 72 p.
- Gilbert, F. 2005. The Evolution of Imperfect Mimicry, p. 231–288. In: Fellowes, M. D. E., Holloway, G. J., Rolff, J. (Eds.). **Insect Evolutionary Ecology**. CABI, 448 p.
- Golding, Y.C. and Edmunds, M. 2000. Behavioural mimicry of honeybees (*Apis mellifera*) by droneflies (Diptera: Syrphidae: *Eristalis* spp.). *Proc R Soc Lond* 267:903–909.
- Gordh, G. and Hall, J.C. 1979. A critical point drier used as method of mounting insects from alcohol. **Ent. News** 90(1):57-59.
- Gottardo, M.; Dallai, R.; Mercati, D.; Hörnschemeyer, T. and Beutel, R.G. 2016. The evolution of insect sperm – an unusual character system in a megadiverse group. **J. Zool. Syst. Evol. Res.** 54(4): 237-256
- Gracielle, I.M.S.; Tidon, R. and Bão, S.N. 2016. Structure and ultrastructure of spermatozoon in six species of Drosophilidae (Diptera). **Tissue and Cell**. 48 (6): 596-604.
- Grimaldi, D. & Engel, M.S. 2005. **Evolution of the Insects**. Cambridge University Press: 514pp.
- Grzywacz, A., Góral, T. e Szpila, K.2014. Confocal laser scanning microscopy as a valuable tool in Diptera larval morphology studies. **Parasitology Research**. 113: 4297-4302.
- Harbach, R.E. 1984. A new species of *Toxomerus* (Diptera, Syrphidae) from Brazil, with notes on three related species. **Proc. Entomol. Soc. Wash.** 86 (4): 840-844.
- Higginson, D.M. 2011. Evolution of Complex Sperm Morphology. Biology - Dissertations. 71. Syracuse University.

- Jamieson, B.G.M. 1987. The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Jamieson, B.G.M. 1999. Insects: Their spermatozoa and phylogeny. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire (USA)
- Jauker, F. e Wolters, V. 2008. Hover flies are efficient pollinators of oil- seed rape. *Oecologia* 156:819–823.
- Kirk-Spriggs, A.H. 2017. 1. Introduction and brief history of Afrotropical dipterology. In: Kirk-Spriggs, A.H e Sinclair, B.J., eds, Manual of Afrotropical Diptera. Volume 1. Introductory chapters and keys to Diptera families. Suricata4. South African National Biodiversity Institute, Pretoria; pp. 1-67.
- Klaus, A.V.; Kulasekera, V.L. e Schawaroch, V. 2003. Three-dimensional visualization of insect morphology using confocal laser scanning microscopy. **J. Microsc.** 212 (2): 107-121.
- Kotzé, R.C.M.; Muller, N.; Du Plessis, L. e Van der Horst, G. 2019. The importance of insect sperm: Sperm ultrastructure of *Hermetia illucens* (Black soldier fly). **Tissue and Cell.** 59: 44-50.
- Larson, B.M.H.; Kevan, P.G. e Inouye, D.W. 2001. Flies and flowers: taxonomic diversity of anthophiles and pollinators. **Canadian Entomologist.** 133, 439-465.
- Liao, C.; Li, H.; Gao, Z.; Yan, W. and Ji, Y. 2026. Phylogenetic and divergence time estimation of Muscomorpha with low-coverage whole-genome sequencing of Syrphidae (Diptera:Brachycera). **Biology.**15(5):411-428.
- Marinoni, L. & F. C. Thompson. 2003. Flower flies of southeastern Brazil (Diptera: Syrphidae) Part I. Introduction and new species. **Studia Dipterologica** 10: 565578.
- Marinoni, L.; Morales, M.N. and Spaler, I. 2007. Chave de Identificação ilustrada para os gêneros de Syrphinae (Diptera, Syrphidae) de ocorrência no sul do Brasil. **Biota Neotropica.** 7(1) 145-160.
- Marshall S.A. 2012. Flies: the natural history and diversity of Diptera. Firefly Books Ltd, USA and Canada, 616 pp.
- Malawey, A.S.; Mercati, D.; Love, C.C. and Tomberlin, J.K. 2019. Adult reproductive tract morphology and spermatogenesis in the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** 112(6): 576-586.

- Mazánek, L.; Hadrava, J.; Semelbauer, M. and Král, M. 2025. Updated checklist of the Syrphidae Latreille, 1802 of Czechia and Slovakia. **Biodiversity & Environment**. 17: 127-141.
- McAlpine, J.F. 1981. Morphology and Terminology - Adults, p.9-63. *In*: McAlpine; B. V. Peterson; G. E. Shewell; H. J. Teskey; J. R. Vockeroth & D. M. Wood (Eds). **Manual of Nearctic Diptera**. Ottawa, Agriculture Canada, Research Branch, Vol. 1, Monograph 28, 1332 p
- Mengual, X. 2011. Black-tie dress code: two new species of the genus *Toxomerus* (Diptera, Syrphidae). **Zookeys**. 140: 1-26.
- Mengual, X.; Ståhls, G.; Rojo, S. 2015. Phylogenetic relationships and taxonomic ranking of pipizine flower flies (Diptera: Syrphidae) with implications for the evolution of aphidophagy. **Cladistics** 31: 491-508.
- Mengual, X.; Mayer, C.; Burt, T.O.; Moran, K.M.; Dietz, L.; Nottebrock, G.; Pauli, T.; Young, A.D.; Brasseur, M.V.; Kukowka, S.; Kelso, S.; Eitzbauer, C.; Bot, S.; Hauser, M.; Jordaens, K.; Miranda, G.F.G.; Ståhls, G.; Van Steenis, W.; Peters, R.S. and Skevington, J.H. 2022. Systematics and evolution of predatory flower flies (Diptera: Syrphidae) based on exon-capture sequencing. **Systematic Entomology**, 48: 250-277.
- Mercati, D.; Fanciulli, P.P.; Lupetti, P. and Dallai, R. 2023. The sperm structure of the diving beetles *Stictonectes optatus* (Seidlitz, 1887) and *Scarodytes halensis* (Fabricius, 1787) (Dytiscidae, Hydrophorinae) with evidence of a spermatostyle in the sperm conjugation. **Micron**. 166: 1-15.
- Metz, M.A. and Thompson, C. 2001. A revision of the larger species of *Toxomerus* (Diptera: Syrphidae) with description of a new species. **Studia dipterologica**. 8: 225-256.
- Miranda, G.F.G.; Skevington, J.H.; Marshall, S.A. 2020. New generic concepts for orphaned lineages formerly treated as part of the genus *Ocyptamus* Macquart, 1834 (Diptera, Syrphidae). *Zootaxa*, 4822: 151-174.
- Montoya, A.L. and Wolff, M. 2020. Description of six new large species of *Argentinomyia* Lynch-Arribálzaga, 1891 and redescription of *Talahua fevida* (Fluke, 1945) (Diptera, Syrphidae, Syrphinae). **Zookeys**. 929: 19-51.
- Morales, M.N. and Marinoni, L. 2009. Cladistic analysis and taxonomic revision of the *scutellaris* group of *Palpada* Macquart (Diptera: Syrphidae). **Invertebrate Systematics**, 23: 301-347.

- Morales, M.N. and Marinoni, L. 2024. Syrphidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil. PNUD. Disponível em: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/827>>. Acesso em: Fevereiro/2026.
- Nagatomi, A. & Iwata, K. 1976. Female Terminalia of the Lower Brachycera (Diptera). **Beiträge zur Entomologie**, 26:5-47.
- Nagatomi, A. & Iwata, K. 1984. Male Terminalia of the Lower Brachycera (Diptera). **Beiträge zur Entomologie**. 34: 99-157.
- Name, K.P.O; Pujol-Luz, J.R. and Bão, S.N. 2010. Structure and ultrastructure of spermatozoa of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Micron**. 41(7): 853-860.
- Name, K.P.O.; Barros-Cordeiro, K.B.; Gama Filho; Wolff, M.; Pujol-Luz, J.R.; Bão, S.N. 2012. Morphological and cytochemical aspects of spermatozoa in the genus *Cochliomyia* (Diptera: Calliphoridae). **J. Electron Microsc.** 61 (6): 415-422.
- Pérez-Lachaud, G.; Jervis, M. A.; Reemer, M. and Lachaud, J. 2014. An unusual, but not unexpected, evolutionary step taken by syrphid flies: the first record of true primary parasitoidism of ants by Microdontinae. **Biol. J. Linn. Soc.** 111 (2): 462-472.
- Polidori, C.; Nieves-Aldrey, J.L.; Gilbert, F. and Rotheray, G.E. 2014. Hidden in taxonomy: Batesian mimicry by a syrphid fly towards a Patagonian bumblebee. **Insect Conserv. Divers.** 7:32-40.
- Rader, R.; Howlett, B.G.; Cunningham, S.A.; Westcott, D.A.; Newstrom- Lloyd, L.E.; Walker, M.K.; Teulon, D.A.J. and Edwards, W. 2009. Alternative pollinator taxa are equally efficient but not as effective as the honey bee in a mass flowering crop. **J Appl Ecol**. 46:1080–1087.
- Rafael, J.A.; Aguiar, A.P. and Amorim, D.S. 2009. Knowledge of insect diversity in Brasil: challenges and advances. **Neotropical Entomology**. 38:(5) 565-570.
- Reemer, M. 2008. *Surimyia*, a new genus of Microdontinae, with notes on *Paragodon* Thompson, 1969 (Diptera, Syrphidae). **Zoölogische Mededelingen**, 82: 177-188.
- Reemer, M. 2010. A second survey of Surinam Syrphidae (Diptera): Introduction and Syrphinae. **Tijdschrift voor Entomologie**, 153: 163-196.
- Reemer, M. 2013. Review and phylogenetic evaluation of associations between Microdontinae (Diptera: Syrphidae) and ants (Hymenoptera: Formicidae). **Psyche** 2013, 1–9.

- Reemer, M. and Ståhls, G. 2013. Generic revision and species classification of the Microdontinae (Diptera, Syrphidae). **Zookeys**. 288 (1): 1-213.
- Reemer, M. 2014. A review of Microdontinae (Diptera: Syrphidae) of Surinam, with a key to the Neotropical genera. **Tijdschrift voor Entomologie**.157:27-57.
- Reemer, M. and Morales, M.N. 2016. *Palpada panorama* sp. n. (Diptera: Syrphidae), a big-eyed hoverfly from Peru and Suriname. **Zootaxa**. 2:286-292.
- Reemer, M. e Mengual, X. 2026. *Ubristes mirabilissimus* sp. nov., a new stingless bee mimicking hoverfly from the Ecuadorian Amazon (Diptera, Syrphidae, Microdontinae). **Evolutionary Systematics**. 10: 47-54.
- Reverté, S.; Miličić, M.; Ačanski, J.; Andrić, A.; Aracil, A. and Aubert, M. 2023. National records of 3000 European bee and hoverfly species: A contribution to pollinator conservation. **Insect Conservation and Diversity**.16: 758–775.
- Rezende, P.H.; Mercati, D.; Lupetti, P. and Dallai, R. 2024. The sperm ultrastructure of *Spermophagus kuesteri* Schilsky, 1905 (Chrysomelidae, Bruchinae) and considerations on the relationships of Cucujiformia superfamilies. **Micron**. 1-7.
- Ricarte, A.; Marcos-García, M.A.; Hancock, E.G. and Rotheray, G.E. 2015. Neotropical *Copestylum* Macquart (Diptera:Syrphidae) breeding in fruits and flowers, including 7 new species. **Plos One**. 10 (11) 1:58.
- Rice, G., David, J.R., Kamimura, Y., Masly, J.P., Mcgregor, A.P., Nagy, O., Noselli, S., Nunes, M.D.S., O’Grady, P., Sánchez-Herrero, E., Siegal, M.L., Toda, M.J., Rebeiz, M., Courtier-Orgogozo, V. and Yassin, A. 2019. A standardized nomenclature and atlas of male terminalia of *Drosophila melanogaster*. **Fly**. 13:51-64.
- Rotheray, G.E. 2007. Neotropical *Copestylum* (Diptera:Syrphidae) breeding in bromeliads (Bromeliaceae) including 22 new species. **Zoo. J. Linn. Soc.** 150:267-317.
- Rotheray, G.E. 2019. Ecomorphology of cyclorrhaphan larvae (Diptera). **Zoological monographs** 4. Springer, Heidelberg.
- Rojo, S., Gilbert, F., Marcos-García, M. A., Nieto, J.M and. Mier, M. P. 2003. A world review of predatory hoverflies (Diptera, Syrphidae: Syrphinae) and their prey. Murcia, Spain. Centro Iberoamericano de la Biodiversidad.
- Samerjai, C.; Sukontason, K.L.; Sukontason, K.; Limsopatham, K.; Chareonviriyaphap, T.; Somboon, P.; Tomberlin, J.K. and Sanit, S. 2021. Ultrastructure of male

- terminalia of *Boettcherisca peregrina* and *Boettcherisca nathani* (Diptera: Sarcophagidae), flesh fly species of forensic importance. **Acta Tropica**. 224.
- Schönrogge, K.; Barr, B.; Wardlaw, J.C.; Napper, E.; Gardner, M.G.; Breen, J.; Elmes, G.W. and Thomas, J. A. 2002. When rare species become endangered: cryptic speciation in myrmecophilous hoverflies. **Biol. J. Linn. Soc.** 75: 291- 300.
- Schneider, F. 1969. Bionomics and Physiology of Aphidophagous Syrphidae. **Annual Review of Entomology** 14:1, 103-124.7
- Skevington, J.H. & P.T. Dang. 2002. Exploring the diversity of flies (Diptera). **Biodiversity** 3 (4): 3-27
- Skevington, J.H; Locke, M.M; Young, A.D; Moran, K; Crins, W.J. and Marshall, S.A. 2019. Field guide to the flower flies of the Northeastern North America. **Princeton**, Princeton University Press.
- Sinclair, B.J., Cumming, J.M. and Wood, D.M. 1994. Homology and phylogenetic implications of male genitalia in Diptera – Lower Brachycera. **Entomologica Scandinavica**, 24:407-432
- Sinclair, B.J. 2000. 1.2 Morphology and terminology of Diptera male terminalia. *In*: Papp, L. and Darvas, B. (eds). Contributions to a Manual of Palearctic Diptera. Vol 1. **Science Herald**, Budapest. pp. 53-74.
- Sinclair, B.J., Cumming, J.M. and Brooks, S.E. 2013. Male terminalia of Diptera (Insecta): a review of evolutionary trends, homology and phylogenetic implications. **Insects systematics & Evolution**. 44: 373-414.
- Smith, H.A & Chaney, W.E. 2007. A survey of syrphid predators of *Nasonovia ribisnigri* in organic lettuce on the Central Cost of California . **Journal of Economic**. 100(1): 39-48.
- Sommaggio, D. 1999. Syrphidae: can they be used as environmental bioindicators?. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 74:343-356.
- Speight, M. 2018. Species accounts of European Syrphidae, 2018. **Syrph the Net**, the database of European Syrphidae (Diptera) vol. 103. Syrph the Net publications, Dublin, 302 pp.
- Ssymank, A.; Jordaens, K.; Meyer, M.D.; Reemer, M. and Rotheray, G.E. 2021.60. Syrphidae. *In*: Kirk-Spriggs, A.H. & Sinclair, B.J., eds, Manual of Afrotropical Diptera. Volume 3. Brachycera–Cyclorrhapha, excluding Calyptratae. Suricata 8. South African National Biodiversity Institute, Pretoria; pp. 1439–1491.

- Tavares-Bastos, L.; Cunha, L.D.; França, F.G.R.; Diele-Viegas, L.M.; Vieira, G.H.C.; Santos, M.G.; Vaqueiro, A.C.; Gower, D.J.; Colli, G.R. and Bão, S.N. 2024. Comparative electron microscopy study of spermatozoa in snakes (Lepidosauria, Squamata). **Micron**. 182: 1-12.
- Thompson, FC. 2013. Family Syrphidae. *Em* Thompson, FC; Pape, T (eds.). **Systema Dipterorum**, Versão 1.5. Disponível em <http://www.diptera.org>.
- Thompson, FC; Rotheray GE; Buzzed, MA. 2010. Syrphidae (moscas de flores). *Em* Brown, BV; Borkent, A; Cumming, JM; Madeira, DM; Woodley, NE; Buzzed, MA. (eds.). **Manual dos dípteros da América Central**. Ottawa, NRC Research Press. v. 2 P. 763-792.
- Van Steenis, J.; Miranda, G.F.G.; Tamara, T.; Mengual, X. and Skevington, J.H. 2023. Glossary of morphological terminology of adult Syrphidae (Diptera): an update and extension. **Journaal van Syrphidae**. 2(4) 1-99.
- Vockeroth, J. R. & F. C. Thompson. 1987. Syrphidae, p.713-743. *In*: McAlpine; B. V. Peterson; G. E. Shewell; H. J. Teskey; J. R. Vockeroth & D. M. Wood (Eds). **Manual of Nearctic Diptera**. Ottawa, Agriculture Canada, Research Branch, Vol. 2, Monograph 28, 1332 p.
- Vujić, A.; Gilbert, F.; Flinn, G.; Englefield, E.; Ferreira, C.; Varga, Z.; Eggert, F.; Woolcock, S.; Böhm, M.; Mergy, R.; Ssymank, A.; Van Steenis, W.; Aracil, A.; Földesi, R.; Grković, A.; Mazánek, L.; Nedeljković, Z.; Pennards, G.; Pérez, C.; Radenković, S.; Ricarte, A.; Rojo, S.; Ståhls, G.; Van der Ent, L.J.; Van Steenis, J.; Barkalov, A.; Campoy, A.; Janković, M.; Likov, L.; Lillo, I.; Mengual, X.; Milić, D.; Miličić, M.; Nielsen, T.; Popov, G.; Romig, T.; Šebić, A.; Speight, M.C.D.; Tot, T.; Van Eck, A.; Veselić, S.; Andrić, A.; Bowles, P.; de Groot, M.; Marcos-García, M.A.; Hadrava, J.; Lair, X.; Malidžan, S.; Nève, G.; Obrecht Vidaković, D.; Popov, S.; Smit, J.; Van de Meutter, F.; Veličković, N. and Vrba, J. 2022. Pollinators on the edge: our European hoverflies. **The European Red List of Hoverflies**. European Commission, Brussels.
- Wu, D. and Zhou, H. 1986. Studies on ultrastructure of spermatozoa from flies: *Eristalinus tarsalis* (Maq). **Acta Entomologica Sinica**. 29: 25-29.
- Wu, G.; Li, H.; Mengual, X.; Wang, Y. and Zhao, R. 2024. Phylogenetic analysis of Syrphidae (Insecta, Diptera) based on low-coverage whole genomes. **Insect Systematics and Diversity**, 8(6): 1-10.

Anexo

RESEARCH ARTICLE OPEN ACCESS

Contributions of Microscopy to the Morphological Characterization of the Male Genitalia of *Toxomerus politus* (Diptera, Syrphidae)

Ingrid G. M. Silva¹ | Alexandre A. F. Souza² | Ariane P. Silveira¹ | Karine B. Barros-Cordeiro¹ | Welinton R. Lopes^{3,†} | Sonia N. Bão¹ 

¹Laboratório de Microscopia e Microanálise, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil | ²Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Uberlândia, Minas Gerais, Brazil | ³Laboratório de Insetos Necrófagos, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil

Correspondence: Sonia N. Bão (snbao@unb.br)

Received: 16 February 2024 | **Revised:** 18 November 2024 | **Accepted:** 15 January 2025

Funding: The authors are grateful for financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq (303557/2021-4), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES (0001), Financiadora de Estudos e Projetos—FINEP (01.08.0457.00), and Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal—FAPDF (001930000 1066/2021).

Keywords: confocal laser scanning microscopy | critical point | SEM | TEM | *Toxomerus politus* | ultrastructure

ABSTRACT

The study of insects has historically been linked to the development of microscopy. As techniques have improved, research into insect morphology can increasingly contribute to a better understanding of the structures and functions of the morphological characters of insects' three tagmata. We propose the use of methodologies applied in microscopy as a way of improving and facilitating the study of the morphological characters of fly genitalia. In addition, flies preserved in 70% alcohol were used to verify the feasibility of distinguishing ultrastructural characters in the spermatozoa, when not previously fixed for the preservation of morphological structures. We have shown that it is viable to enhance preservation of specimens using a scanning electron microscopy technique. In addition, the observation of genitalia using this technique, together with confocal laser scanning microscopy, enables better visualization, description, and understanding of the morphological characteristics of fly genitalia. We also noted, in analysis using transmission electron microscopy, that it is possible to recover and describe some morphological features of the ultrastructure of *Toxomerus politus* (Say, 1823) sperm, obtained from flies stored in 70% alcohol for a long period of time. Comparison between the methods used to investigate the structures of *T. politus*, observed after preserving the specimen, already demonstrates the importance of using appropriate methodology as a starting point for reliable results. The methodologies and techniques adopted in this work have the potential to be extrapolated to research into other species of flies and other insects in a broad context.

1 | Introduction

The identification and classification of insects depends on the evaluation of tiny structures, which are often impossible to differentiate without technical equipment, such as stereomicroscopes and light microscopes.

The use of microscopy has helped advance entomological discoveries over the years. In 1669, the naturalist, anatomist, and microscopist Jan Swammerdam (1637–1680) demonstrated how microscopy could be used as a powerful tool in the study of insects. He published his most famous book, “Historia Insectorum Generalis” (The Natural History of Insects), in

†The author died prior to the submission of this paper. This is one of his last works.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2025 The Author(s). *Ecology and Evolution* published by John Wiley & Sons Ltd.

which he used progressive techniques for dissecting and comparing structures to discuss the development and metamorphosis of insects (Friedrich et al. 2014). As technologies improved, including the use of stereomicroscopes, entomologists were able to identify and differentiate morphological and structural characters, which are essential for taxonomy. Antennae, wings, and legs, for example, saw their morphologies and functions properly described, which enabled a better understanding of abilities such as communication and flight (Callahan 1975; Farisenkov et al. 2022).

With the emergence of electron microscopy, the power of resolution was increased, enabling the visualization of structures on micro and nanometric scales. From the 1970s onwards, studies involving entomology and the use of scanning electron microscopy (SEM) began to be developed (Conford, Rowley, and Klun 1973; Wootton 1992). Structures and external morphological characters previously described, with less detail, or unknown, became part of morphological descriptions and taxonomic studies (Wootton 1992; Dey, Hooroo, and Wankhar 1995).

Transmission electron microscopy (TEM), in turn, has helped to understand the role of the structure and function of cells and tissues, which is essential, for example, in the ultrastructural evaluation of gametes (Stirling and Woods 2002; Ravi, Leung, and Zeev-Ben-Mordehai 2020). The study of the morphology and ultrastructure of spermatozoa has proven to be relevant since the diversity of sperm morphology can provide data on the evolutionary path (Higginson 2011; Rezende et al. 2024) and potential mechanisms related to variability in the fertilization and reproduction of species (Malawey et al. 2019). When data on spermatozoa morphological characters are analyzed alongside other information, such as molecular data and external morphology, the results become consistent and reliable, enhancing our understanding or phylogenetic relationships (Gottardo et al. 2016; Tavares-Bastos et al. 2024).

Confocal laser scanning microscopy (CLSM), on the other hand, through natural or artificial fluorescence, has allowed even more accurate differentiation of insect anatomy, providing information about diversity, adaptation, and evolutionary relationships (Lee, Brown, and Monroe 2009), making it possible to visualize features from characteristic structural profiles (Zhang et al. 2013).

Regardless of the aforementioned possibilities and potentialities, there are still challenges, since insects such as flies and mosquitoes often have fragile bodies and structures (Sarwar 2020). The methodology commonly used to preserve specimens, where the insects are dried and mounted at room temperature, sometimes fails to maintain the integrity of their original characteristics and the conservation of morphological structures (e.g., loss of color, collapse of the integument) (author's observation). Another issue is the lack of reliable representation of morphological structures, which are often represented by schematically inaccurate and confusing drawings, especially regarding the genitalia of males (e.g., Metz and Thompson 2001; Borges and Couri 2009).

In insects, male genitalia is an essential morphological character for taxonomists, fundamental for differentiating closely related species (Eberhard 2019), as it shows great diversity and variability when compared to other insect body structures (Sinclair, Cumming, and Wood 1993; Sinclair, Cumming, and Brooks 2013). Likewise, spermatozoa and females can contribute to the understanding of insect phylogeny. After mating, sexually mature females retain these cells in specialized storage organs called spermathecae (Name, Pujol-Luz, and Bão 2010).

One group that represents a taxonomical challenge and could benefit from more reliable approaches to the preservation and representation of its structures is the family Syrphidae (Diptera). These flies constitute a speciose group with at least 7000 described species (Catalogue of Life 2024) and are highly diverse in morphology, comprising both large-bodied flies, and smaller, slender ones, such as those in the genus *Toxomerus* Macquart, 1855.

Moreover, syrphid flies can provide ecological services such as pollination when adults (Golding and Edmunds 2000; Feldman 2006; Jauker and Wolters 2008; Rader et al. 2009), and decomposition of plant matter when still immature. They can also be used as bioindicators (Gilbert 1993), and some species are of public health concern since they can cause Myiasis (Aguilera et al. 1999) and, when in degraded environments, act as mechanical vectors of pathogens (Francuski et al. 2011).

Despite the diversity and importance of Syrphidae, accurate species identification is challenging. It is dependent on chaetotaxy and the color patterns on the wings, abdomen, and thorax (Metz and Thompson 2001; Borges and Couri 2009), which are often damaged or lost with traditional methods of mounting and preservation. Additionally, the utilization of individual or combined microscopy techniques, while well established, is not commonly used for the processing of entomological samples, especially of syrphids (Harbach 1984; Metz and Thompson 2001; Mengual 2011), which are mostly described with illustrations and mounted with traditional methods.

Here we combine distinct microscopy techniques (SEM, TEM, and CSLM) to preserve and describe fragile structures. A species of the genus *Toxomerus* from the Syrphidae family was used as a model: it is a small, slender insect, with several specific and easily damaged morphological markers, such as abdomen coloration. Also, we present information on the structure and ultrastructure of the male genitalia of our model species.

2 | Materials and Methods

2.1 | Obtaining the Material

Flies of the species *T. politus* (Say, 1823), belonging to the Syrphidae family (Diptera), were chosen to demonstrate the applied techniques and their outcomes since they are flies with a fragile and delicate structure (as observed by the authors and Sarwar 2020).

Prior to this study, the specimens had been stored in 70% ethanol for approximately 5 years. They were collected in protected areas of Cerrado at the Emas National Park (Mineiros-GO) and Silvânia National Forest (Silvânia—GO), deposited at ZUFG (Zoological Collection of the UFG); and Fazenda Água Limpa (Brasília-DF), deposited at DZUB (Entomological Collection of the Department of Zoology of the University of Brasília). Species were identified using dichotomous keys (Metz and Thompson 2001; Marinoni, Morales, and Spaler 2007; Borges and Couri 2009).

2.1.1 | Dissection of Genitalia

The abdomens of the males ($n = 10$) were removed and placed in 10% KOH solution for 24 h at room temperature to whiten and eliminate soft tissue. The genitalia were then dissected and subsequently prepared for microscopy analysis.

The dissected and analyzed specimens were discarded and those that were not dissected were deposited in the DZUB collection.

2.2 | Comparison of Drying Methods

To compare outcomes of distinct drying methods with regard to the preservation of diagnostic morphological characters, specimens were mounted using entomological pins and dried either at room temperature or using part of the SEM protocol, with acetone dehydration and critical point drying (Gordh and Hall 1979).

Once they were completely dry, the flies were photographed using a Canon EOS Rebel T7 camera with a Canon EF 100 mm macro lens. The images were post-processed with Darktable software version 4.4.2. Focus stacking was done in Helicon Focus version 8.0.2.

2.3 | Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

The male genitalia were mounted on glass slides with glycerol and a coverslip. The samples were analyzed using a Laser Scanning Confocal Microscope, model TCS SP5 (Leica, Germany), equipped with lasers with the following wavelengths: 408, 488, and 594 nm. The autofluorescence signal was captured in 3 PMT channels with the following windows: blue (410–470), green (500–545), and red (600–720). The structures were analyzed using the $\times 10$ objective with a dry lens. Sequential images were obtained using the Z-stack and subsequently visualized using 3D projection.

2.4 | Scanning Electron Microscopy (SEM)

The male genitalia were fixed in Karnovsky solution (2% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde, 5 mM CaCl_2 , and 3% sucrose in 0.1 M sodium cacodylate buffer), pH 7.2, at 4°C for approximately 12 h. They were post-fixed for 1 h in 1% osmium tetroxide, and then dehydrated in an increasing series of

acetone (30%, 50%, 70%, 90%, and 100%) for 15 min each. The samples were dried in critical point equipment, model CPD 030 (Balzers, Liechtenstein) and metalized with gold with EM SCD 500 equipment (Leica, Austria). The analyses were carried out using a Jeol model JSM-7001F (Jeol, Japan) scanning electron microscope.

2.5 | Transmission Electron Microscopy (TEM)

Additionally, in an attempt to obtain better-preserved spermatozoa, spermathecae were used; so, the male testicles ($n = 10$) and female spermathecae ($n = 10$) were removed from flies previously stored in 70% alcohol and fixed in Karnovsky solution, pH 7.2, at 4°C for approximately 12 h. They were post-fixed for 1 h in 2% osmium tetroxide, 1.6% potassium ferricyanide in 0.2 M sodium cacodylate buffer, pH 7.2, then contrasted in a block in 0.5% aqueous uranyl acetate solution for 12 h, dehydrated in an acetone series (30%, 50%, 70%, 90%, and 100%), and embedded in Spurr resin.

The ultra-thin sections were cut using an ultramicrotome, model EM UC7 (Leica, Austria) contrasted in uranyl acetate and lead citrate, and afterward examined and photographed using a Transmission Electron Microscope, model JEM-1011 (Jeol, Japan) at 80 kV.

The electron microscopy protocols were adapted from De Souza (2015), Gracielle, Tidon, and Bão (2016), and Barros-Cordeiro, Pujol-Luz, and Bão (2021).

3 | Results

Specimens submitted to the SEM protocol (dehydration and critical point drying) maintained a high degree of morphological integrity when compared to specimens dried at room temperature or using drying ovens. The most delicate structures, such as the head and eyes, as well as the abdomen, were not damaged when subjected to critical point drying; likewise, the specimen's original coloration was also maintained (Figure 1B,D,F). Conversely, flies dried at room temperature underwent discoloration and their integument collapsed, which led to a shriveled appearance and alteration in several morphological characters (Figure 1A,C,E).

3.1 | Spermatozoa

Although the testicles and spermathecae had been taken from flies preserved in 70% alcohol, which could result in the deterioration of the tissues and cells, leading to some degree of degradation, it was still feasible to recover information about the spermatozoa morphology. The identification of some morphological features of the sperm ultrastructure, such as in the head (nucleus) and the tail (the centriole adjunct, the mitochondrial derivatives, and the axoneme) regions, was made using the TEM technique (Figure 2A,B). In addition, it was described how the transition from the head–tail region occurs with the insertion of the centriole adjunct.

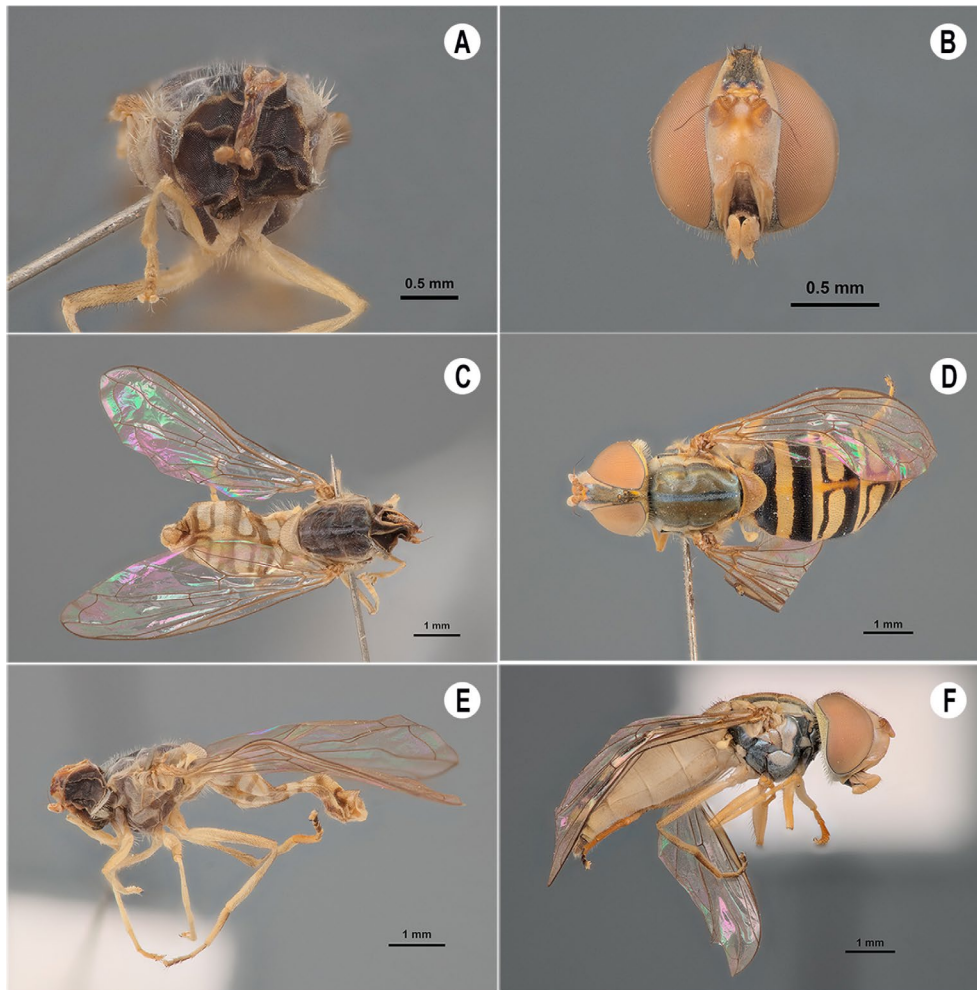


FIGURE 1 | Comparison between two drying methods of the *Toxomerus politus* specimens: At room temperature (A, C, and E) and using the critical point drying protocol (B, D, and F).

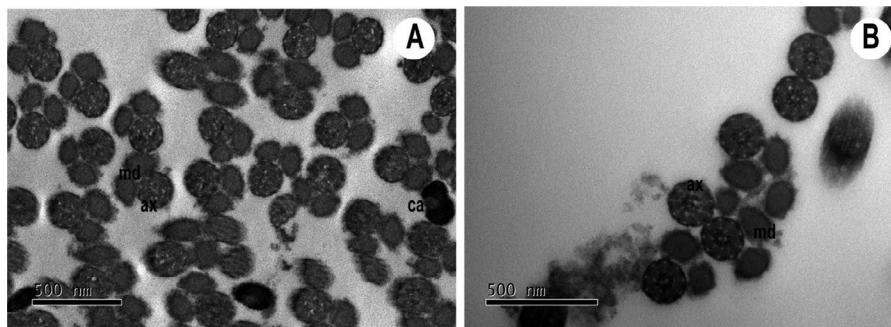


FIGURE 2 | Transmission electron micrograph of *Toxomerus politus* sperm. Images (A) and (B) shows the morphology of structures such as the mitochondrial derivatives (md), the axoneme (ax), and the adjunct centrioles (ca).

3.2 | Genitalia

The male genitalia were morphologically characterized using SEM, along with the adopted methodology. This allowed components such as the aedeagus, surstylus, cercus, and postgonite (Figure 3A–C) to be more prominently highlighted. It provided a more precise visualization of structural features, revealing ultrastructural information that is often unclear or inaccurately described with schematic drawings. Additionally, the presence

of bristles and sensilla in different parts of the genitalia was identified.

Additionally, the CLSM technique enabled the characterization of genital structures through cuticular autofluorescence, highlighting color differences and enabling the visualization of specific features such as the insertion of the aedeagus and other previously inaccessible internal structures. In CLSM, three-dimensional structures become translucent, revealing

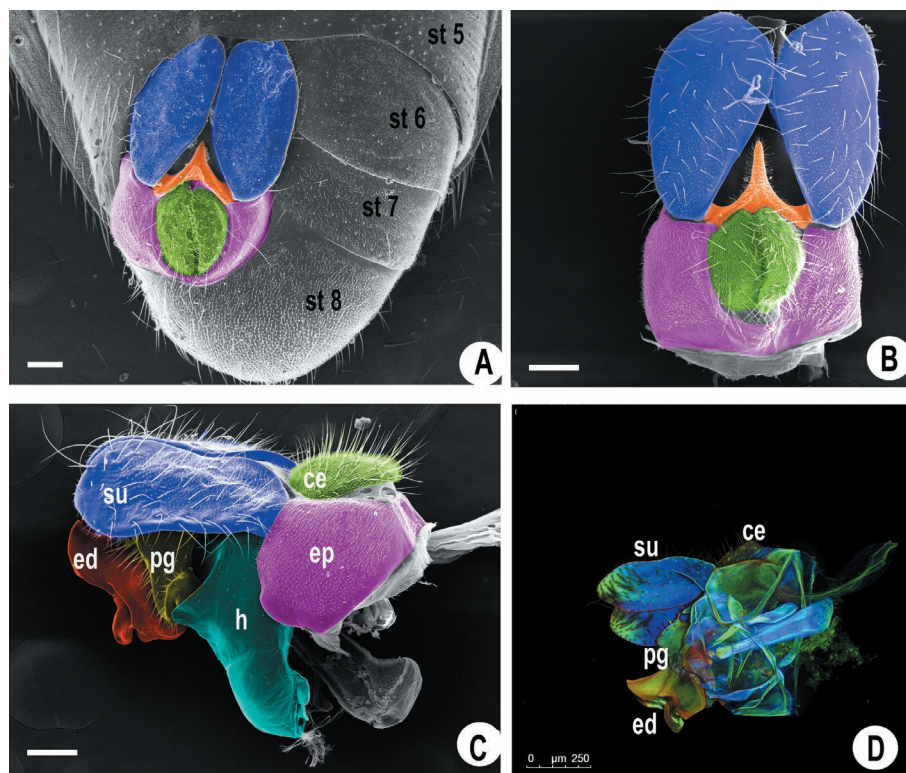


FIGURE 3 | Scanning electron micrographs of the genitalia of *Toxomerus politus* and its structures. The sternites (st) are visible. The surstylus (su) region is highlighted in blue, the cercus (ce) in green, the epandrium (ep) region in purple, the hypandrium (h) in light blue, the postgonite (pg) region in yellow, the triangular process in orange and the edeagus (ed) in red (A–C; SEM). In D (CLSM) it is possible to see the insertion of the aedeagus behind the postgonite and epandrium. Scale bar at 100 μm (A–C), 250 μm (D).

internal components hidden by external structures (such as the postgonite, epandrium, and hypandrium) that would otherwise require removal for observation (Figure 3D).

In 3D imaging using CLSM, this insertion can be clearly seen. The combination of both techniques (SEM and CLSM) enhances understanding of how internal structures interrelate and connect with each other.

4 | Discussion

One of the major problems faced by researchers in the fields of entomology and taxonomy is the preservation of insects' structure. They can be fragile, and the standard protocol for drying specimens is carried out at room temperature or in incubators. In studies involving syrphids, damaged specimens with poorly preserved morphological structures are frequently observed (e.g., Reemer 2010; Carvalho-Filho 2014; Miranda, Skevington, and Marshall 2020), but due to their significance in taxonomic studies, researchers make use of what can still be observed.

Critical point drying largely improved the overall specimen integrity, especially of delicate structures such as the eyes, head, and abdomen. The original coloration of the specimen was also maintained, which is a relevant factor, since color can be an important morphological character for the taxonomy of several insect taxa (e.g., Badejo et al. 2020; Cruz et al. 2021; Song et al. 2023).

While resource- and time-consuming, the critical point drying method could be worthwhile to produce at least a few specimens that will be more easily identifiable in the future, especially when describing new species and assigning type specimens. The method allows the sample to remain intact, preserving the characteristics of the living insect. In this way, they can be deposited in entomological collections for future analysis.

Moreover, the techniques used in this work to characterize *T. politus* male genitalia allowed important structures to be visualized more clearly than when using images and schematic drawings obtained with a stereomicroscope, such as those seen in Thompson (1981).

These techniques provide a more reliable source of comparison between species and thus expand the morphological data currently available in the literature, regarding the genitalia of this species. Similar analyses carried out on other species can also be found. In the work conducted by Samerjai et al. (2021), two species of flies belonging to the Sarcophagidae family were identified, based on morphological and morphometric variations relating to the cercus and juxta (structural features of the male genitalia).

Buenaventura and Pape (2018) used morphological data from male genitalia from the subfamily Sarcophaginae to accomplish a phylogenetic analysis, in which SEM was also used to visualize the morphological characters for comparison. By SEM technique, analysis of the morphological details of the genitalia of *Parasacophaga dux* (Thomson, 1869) (Sarcophagidae) (Chaiwong et al. 2007) allowed the distinction between this and

other species previously reported in the literature (Bänziger and Pape 2004).

In terms of the ultrastructure of spermatozoa, the literature traditionally reports the standard protocol of fixing the testicles immediately after dissection (Gracielle, Tidon, and Bão 2016; Malawey et al. 2019; Olazia et al. 2022), so that the structure of the spermatozoa is preserved. In studies that have analyzed the ultrastructure of insects, it was possible to characterize each of the morphological characters that compose the spermatozoa, thus providing a description and highlighting the morphological difference when comparing species (Name, Pujol-Luz, and Bão 2010; Gracielle, Tidon, and Bão 2016; Mercati et al. 2023).

Kotzé et al. (2019) compared the ultrastructure of the sperm of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Stratiomyidae) with other species of Diptera, revealing distinct features in the head region, overlap zone (posterior part of the nucleus), and anterior flagellar region.

The morphological difference found in the ultrastructural analysis of sperm can also contribute to a better understanding of the diversity of reproductive strategies in insects (Pitnick, Hosken, and Birkhead 2008; Malawey et al. 2019).

The possibility of recognizing and characterizing some of the morphological features of the sperm ultrastructure, obtained from the testicles of flies stored in 70% alcohol, as conducted in this study, should be seen as an achievement and powerful resource since, in some cases, there may be a very small amount of material available for analysis and/or even rare specimens.

Additionally, the CLSM technique provided a complementary and improved visualization/ identification of morphological structures, which are naturally overlapping and challenging to differentiate when using light microscopy alone, offering a sophisticated elucidation of *T. politus* genital morphology. It included the visualization of multiple focal planes which, when combined, enable the three-dimensional reconstruction of structures (Grzywacz et al. 2014).

Confocal laser scanning microscopy is still a tool rarely used in the morphological study of insects, but in the literature, we find studies demonstrating its importance in the morphological characterization of immature stages of Diptera (Grzywacz et al. 2014). For instance, Szpila et al. (2021) provided a morphological description of the cephalopharyngeal skeleton of first instar larvae. There are also other studies using CLSM for the three-dimensional reconstruction of insect exoskeletons (Zill et al. 2000; Klaus, Kulasekera, and Schawaroch 2009).

5 | Conclusion

Storing *T. politus* flies in 70% ethanol and drying them at the critical point enhanced the preservation of the specimens investigated, contributing to more reliable and detailed results regarding the structures and their morphologies evaluated.

The techniques used in this work presented specific and complementary results, identifying additional morphological characters, as shown through scanning electron and CLSM.

The techniques applied in this study can contribute to the fields of entomology and taxonomy. Although the use of SEM has already been reported in the literature as the best technique for the morphological study of insects, the literature does not provide comparative images showing these differences. Furthermore, this is the first work to provide a morphological description of the genitalia of *T. politus* via SEM and confocal microscopy and its sperm ultrastructure by TEM.

Author Contributions

Ingrid G. M. Silva: conceptualization (lead), formal analysis (lead), investigation (lead), methodology (lead), writing – original draft (lead). **Alexandre A. F. Souza:** methodology (equal). **Ariane P. Silveira:** methodology (equal), writing – original draft (supporting). **Karine B. Barros-Cordeiro:** conceptualization (equal), investigation (equal), methodology (equal), writing – review and editing (equal). **Welinton R. Lopes:** conceptualization (equal), investigation (equal). **Sonia N. Bão:** conceptualization (equal), investigation (equal), resources (lead), supervision (lead), writing – review and editing (lead).

Acknowledgments

We would like to thank the Zoology collection of the Universidade Federal de Goiás (UFG) for the flies collected.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The authors confirm that the data supporting the conclusions of this study are available in the article.

References

- Aguilera, A., A. Cid, B. J. Regueiro, J. M. Prieto, and M. Noya. 1999. "Intestinal Myiasis Caused by *Eristalis tenax*." *Journal of Clinical Microbiology* 37: 3082.
- Badejo, O., O. Skaldina, A. Gilev, and J. Sorvari. 2020. "Benefits of Insect Colours: A Review From Social Insect Studies." *Oecologia* 194: 27–40.
- Bänziger, H., and T. Pape. 2004. "Flowers, Faeces and Cadavers: Natural Feeding and Laying Habits of Flesh Flies in Thailand (Diptera: Sarcophagidae, *Sarcophaga* spp.)." *Journal of Natural History* 38: 1677–1694.
- Barros-Cordeiro, K. B., J. R. Pujol-Luz, and S. N. Bão. 2021. "A Study of the Pupal Development of Five Forensically Important Flies (Diptera: Brachycera)." *Journal of Medical Entomology* 4: 1643–1653.
- Borges, Z. M., and M. S. Couri. 2009. "Revision of *Toxomerus* Macquart, 1855 (Diptera: Syrphidae) From Brazil With Synonymic Notes, Identification Key to the Species and Description of Three New Species." *Zootaxa* 2179: 77.
- Buenaventura, E., and T. Pape. 2018. "Phylogeny, Evolution and Male Terminalia Functionality of Sarcophaginae (Diptera: Sarcophagidae)." *Zoological Journal of the Linnean Society* 183: 808–906.
- Callahan, P. S. 1975. "Insect Antennae With Special Reference to the Mechanism of Scent Detection and the Evolution of the Sensilla."

- International Journal of Insect Morphology and Embryology* 4, no. 5: 381–430.
- Carvalho-Filho, F. S. 2014. “Description of New Species of *Surimya* Reemer and *Carreramyia* Doesburg (Diptera: Syrphidae) From the Brazilian Amazon.” *Zootaxa* 3887, no. 1: 79–87.
- Catalogue of Life. 2024. “Annual Checklist.” Acesso agosto 08, 2024. <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2024/>.
- Chaiwong, T., K. L. Sukontason, U. Chaithong, J. K. Olson, H. Kurahashi, and K. Sukontason. 2007. “Male Genitalia of Flesh Fly Parasarcophaga (*Liosarcophaga*) *dux* (Diptera: Sarcophagidae) Revealed by Scanning Electron Microscopy.” *Journal of the American Mosquito Control Association* 23, no. 1: 80–83.
- Conford, M. E., W. A. Rowley, and J. A. Klun. 1973. “Scanning Electron Microscopy of Antennal Sensilla of the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*.” *Annals of the Entomological Society of America* 66: 1079–1088.
- Cruz, D. D., D. Denis, E. Arellano, and C. N. Ibarra-Cerdena. 2021. “Quantitative Imagery Analysis of Spot Patterns for the Three-Haplogroup Classification of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae), an Important Vector of Chagas Disease.” *Parasites & Vectors* 14: 90.
- De Souza, W., ed. 2015. *Técnicas de Microscopia Eletrônica Aplicadas às Ciências Biológicas*. 3ª ed. Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise. Rio de Janeiro: SBMM Press.
- Dey, S., R. N. K. Hooroo, and D. Wankhar. 1995. “Scanning Electron Microscopy Studies of the External Morphology of Sensilla on the Legs of a Butterfly, *Graphium sarpedon* (Lepidoptera—Papilionidae).” *Micron* 26: 367–376.
- Eberhard, W. G. 2019. “Genital Morphology and Behaviour.” In *Encyclopedia of Animal Behavior*, edited by M. D. Breed and J. Moore, vol. 2010, 430–434. Oxford: Academic Press.
- Farisenkov, S. E., D. Kolomenskiy, P. N. Petrov, et al. 2022. “Novel Flight Style and Light Wings Boost Flight Performance of Tiny Beetles.” *Nature* 602: 96–100.
- Feldman, T. S. 2006. “Pollinator Aggregative and Functional Responses to Flower Density: Does Pollinator Response to Patches of Plants Accelerate at Low Densities?” *Oikos* 115: 128–140.
- Francuski, L. J., I. Matic, J. Ludoski, and V. Milankov. 2011. “Temporal Pattern of Genetic and Phenotypic Variation of Epidemiologically Important Species *Eristalis tenax*.” *Medical and Veterinary Entomology* 25: 135–147.
- Friedrich, F., Y. Matsumura, H. Pohl, M. Bai, T. Hörnschemeyer, and R. G. Beutel. 2014. “Insect Morphology in the Age of Phylogenomics: Innovative Techniques and Its Future Role in Systematics.” *Entomological Science* 17: 1–24.
- Gilbert, F. S. 1993. “Hoverflies.” In *Naturalists Handbooks No. 5*, 2nd ed., 72. Slough, UK: Richmond Press.
- Golding, Y. C., and M. Edmunds. 2000. “Behavioural Mimicry of Honeybees (*Apis mellifera*) by Droneflies (Diptera: Syrphidae: Eristalis Spp).” *Proceedings of the Royal Society of London* 267: 903–909.
- Gordh, G., and J. C. Hall. 1979. “A Critical Point Drier Used as a Method of Mouting Insects From Alcohol.” *Entomological News* 90, no. 1: 57–59.
- Gottardo, M., R. Dallai, D. Mercati, T. Hörnschemeyer, and R. G. Beutel. 2016. “The Evolution of Insect Sperm—An Unusual Character System in a Megadiverse Group.” *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 54, no. 4: 237–256.
- Gracielle, I. M. S., R. Tidon, and S. N. Báo. 2016. “Structure and Ultrastructure of Spermatozoon in Six Species of Drosophilidae (Diptera).” *Tissue and Cell* 48, no. 6: 596–604.
- Grzywacz, A., T. Góral, K. Szpila, and M. J. R. Hall. 2014. “Confocal Laser Scanning Microscopy as a Valuable Tool in Diptera Larval Morphology Studies.” *Parasitology Research* 113: 4297–4302.
- Harbach, R. E. 1984. “A New Species of *Toxomerus* (Diptera, Syrphidae) From Brazil, With Notes on Three Related Species.” *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 86, no. 4: 840–844.
- Higginson, D. M. 2011. *Evolution of Complex Sperm Morphology. Biology—Dissertations*, 71. Syracuse, NY: Syracuse University.
- Jauker, F., and V. Wolters. 2008. “Hover Flies Are Efficient Pollinators of Oil-Seed Rape.” *Oecologia* 156: 819–823.
- Klaus, A. V., V. L. Kulasekera, and V. Schwaroch. 2009. “Three-Dimensional Visualization of Insect Morphology Using Confocal Laser Scanning Microscopy.” *Journal of Microscopy* 212, no. 2: 107–121.
- Kotzé, R. C. M., N. Muller, L. Du Plessis, and G. Van der Horst. 2019. “The Importance of Insect Sperm: Sperm Ultrastructure of *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly).” *Tissue and Cell* 59: 44–50.
- Lee, S., R. L. Brown, and W. Monroe. 2009. “Use of Confocal Laser Scanning Microscopy in Systematics of Insects With a Comparison of Fluorescence From Different Stains.” *Systematic Entomology* 34, no. 1: 10–14.
- Malaway, A. S., D. Mercati, C. C. Love, and J. K. Tomberlin. 2019. “Adult Reproductive Tract Morphology and Spermatogenesis in the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae).” *Annals of the Entomological Society of America* 112, no. 6: 576–586.
- Marinoni, L., M. N. Morales, and I. Spaler. 2007. “Chave de Identificação ilustrada para os gêneros de Syrphinae (Diptera, Syrphidae) de ocorrência no sul do Brasil.” *Biota Neotropica* 7, no. 1: 145–160.
- Mengual, X. 2011. “Black-Tie Dress Code: Two New Species of the Genus *Toxomerus* (Diptera, Syrphidae).” *Zookeys* 140: 1–26.
- Mercati, D., P. P. Fanciulli, P. Lupetti, and R. Dallai. 2023. “The Sperm Structure of the Diving Beetles *Stictonectes optatus* (Seidlitz, 1887) and *Scarodytes halensis* (Fabricius, 1787) (Dytiscidae, Hydrophorinae) With Evidence of a Spermatostyle in the Sperm Conjugation.” *Micron* 166: 1–15.
- Metz, M. A., and C. Thompson. 2001. “A Revision of the Larger Species of *Toxomerus* (Diptera: Syrphidae) With Description of a New Species.” *Studia Dipterologica* 8: 225–256.
- Miranda, G. F. G., J. H. Skevington, and S. A. Marshall. 2020. “New Generic Concepts for Orphaned Lineages Formerly Treated as Part of the Genus *Ocyptamus* Macquart, 1834 (Diptera, Syrphidae).” *Zootaxa* 4822, no. 2: 151–174.
- Name, K. P. O., J. R. Pujol-Luz, and S. N. Báo. 2010. “Structure and Ultrastructure of Spermatozoa of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae).” *Micron* 41, no. 7: 853–860.
- Olazia, K. P., J. S. Da Silva, G. S. S. Tonelli, and S. N. Báo. 2022. “Ultrastructural Analysis of Sperm From the Genus *Idarnes* (Hymenoptera: Chalcidoidea, Sycophaginae).” *Biocell* 46, no. 1: 275–283.
- Pitnick, S., D. J. Hosken, and T. R. Birkhead. 2008. *Sperm Biology: An Evolutionary Perspective*, 69–149. Amsterdam: Elsevier.
- Rader, R., B. G. Howlett, S. A. Cunningham, et al. 2009. “Alternative Pollinator Taxa Are Equally Efficient but Not as Effective as the Honey Bee in a Mass Flowering Crop.” *Journal of Applied Ecology* 46: 1080–1087.
- Ravi, R. T., M. R. Leung, and T. Zeev-Ben-Mordehai. 2020. “Looking Back and Looking Forward: Contributions of Electron Microscopy to the Structural Cell Biology of Gametes and Fertilization.” *Open Biology* 10: 1–11.
- Reemer, M. 2010. “A Second Survey of Surinam Syrphidae (Diptera): Introduction and Syrphinae.” *Tijdschrift voor Entomologie* 153: 163–196.
- Rezende, P. H., D. Mercati, P. Lupetti, and R. Dallai. 2024. “The Sperm Ultrastructure of *Spermophagus kuesteri* Schilsky, 1905 (Chrysomelidae,

- Bruchinae) and Considerations on the Relationships of Cucujiformia Superfamilies." *Micron* 181: 1–7.
- Samerjai, C., K. L. Sukontason, K. Sukontason, et al. 2021. "Ultrastructure of Male Terminalia of *Boettcherisca peregrina* and *Boettcherisca nathani* (Diptera: Sarcophagidae), Flesh Fly Species of Forensic Importance." *Acta Tropica* 224: 1–9.
- Sarwar, M. 2020. "Typical Flies: Natural History, Lifestyle and Diversity of Diptera." In *Life Cycle and Development of Diptera*, edited by M. Sarwar. London: IntechOpen.
- Sinclair, B. J., J. M. Cumming, and S. E. Brooks. 2013. "Male Terminalia of Diptera (Insecta): A Review of Evolutionary Trends, Homology and Phylogenetic Implications." *Insect Systematics & Evolution* 44: 373–415.
- Sinclair, B. J., J. M. Cumming, and D. M. Wood. 1993. "Homology and Phylogenetic Implications of Male Genitalia in Diptera—Lower Brachycera." *Entomologica Scandinavica* 24, no. 4: 407–432.
- Song, C., L. Wang, T. Lei, and X. Qi. 2023. "New Color-Patterned Species of *Microtendipes* Kieffer, 1913 (Diptera: Chironomidae) and a Deep Intraspecific Divergence of Species by DNA Barcodes." *Insects* 14, no. 3: 227.
- Stirling, J. W., and A. E. Woods. 2002. "Transmission Electron Microscopy: Diagnostic Applications." In *Theory and Practice of Histological Techniques*, edited by J. D. Bancroft and M. Gamble, 5th ed., 701–728. Edinburgh, London, NY: Churchill Livingstone.
- Szpila, K., K. Walczak, N. P. Johnston, T. Pape, and J. F. Wallman. 2021. "First Instar Larvae of Endemic of Australian Miltogramminae (Diptera: Sarcophagidae)." *Scientific Reports* 11: 2687.
- Tavares-Bastos, L., L. D. Cunha, F. G. R. França, et al. 2024. "Comparative Electron Microscopy Study of Spermatozoa in Snakes (Lepidosauria, Squamata)." *Micron* 182: 103637. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2024.103637>.
- Thompson, F. C. 1981. "The Flower Flies of the West Indies (Diptera: Syrphidae)." *Memoirs of the Entomological Society of Washington* 9: 200.
- Wootton, R. J. 1992. "Functional Morphology of Insect Wings." *Annual Review of Entomology* 37: 113–140.
- Zhang, D., X. H. Liu, X. Y. Li, M. Zhang, and K. Li. 2013. "Antennal Sensilla of the Green Bottle Fly, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae)." *Parasitology Research* 112: 3843–3850.
- Zill, S., S. F. Frazier, D. Neff, et al. 2000. "Three-Dimensional Graphic Reconstruction of the Insect Exoskeleton Through Confocal Imaging of Endogenous Fluorescence." *Microscopy Research and Technique* 48, no. 6: 367–384.