



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala

ANATOMIA E HISTOLOGIA DEL APARATO REPRO-
DUCTOR MASCULINO Y NEUROSECRECION EN
ONTHOPHAGUS GAZELLA (FABRICIUS) Y *CANTHON*
CYANELLUS CYANELLUS (LE CONTE) COLEOPTERA:
SCARABAEINAE

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

José del Carmen Benítez Flores

Los Reyes, Iztacala

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
ANTECEDENTES	1
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	11
DISCUSION	27
CONCLUSION	42
RESUMEN	43
FIGURAS y TABLAS	44
BIBLIOGRAFIA	63

A MIS PADRES Y HERMANOS
POR SUS ESFUERZOS.

A la M.enC. Imelda Martínez.
por su acertada dirección.

Al Dr. Gonzálo Halffter
por todas las facilidades
prestadas para la elabora-
ción del presente trabajo.

Al Dr. Richard Blume de College
Station Texas por las facili-
dades para obtener el mate-
rial de *Onthophagus gazella*.

A la Biol. Carmen Huerta
por proporcionarme el mate-
rial de *Canthon cyanellus* -
cyanellus (Le Conte).

Este trabajo se hizo en el Laboratorio de Embriología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas bajo la dirección de la M. en C. Imelda Martínez Morales y en colaboración con el Instituto de Ecología, A.C., y forma parte del proyecto para el estudio de la biología de Scarabaeinae dirigido por el Dr. Gonzálo Halffter.

ANTECEDENTES

Dentro de la familia Scarabaeidae suele agruparse a los *Aphodinae*, los *Geotrupinae* y los *Scarabaeinae* - los cuales presentan como característica más notable que basan su alimentación en la utilización de heces fecales principalmente de herbívoros. En estos grupos y principalmente en los *Scarabaeinae* se ha analizado la forma en que aprovechan el alimento y las consecuentes especializaciones a nivel del comportamiento reproductor y de la anatomía del sistema reproductor femenino (Heymons 1929, 1930, Halffter y Matthews 1966, Halffter y López - 1977, Halffter 1977, Halffter y Edmons 1979).

En los *Scarabaeinae* que es la subfamilia más estudiada, se supone que el hábito de coprofagia se adquirió tempranamente en su evolución y se establece que el enterramiento de estiércol para utilizarlo como alimento de larvas y adultos es una conducta que surge de la necesidad de protegerlo contra la desecación y el endurecimiento así como de la oviposición y posterior desarrollo de larvas de mosca. La necesidad de disponer rápidamente del estiércol ha dado como resultado que se desarrollen pautas diversas de comportamiento alimenticio de las cuales surgen distintas formas de nidificación (Halffter y Matthews 1966, Halffter y Edmons 1979).

En la actualidad se reconocen seis grupos de nidificación (Halffter 1977) que se diferencian entre sí por la forma en que la hembra y el macho manejan el estiércol para utilizarlo en la alimentación de adultos y larvas.

Onthophagus gazella (*Onthophagini*) pertenece al grupo I, cuya nidificación se caracteriza por la oviposición sobre una masa de alimento que se encuentra al fi-

nal de una madriguera previamente excavada; la cooperación entre los sexos es incipiente y la mayor parte de la actividad corre a cargo de la hembra; a esta forma de nidificación se le considera la más primitiva. *Canthon cyanellus cyanellus* (Scarabaeini :*Canthonina*) se sitúa en el grupo V, presenta una de las formas de nidificación más complejas y evolucionada, en esta especie la cooperación bisexual alcanza su mayor desarrollo. El macho y la hembra elaboran bolas de excremento y las ruedan hasta el nido, en una secuencia que se repite hasta que el nido posee de 2 a 6 bolas cada una con un huevo; la pareja permanece cuidando la progenie durante todo el desarrollo larval y pupal, hasta que ocurre la emergencia de la nueva generación.

En los grupos II, III, IV y VI se encuentran agrupadas especies con diferentes tipos de nidificación.

En los *Scarabaeinae* el alto grado de eficiencia reproductora que resulta de la conducta de nidificación está relacionado con una excepcional modificación a nivel del sistema reproductor femenino: existe solamente un ovario, el izquierdo que posee una sola ovariola, razón por la cual la mayoría de los investigadores consideran a la hembra como el elemento principal de estudio (Heymons 1929, 1930, Halffter y Matthews 1966, Halffter y López 1977, Halffter y Martínez 1980, Huerta, Anduaga y Halffter 1981)

Observaciones directas establecen claramente que el macho de muchas especies de *Scarabaeinae* participa activamente en el proceso de nidificación ayudando a la construcción y aprovisionamiento del nido. Se sabe además que la hembra sexualmente madura y virgen no nidifica, la que ha copulado prepara más bolas nido cuando se acompaña de un macho que aquellas que se mantienen so-

las y que la cópula desencadena la conducta de oviposición y nidificación (Halffter y Matthews 1966, Halffter y López 1977).

En los insectos el sistema reproductor masculino está constituido por dos testículos, cada uno de los cuales está formado por folículos testiculares cuyo número y arreglo varía dependiendo del grupo de que se trate. Cada testículo está conectado a un vaso deferente que suele presentar en su trayecto una o dos dilataciones que corresponden a las vesículas seminales. Los dos conductos deferentes desembocan en el bulbo eyaculador el cual posee en su interior el nacimiento del conducto eyaculador. Este forma en su porción distal el edeago el cual con frecuencia se asocia a un repliegue esclerosado del cuerpo que recibe el nombre de cápsula genital. Se presentan además uno o dos pares de glándulas que elaboran el líquido seminal (Williams 1945, Davey 1968, Dajoz 1972, Edmons 1974, Grassé 1977, Zunino 1971, 1978).

Histológicamente el folículo testicular presenta varias regiones: la del germario o zona de espermatogonias, la de espermatocitos, la de maduración y reducción y la de transformación (Ross, 1967). Las espermatogonias se asocian con frecuencia a una célula apical nutricia o de Verson a través de uniones protoplásmicas. Cuando una espermatogonia va a dar origen al espermatocito se separa de esta célula, se divide mitóticamente y constituye un cisto ó espermatocisto, el cual es una clona de células derivadas de una sola espermatogonia. En un cisto todas las células se encuentran en el mismo estado de desarrollo y evolucionan simultáneamente. De esta forma, en un folículo se pueden reconocer cistos de es-

permatocitos primarios, secundarios, de espermatídes y de espermatozoides (Maya 1969, Rossen and Runge 1977, - Dumser, 1980).

Respecto a la histología de los conductos, glándulas y vesícula seminal, se sabe que están constituidos por una cubierta epitelial interna de función secretora y por un número variable de capas musculares. Sus productos de secreción más importantes son mucopolisacáridos y polisacáridos que sirven para la elaboración del espermátforo o bien como fuente energética; se pueden producir además sustancias que estimulan la contracción muscular de algunas partes del sistema reproductor femenino para que los espermatozoides alcancen la espermateca (Davey 1968).

El sistema endócrino de los insectos está constituido por acúmulos de células neurosecretoras localizadas en diversas partes del sistema nervioso central, por las córpora cardíaca, las córpora alata y por las glándulas protorácicas. Las células neurosecretoras son el puente de comunicación entre el sistema nervioso y otros órganos endócrinos (Jolly 1968, Davey 1968, Highnam 1977).

Basándose en las diferentes propiedades tintóreas y en el aspecto morfológico, Nayar (Fraser 1978) ha reconocido cuatro tipos de células neurosecretoras a las que ha denominado A, B, C y D. En estas células se han detectado variaciones cíclicas en su afinidad por colorantes específicos. Estos ciclos pueden ser diurnos, estadales o cambiar con la edad una vez ocurrida la eclosión (Highnam 1977, Fraser 1978). Las sustancias producidas por estas células determinan el funcionamiento de órganos como la córpora alata, las glándulas protoráci-

cas, las glándulas anexas del aparato reproductor masculino y femenino (Jolly 1968), Dográ 1973, Highnam 1977), el ovario (Caussanel 1975) y el testículo (Davey 1968).

La córpora alata secreta la hormona juvenil, es un órgano activo durante la vida larvaria y la vida imago. En la hembra adulta elabora una hormona gonadotrófica que controla la acumulación de vitelo en el ovocito y la producción de éstos en el germario. En los machos se desconoce casi totalmente la acción que desempeña sobre el funcionamiento del sistema reproductor (Mordue 1965, Caussanel 1975), probablemente sus secreciones favorezcan la espermiogénesis (Engelmann 1970).

La córpora cardíaca es un órgano hemal donde se almacenan diversos productos de secreción producidos por el cerebro. Como órgano endócrino produce hormonas que controlan el ritmo cardíaco, peristaltismo y el equilibrio hídrico.

La actividad de las glándulas protorácicas ha sido asociada al control de las mudas, cuando la última muda ocurre, esta glándula degenera. Algunas evidencias sugieren que en los machos su actividad favorece la espermiogénesis (Davey 1968).

En *Scarabaeinae* se ha estudiado el aspecto morfo funcional del sistema reproductor femenino relacionándolo con la ecología, el comportamiento y el nivel evolutivo que presentan algunas especies (Halffter y Martínez, 1980, Halffter y López 1980, Halffter, Martínez y López, en preparación), sin embargo, estos aspectos no han sido estudiados en los machos y mucho menos relacionándolos con las variaciones de neurosecreción que se puedan presentar en la pars intercerebralis.

En el presente trabajo se estudia la anatomía y la histología del aparato reproductor masculino, en especial del testículo y el estado de neurosecreción en la pars intercerebralis durante la etapa reproductora de *Onthophagus gazella* y *Canthon cyanellus cyanellus*. Los resultados obtenidos se relacionan con el comportamiento reproductor.

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se hizo en machos de *Onthophagus gazella* y *Canthon cyanellus cyanellus* de edad y comportamiento reproductor conocidos.

Los datos de *Onthophagus gazella* se obtuvieron de individuos eclosionados en marzo de 1979 y mantenidos en terrarios en College Station Texas, U.S.A., los de *Canthon cyanellus cyanellus* provienen de colectas realizadas en Laguna Verde Veracruz, México, en julio de 1979; se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio en terrarios del Instituto de Ecología, A.C. El comportamiento reproductor, la edad y número de ejemplares utilizados para cada especie se resumen en las tablas anexas.

En cada ejemplar de ambas especies se hizo una microdissección al microscopio estereoscópico para obtener el sistema reproductor y se elaboraron esquemas para determinar su estructura anatómica. La fijación se hizo en laminilla con AFATD (alcohol 95%-formol-dimetil sulfóxido-ácido tricloroacético) según la técnica de Carayón (1969), se incluyeron en parafina-celoidina según Peterfi (1929) y se hicieron cortes seriados de seis micras: se aplicó en ellos la reacción de PAS (ácido peryódico-Schiff) seguida de una contratinción con hematoxilina de Heidenhain diferenciada con alcohol-pícrico.

El cerebro de cada ejemplar de las dos especies fue fijado *in situ* con formol salino, posteriormente se disecó bajo el microscopio estereoscópico y se elaboraron esquemas de su anatomía. También fueron procesados por una doble inclusión en celoidina-parafina según Peterfi y se hicieron cortes seriados de 6 micras.

Para el estudio de la neurosecreción se utilizó la técnica de Fucsina-paraldehído-hematoxilina de Groat-picro-indigo carmín (Gabe 1968).

Todos los cortes seriados del sistema reproductor y del cerebro de cada ejemplar fueron observados y analizados, los resultados obtenidos fueron relacionados con la edad, la estructura del testículo y el comportamiento reproductor en cada caso.

Las fotografías fueron tomadas en un fotomicroscopio III de Zeiss.

Onthophagus gazella (Fabricius)

No. de individuos	Edad	Comportamiento Reprodutor
2	Adultos sin emerger.	No hubo interacción con la hembra.
2	Recién emergido.	No hubo interacción con la hembra.
6	1-12 hrs. de emergido.	No hubo interacción con la hembra.
3	3 días de emergidos.	Con hembra.
2	4 días de emergidos.	Con hembra.
2	7 días de emergidos.	Con hembra.
1	11 días de emergidos.	Con hembra.
2	3 semanas de emergidos.	Con hembra.
2	Viejos.	Con hembra.

Canthon cyaneellus cyaneellus (Le Conte)

No. de individuos	Edad en días después de emerger (estimación)	Comportamiento reproductor
3	10-16	1. Nido con dos bolas, con huevo. 2. Nido con una bola, con huevo. 3. Nido con dos bolas, con huevo.
3	23-29	1. Nido con tres bolas. 2. Nido con una bola, con huevo. 3. Nido con dos bolas.
1	24-30	En cópula.
1	26-32	Nido con dos bolas, una con huevo otra con larva de primer estadio.
1	27-33	Inicio de rodaje juntos.
2	30-36	1. Nido con tres bolas, una con huevo, otra con larva de primer estadio y otra con larva de segundo estadio. 2. Nido con tres bolas, idem.
2	31-37	1. Nido con dos bolas, una con huevo otra con larva de segundo estadio. 2. Nido con tres bolas todas con huevo.
2	32-38	1. Copulando. 2. Nido con tres bolas, todas con huevo.
1	49-55	Nido con dos bolas, todas con larva de tercer estadio.
4	57-63	Nido sin bolas.
3	60-66	1. Nido con dos bolas, las dos con pupas. 2. Nido con una bola. 3. Nido con dos bolas, las dos con larvas de tercer estadio.
1	64-70	Nido sin bolas.
1	94-100	Nido sin bolas.

RESULTADOS

Tanto en *O. gazella* como en *C. cyanellus* el aparato reproductor masculino se sitúa en la cavidad abdominal exactamente por debajo del pigidio. Se localiza bajo el intestino en asociación con órganos como el cuerpo graso y tráqueas. En ambos casos está constituido por dos testículos, conductos eferentes, 2 conductos deferentes, dos vesículas seminales, un bulbo eyaculador o eyaculatorio, un par de glándulas accesorias y el órgano copulador.

La anatomía del sistema reproductor de ambas especies es semejante con respecto a su organización general, solo el número y forma de los folículos testiculares así como la estructura del órgano copulador difieren de una especie a otra (Fig. 1 A y B).

En *O. gazella* cada testículo posee doce folículos ovoidales de igual tamaño que se organizan en una masa más o menos esférica, mientras que en *C. cyanellus* se encuentran solo seis folículos esféricos por testículo.

En las dos especies estudiadas cada folículo testicular presenta un corto y delgado conducto eferente, a través del cual desemboca en forma independiente al conducto deferente que es de mayor longitud y diámetro.

El conducto deferente forma en la porción más próxima al testículo, una región que Edmons (1974) denominó epidídimo en *Coprophanaeus lancifer* debido al marcado plegamiento. Después de la región del epidídimo el conducto deferente se vuelve más o menos recto y desemboca en el eyaculatorio. La vesícula seminal se presenta como una ligera dilatación del conducto deferente.

El sistema reproductor posee además un par de glándulas accesorias de forma tubular que desembocan en el eyaculatorio, su terminación es ciega, y en su trayectoria presentan una dilatación sacular que no es aparente en todos los casos, esto parece depender de la edad del individuo y por lo tanto de su estado funcional.

El eyaculatorio es un órgano de estructura anatómica compleja, está formado por una bolsa de apariencia muscular en el interior de la cual se observa el conducto eyaculador que es ciego por un extremo y por el otro se continúa con el edeago. En *C.gazella* este conducto forma una asa, en tanto que en *C. cyanellus* se forman dos. En el eyaculatorio se mezclan los productos testiculares, los de la vesícula seminal, los de las glándulas accesorias y sus propias secreciones.

El órgano copulador de ambas especies está constituido por dos porciones: una cápsula genital y un edeago. La cápsula genital es una estructura altamente esclerosada que forma una cubierta sobre todo el órgano; se encuentra dividida en una falobase cilíndrica y en un par de parámetros laterales en posición anterior. La cápsula genital posee por debajo de su cubierta esclerosada una capa muscular hacia el centro de la cual se sitúa el edeago. La forma de los parámetros y su forma de articularse con la falobase sugiere que poseen cierta movilidad y que quizá participen en la cópula. El edeago se encuentra replegado en el interior de la cápsula genital y se asocia a algunos músculos que participan en la erección.

En la morfología externa del órgano copulador existe una característica que permite establecer diferencias bien claras entre ambas especies, los parámetros del órgano copulador de *C.cyanellus* son alargados y termi-

nan en punta, mientras que en *O. gazella* son cortos y con un extremo redondeado.

Por lo que se refiere al aspecto histológico del testículo, los conductos eferentes y deferentes, las glándulas y el eyaculatorio, se observaron modificaciones en el transcurso de la vida adulta, pero es en el testículo donde los cambios son más notables.

En *O. gazella* y *C. cyanellus* los testículos están formados por varios folículos, cada uno de los cuales puede considerarse como la unidad morfológica y funcional del órgano.

En ambas especies encontramos un tejido de recubrimiento que tiene características diferentes en cada especie.

En *O. gazella* el folículo testicular está recubierto por un epitelio plano simple en el que se localizan con frecuencia algunas traqueolas. Bajo este epitelio se reconoce una membrana basal (PAS positiva) de la cual se originan conjuntos gruesos de fibras que agrupan varios espermatozoides; estos conjuntos gruesos originan divisiones más finas que limitan cada cisto (Fig.2). Dentro de esta estructura reticular se reconocen pequeñas traqueolas que se originan de dos grandes tráqueas que penetran al folículo junto con el conducto eferente (Fig. 3A). En *C. cyanellus* la pared folicular es una elaborada barrera constituida fundamentalmente por: fibras, traqueolas y células (Fig.4). Las fibras son el elemento más abundante, suelen penetrar y forman al igual que en *O. gazella* las divisiones que separan los cistos y grupos de cistos. Distribuidas entre las fibras de la pared se observan traqueolas que se ramifican

y penetran paralelamente a las fibras, se sitúan también entre los límites císticos. Las células de la pared foliular son pequeñas, de núcleo muy condensado y se distribuyen homogéneamente entre fibras y traqueolas.

El interior del folículo testicular de ambas especies presenta ciertos rasgos anatómicos e histológicos - semejantes, de modo que puede establecerse un esquema general de la composición histológica.

El folículo presenta una polaridad bien marcada; el germario y el conducto eferente se localizan en extremos opuestos, el primero de ellos suele producir una pequeña protuberancia que forma la parte distal del folículo en tanto que el conducto eferente penetra por el extremo basal y suele introducirse aproximadamente hasta - las dos terceras partes de la longitud del folículo - (Figs. 3A y 3B).

El folículo suele presentar dos regiones histológicamente distintas: el germario y la zona de espermatocistos. El germario se caracteriza por poseer las espermatogonias que son células de núcleo esférico y citoplasma finamente granular (Fig. 5A). Estas se encuentran formando un acúmulo que permite distinguirlo de la región de cistos.

En el germario de las especies estudiadas podemos reconocer 2 tipos de espermatogonias: unas que se observan aisladas y sin aparente actividad mitótica y otras que se multiplican y forman un cisto, cuyas células después de crecer se transforman en espermatocitos primarios. Estos tipos de espermatogonias solo pueden reconocerse cuando la espermatogénesis es intensa.

Tanto en *O.gazella* como en *C.cyanellus* no existen elementos celulares somáticos en esta región.

La zona de espermatocistos se localiza por debajo del germario, sus células forman agrupaciones conocidas con el nombre de cistos. En los folículos de las especies estudiadas se presentan cistos de espermatocitos primarios, secundarios, de espermatídes y de espermatozoides (Fig.5) cuyo número y distribución varía dependiendo del estado de madurez.

Durante el proceso de maduración de los cistos se presentan una serie de cambios citológicos, hay una tendencia a la disminución del volumen celular conforme la espermatogonia se diferencia hasta espermatíde. El espermatozoide maduro no se incluye en este criterio, ya que su forma es radicalmente diferente de las anteriores, siendo precisamente la forma elongada la que permite distinguir los cistos de espermatozoides (Fig. 5E). La apariencia citoplásmica de la espermatogonia se mantiene igual en mayor o menor grado en el espermatocito primario; en el espermatocito secundario el citoplasma adquiere una apariencia más densa. En el núcleo de las células de la serie espermatogonia-espermatozoide se observa un grado cada vez mayor en la condensación de la cromatina, es decir, que la apariencia de cromatina dispersa observada en la espermatogonia en reposo, contrasta con aquella que presentan los espermatocitos, donde adquiere una mayor condensación hasta manifestarse como cromosomas cuando estas células sufren las divisiones meióticas. En la espermatíde la cromatina se condensa todavía más y llega a un máximo en el espermatozoide maduro donde adopta además una forma elongada.

El número de células presentes en cada uno de los cistos no se determinó, sin embargo, se observó que hay variaciones en el número dependiendo del cisto de que se trate.

En base al arreglo de las células en un espermato cisto es posible conocer su madurez, particularmente en el examen de estadios de espermiogénesis ya que durante este fenómeno las espermátides sufren un reacomodo que - permite el crecimiento del flagelo, la elongación del nú cleo y la compactación en paquetes espermáticos. Duran te este reacomodo las espermátides van adoptando arre - glos diferentes alrededor del cisto: inicialmente se si túan en la periferia y conforme van madurando sufren un proceso de convergencia para formar el paquete de esper matozoides (Fig.6).

En la zona de cistos se observan además dos tipos de células somáticas: unas libres entre los límites de los cistos o bien asociadas a cistos de espermátides o a las cabezas de los espermatozoides (Fig.7), parece ser - que estas células se asocian íntimamente a cistos de es permátides y espermatozoides y sólo cuando se logra esta asociación desempeñan una función nutricia, presentan - una respuesta intensa a la reacción de PAS; y otras que se encuentran en las cercanías del germario como dos pe queños acúmulos cuya apariencia y propiedades tintóreas son distintas a las de las células germinales y a las de las nutricias (Fig.7).

En ambas especies la composición histológica del folículo testicular presenta variaciones tan marcadas - que nos han permitido proponer la existencia de 4 esta - dios foliculares sucesivos, cada uno de los cuales puede asignarse a una etapa dada de la vida reproductora del adulto: juvenil, en espermatogénesis, en espermiogénesis y en degeneración.

El estadio juvenil se caracteriza porque el germa rio de estos folículos es pequeño, en él se observan -

exclusivamente espermatogonias las cuales están sumamente compactadas entre sí y aún cuando no hay un límite estructural su separación de la zona de cistos es bien clara. En las cercanías del germario es posible distinguir algunos cistos de espermátocitos primarios que no presentan figuras de división. Los cistos de espermátocitos secundarios son abundantes y ocupan sólo la región anterior por debajo del germario. Además de espermátocitos primarios y secundarios se pueden presentar algunos cistos de espermátides y los paquetes de espermatozoides - sin ser abundantes están representados por formas tanto apirénicas como eupirénicas.

En general la apariencia de estos folículos es de reposo, lo cual se confirma por la posición que guardan ambos tipos de espermátocitos, ya que si hubiera una continua producción de espermátocitos primarios la maduración sucesiva de éstos desplazaría a los secundarios hacia la región basal del folículo (Figs. 8A y B).

El estadio de espermatogénesis se caracteriza por un aumento general de tamaño del folículo. El germario aumenta de volumen debido fundamentalmente al crecimiento y actividad mitótica de las espermatogonias. En el germario y zonas adyacentes se pueden reconocer cistos de espermátocitos primarios que han iniciado la primera división meiótica.

Los cistos de espermátocitos secundarios son la forma predominante y muchos de ellos muestran imágenes propias de la segunda división meiótica. Los cistos de espermátocitos primarios y secundarios se sitúan hacia las partes periféricas y apicales del folículo llegando incluso a ocupar sobre todo los secundarios gran parte de la región central.

La espermiogénesis se observa claramente durante

esta etapa. Se presentan durante este estadio la mayor diversidad de formas que adoptan los cistos de espermátides durante su transformación a espermatozoide, aunque la morfogénesis final hasta espermatozoide no ocurre. Los escasos paquetes espermáticos representan solo formas eupirénicas (Figs. 8C y D).

Durante el estadio de espermiogénesis no existe aparentemente actividad mitótica ni meiótica; con frecuencia se observa que todos los elementos del folículo adquieren una basofilia más intensa. En el germario las espermatogonias se compactan entre sí dando una apariencia que recuerda al germario de un folículo juvenil. No ocurren en él divisiones mitóticas por lo que no hay producción de cistos primarios y los que existen son pocos, posiblemente remanentes de la proliferación anterior. Los cistos de espermocitos secundarios son abundantes aunque no tanto como los espermatozoides, su apariencia es semejante a aquellos presentes en la etapa de espermatogénesis, tienen una tendencia a perder la organización como cisto y se distribuyen en una estrecha franja de la periferia del folículo. Durante este estadio la totalidad de cistos de espermátides se transforman en paquetes espermáticos. Las transformaciones hasta espermatozoide maduro son rápidas y parece incluso que los cistos de espermátides evolucionan sincrónicamente ya que sólo en raras ocasiones se pueden reconocer estadios intermedios de maduración.

Los paquetes de espermatozoides completamente maduros son los más abundantes y ocupan la mayor parte del volumen folicular, presentan una apariencia que corresponde a diferentes estados funcionales: a) paquetes de espermatozoides que no han perdido su asociación con la célula apical nutricia, se considera un tipo de paquete

inmaduro; b) paquetes de espermatozoides que han perdido su asociación con la célula nutricia apical y que se mantienen unidos por una sustancia de tipo cementante - que presenta una reacción moderadamente PAS positiva; c) paquetes de espermatozoides que han perdido su asociación con la célula nutricia apical, la mayoría de los paquetes corresponde a este tipo.

Durante este estadio los paquetes de espermatozoides también se encuentran en el conducto eferente, el deferente, la vesícula seminal e incluso el bulbo eyaculatorio; lo que significa que los espermatozoides además de madurar, comienzan a ser expulsados del testículo y que el individuo está en plena etapa reproductora (Figs. 9A y B).

En el estadio de degeneración el germario tiende a desaparecer como región histológicamente definida debido a que sus células tienden a perder el estado de aglomeración llegándose a mezclar con las células de la región de cistos. La región de cistos se caracteriza por la presencia de formas inmaduras como cistos de espermatoцитos secundarios cuyo núcleo no evidencia actividad meiótica, su citoplasma presenta una basofilia intensa. Las células de estos cistos tienden a separarse y a permanecer aisladas, distribuyéndose hacia la periferia del folículo. También se encuentran aunque en menor grado, cistos de espermátides que también han adquirido una basofilia intensa.

En la parte central del folículo se observan gran cantidad de espacios en los cuales se encuentran flagelos, espermatozoides aislados, algunas células nutricias, algunos paquetes de espermatozoides y posiblemente el estroma reticular que limitaba los cistos. La imagen central del folículo es de un estado de degeneración y pic-

nosis.

No todos los folículos del testículo presentan el mismo grado de degeneración, en algunos la picnosis es bien clara en tanto que en otros el folículo sólo presenta ligeros cambios degenerativos (Figs. 9C y D).

A cada uno de los estadios de madurez establecidos se le puede asignar ciertos eventos conductuales de la vida reproductora del individuo. Los dos primeros, el juvenil y el de espermatogénesis, se presentan en individuos recién eclosionados podemos considerarlos como estadios preparatorios a la etapa reproductora propiamente dicha ya que en el testículo aún no existen paquetes espermáticos maduros, el individuo no interactúa con la hembra y no hay cópula. Durante el de espermiogénesis, el macho interactúa activamente con la hembra, es durante esta etapa cuando el folículo produce gran cantidad de paquetes espermáticos y en la que ocurre la cópula, su duración es prolongada. El cuarto estadio de desarrollo se observa en aquellos individuos que han terminado una etapa reproductora o que son viejos. La tabla 1 muestra estos resultados.

Respecto a la estructura histológica de los conductos eferente y deferente, las glándulas accesorias y el eyaculatorio, se puede decir que es la misma en ambas especies aunque suelen presentarse ligeras variaciones dependiendo del estadio folicular al que corresponden, el cambio más notable es en el incremento de la actividad secretora.

En el conducto eferente se distinguen dos porciones: una intrafolicular y otra extrafolicular que une el folículo con el conducto deferente. El conducto eferente intrafolicular está formado por un epitelio debajo

del cual existe una membrana basal; debido a su estrecha asociación con el folículo testicular esta parte del con ducto eferente presenta cuatro diferentes tipos de epite lio dependiendo del estadio en que se encuentre el folí culo (Fig.10).

Durante el estadio juvenil el conducto es sumamen te delgado y presenta una luz muy estrecha (Fig. 10A) el epitelio es cúbico simple y no se aprecia actividad se - cretora. El núcleo de las células presenta grandes acú - mulos de cromatina condensada y debajo del epitelio se - reconoce una tenue membrana basal.

Durante el estadio de espermatogénesis el conduc - to tiene una luz bien desarrollada y el epitelio adquie - re una apariencia cilíndrica de una sola capa. En el ci toplasma de las células epiteliales se reconocen granula - ciones PAS positivas y el núcleo posee una cromatina - dispersa en grumos discretos. En la porción apical del conducto las células proliferan y forman un tapón. Deb -ajo del epitelio existe una membrana basal (Fig.10B).

Durante el estadio de espermiogénesis el epitelio se transforma de cilíndrico simple a cúbico simple y es difícil reconocer límites celulares. La cromatina del nú -cleo de las células es condensada y la actividad secre - tora es escasa. El tapón que en el estadio anterior se lo -calizaba en la desembocadura del conducto desaparece, por lo que éste se halla totalmente abierto hacia la región de paquetes espermáticos. La membrana basal es bien re -conocible (Fig. 10C).

Durante el estadio degenerativo la luz del conduc -to se hace más estrecha y las células que la revisten ma -nifiestan cambios degenerativos: en el núcleo la roma -tina es muy condensada y en ocasiones éste es picnótico, el citoplasma es vacuolado y los límites celulares difu -

tos. La membrana basal es muy delgada o no existe (Fig. 10D).

El conducto eferente extrafolicular está constituído por un epitelio cúbico simple cuyas células presentan escasas granulaciones PAS positivas; debajo de él se encuentra una membrana basal bien desarrollada y en su porción más externa posee una delgada capa de músculo estriado. Esta imagen histológica presenta pocos cambios durante los estadios foliculares.

A pesar de que el conducto deferente presenta dos regiones: el epidídimo y el conducto deferente propiamente dicho, la histología es la misma en ambos. Están tapizados por un epitelio cilíndrico bajo cuyas células presentan finas granulaciones PAS positivas; debajo del epitelio se observa una capa de músculo estriado formada por una o dos células de grosor.

Cuando el folículo testicular está en espermiogénesis en la luz del conducto se observan: paquetes espermáticos, granulaciones y las células nutricias, estas últimas con gran actividad secretora (Fig.11).

En las glándulas tubulares accesorias se distinguen tres regiones cuya estructura epitelial refleja ciertas diferencias funcionales. En la terminación ciega de esta glándula el epitelio es cilíndrico bajo, sus células contienen un núcleo esférico con cromatina dispersa, bajo él se sitúa una gruesa membrana basal por fuera de la cual existe una cubierta de músculo estriado de una célula de grosor. En el lumen del conducto hay grandes acúmulos de secreción basófila (Fig.12A).

En la porción sacular de la glándula, el epitelio es plano y no muestra actividad secretora, sin empe -

bargo en el lumen se observa una acumulación muy densa de la secreción basófila producida en la porción ciega. Esta porción de la glándula parece servir como sitio de almacenamiento. Debajo del epitelio se observa también una membrana basal y una cubierta muscular (Fig.12B).

En la porción de la glándula donde desemboca al eyaculatorio el epitelio es simple y está formado por células cilíndricas sumamente altas con núcleo esférico en posición basal y un nucleólo excéntrico. Su actividad secretora parece ser escasa. Una característica notable del epitelio es que sus células tienen un borde libre, como si los complejos de unión estuvieran desplazados hacia la región medio superior de la célula (Fig.12C y D). La cubierta muscular aumenta de grosor en esta región, lo cual sugiere una función contráctil importante.

El eyaculatorio es saculiforme y en su interior se localiza el conducto eyaculador.

La bolsa que envuelve al conducto eyaculador está constituida básicamente por dos capas de músculo estriado que tienen continuidad con las del órgano copulador. La capa externa se dispone longitudinalmente mientras que la interna es circular. Entre las fibras musculares suelen observarse pequeñas traqueolas.

El conducto eyaculador tiene desde su inicio, en el extremo ciego, hasta el sitio donde se continúa con el edeago un revestimiento epitelial debajo del cual existe una membrana basal y una cubierta circular de músculo estriado de una o dos capas. El revestimiento epitelial es secretor, produce un material PAS positivo distinguible tanto en la porción apical de las células como en la luz del órgano. El epitelio sufre modificaciones importantes en el trayecto del conducto (Figs.13

y 14).

En el extremo ciego el epitelio es cilíndrico simple, sus células tienen un núcleo esférico con cromatina dispersa suele presentar un solo nucleólo. Este tipo de epitelio se mantiene solo en un corto tramo del conducto (Fig. 14A).

En la siguiente región las células epiteliales cilíndricas desarrollan en su extremo apical una proyección citoplásmica larga y puntiaguda sobre la cual se puede distinguir una tenue íntima cuticular. Este tipo de epitelio se encuentra hasta la región donde se origina el bulbo del conducto eyaculador (Fig.14B), al cual desembocan las glándulas accesorias; esta región tiene una organización compleja debido a las tortuosidades que presenta, el epitelio es simple pero adopta formas variadas que van desde el cúbico hasta el cilíndrico, las células presentan un íntima cuticular bien desarrollada que forma en algunos casos fuertes cerdas (Fig.14C). Los conductos deferentes se comunican también con el conducto eyaculador, pero no en la región del bulbo sino en una parte próxima al órgano copulador (Fig.13A).

El espacio entre la bolsa muscular y el conducto eyaculador es ocupado por un líquido que después de la fijación aparece como un fino retículo, en él se encuentran suspendidas células de tres tipos: unas muy abundantes en forma de huso y con núcleo ovoide (Fig.15A), otras poco abundantes y de mayor tamaño, de forma esférica, con contornos sinuosos, un citoplasma con finas granulaciones, un núcleo con un nucleólo (Fig.15B), y las terceras que son muy escasas cuya forma tiende a ser esférica con contornos irregulares, poseen hasta 3 núcleos, suelen presentar vacuolas y algunas granulaciones PAS positivas (Fig.15C).

Refiriéndonos a la anatomía del cerebro, en *O. galla* y *C. cyanellus* está formado por dos grandes lóbulos que corresponden al protocerebro, deutocerebro y tritocerebro. Se sitúa en la cabeza por encima del esófago y asociados a él se reconocen dos lóbulos ópticos, los ganglios frontal y subesofágico, dos córporas cardíaca y dos córporas alata. Las córporas cardíaca se comunican con el cerebro a través de dos pequeños nervios y a su vez se conectan con las córporas alata por un pequeño nervio (Fig.16).

En los cortes histológicos del cerebro de las especies estudiadas, se pudo observar una región anterior y dorsal: la pars intercerebralis. Esta región es una parte del protocerebro y está formada por neuronas de diversos tipos que suelen presentar granulaciones las cuales dan una reacción positiva a la fucsina-paraldehído.

En ambas especies las células neurosecretoras de la pars intercerebralis difieren entre sí por su tamaño, su número y por su actividad secretora.

Las células A son las más abundantes y en ellas se observan variaciones en la concentración de gránulos de secreción (Fig.17). Hemos podido establecer que estas variaciones están correlacionadas con la apariencia histológica del folículo testicular y la conducta reproductora.

En ejemplares en lo que el folículo testicular se encontraba en el estadio juvenil, las células de la pars intercerebralis contenían una elevada concentración de gránulos (++++). No hay indicios celulares de que éstos sean liberados. Durante esta etapa no hay contacto con la hembra.

En individuos en los que el folículo estaba en es permatogénesis los gránulos eran igualmente abundantes, aunque en pequeñas regiones del citoplasma se observaron espacios que bien pudieran indicar que están siendo liberados; la neurosecreción puede ir de (++++) a (+++). El individuo no tiene contacto con la hembra.

Los gránulos de neurosecreción de las células de la pars intercerebralis de individuos con testículos en espermiogénesis eran más escasos. Durante este estadio los gránulos aparentemente eran liberados. La cantidad de neurosecreción puede ir de (++) a (+). Durante esta etapa la cópula se lleva a cabo.

Durante el estadio de degeneración, los gránulos fueron muy escasos e incluso ausentes, (+) a (0) y los individuos no participaban en la reproducción.

En la Tabla 2 se relacionan los estadios foliculares y la conducta de las especies estudiadas.

DISCUSION

La anatomía del sistema reproductor masculino de *O. gazella* y *C. cyanellus* presenta una gran semejanza con la de *Coprophanaeus lanciifer* y la de *Scarabaeus semipunctatus*, hecha por Edmons (1974) Dajoz (1972). El sistema reproductor de las cuatro especies mencionadas difiere únicamente en características que son específicas para cada especie: la forma del órgano copulador y el número de folículos testiculares; la forma en que se relacionan el eyaculatorio, las glándulas anexas y los conductos deferentes es idéntica en ambas especies, y al parecer está adaptada para la formación del espermatóforo. El eyaculatorio presenta una morfología muy especializada y distinta de la que se encuentra en otros insectos.

Los folículos testiculares de *O. gazella* y *Canthon c. cyanellus* pueden ser catalogados de acuerdo con Virkki (Krause 1946) como esféricos o con tendencia a serlo. El mismo autor y Krause (1946) establecen además la existencia de folículos tubulares en algunas especies de Scarabaeidae y de Lepidópteros, los consideran primitivos y en ellos han descrito zonas de espermatocitos, de maduración y reducción y de transformación que se disponen en una secuencia próximo distal. En los folículos esféricos como el de las especies estudiadas se pueden reconocer las mismas zonas pero no con la disposición próximo-distal de los folículos tubulares sino más bien concéntrica, con las formas inmaduras hacia el exterior y las maduras hacia la parte central, aunque en los adultos no todas las zonas se presentan al mismo tiempo en un folículo individual. Según las afirmaciones de Bordas (1900), Virkki (1957) y Krause (1946) parece ser que los folículos esfé-

ricos como los de *O. gazella* y *C. cyanellus* sí representan una condición más evolucionada que la de los testículos tubulares.

En los Scarabaeinae el espermátóforo se forma en el bulbo del conducto eyaculador (Edmons 1974), para esto requiere de relaciones topográficas con otros órganos del sistema reproductor que participan en su formación y expulsión. En *C. lancifer* (Edmonds 1974), *S. semipunctatus* (Dajoz 1972), *Onitis alexis* (observación personal), *O. gazella* y en *C. cyanellus* existe un bulbo en el conducto eyaculador y el número, forma y sitio de desembocadura de las glándulas tubulares y conductos deferentes se presentan en la misma forma en cinco especies que pertenecen a 4 tribus de las 6 que forma la subfamilia. Parece ser que el eyaculatorio es una de las estructuras más especializadas del sistema reproductor masculino de este grupo.

Respecto a los parámetros del órgano copulador Edmons (1974) cita que la punta de éstos se enganchan en los pliegues vulvares de la hembra durante la cópula. En *O. gazella* y *C. cyanellus* los parámetros son diferentes, en otros coleópteros coprófagos como *C. lancifer* (Edmons 1974), *S. semipunctatus* (Dajoz 1972) y *O. alexis* (observación personal) también tienen diferente morfología. Se podría pensar que ha habido una evolución en el grupo que ha dado como resultado una estructura muy especializada característica para cada especie.

Una posible consecuencia de la forma esférica de los folículos testiculares y de la posición del conducto deferente de las especies estudiadas son los movimientos que tienen los cistos durante su diferenciación, al final de los cuales se encuentran situados en la de-

sembocadura del conducto eferente. Estos movimientos - son detectados mejor estudiando folículos en espermatogénesis, lo cual no significa que no se presenten en otros estadios de madurez folicular.

Se pueden considerar tres movimientos diferentes, sincrónicos y de intensidad variable (Fig.18). El primero es el alejamiento de los cistos desde el germario hacia la parte basal del folículo, el segundo desde la periferia hacia el centro y el tercero que va desde la entrada del conducto eferente hasta la desembocadura del mismo. Estos movimientos traen como consecuencia que - los estadios más jóvenes (cistos de espermocitos primarios y secundarios) se observen predominantemente en la vecindad del germario y hacia la periferia del folículo mientras que los estadios de espermiogénesis y los paquetes de espermatozoides se localicen hacia la parte basal y central del folículo cerca de la desembocadura del conducto eferente.

Krause (1946) describió el movimiento de los cistos en el testículo de *Passalus cornutus* y señala además la existencia de una región de tejido somático en forma de media luna situada por debajo del germario, su función sería la de no permitir que los cistos jóvenes ocupen zonas centrales del folículo y puedan llegar a la desembocadura del conducto eferente. En las especies estudiadas no se reconoció tejido somático de este tipo, pero suponemos que el tapón folicular del conducto eferente desempeña una función similar.

La envoltura del folículo testicular es distinta histológicamente en ambas especies, aunque en los dos casos hay continuidad entre la pared y el interior a través de elementos fibrilares.

La pared folicular del testículo de *C. cyanellus* es semejante a la que se encuentra en muchos insectos. - Rossen y Runge (1977) han sugerido que las células que la forman podrían jugar un papel importante en la regulación de la diferenciación de las células germinales, sugieren que los factores hormonales presentes en la hemolinfa pueden ser incorporados al interior del folículo.

El tipo de cubierta presente en el folículo de *O. gazella* parece ser un tipo menos común aunque sus funciones podrían ser las mismas.

La población celular de los germarios observados en cualquier estadio del adulto de *O. gazella* y *C. cyanellus* parece estar formada exclusivamente por espermatogonias, puesto que las células presentan una estructura morfológicamente semejante. La ausencia de células somáticas de Verson o su equivalente en el germario de las dos especies estudiadas plantea un problema acerca del origen de las células somáticas nutricias que se presentan en la región de cistos ya que éstas se originan de la de Verson o su homóloga (Rossen y Runge 1977). Es muy probable que en el germario de los folículos testiculares de *C. cyanellus* y *O. gazella* existan células somáticas de Verson o su equivalente y que degeneren durante el estado larvario o pupal pero que antes de hacerlo den origen a las células somáticas nutricias. Los fenómenos de degeneración de estas células ocurren normalmente en Lepidópteros, Ortópteros y Dípteros (Rossen y Runge 1977, Maya 1969).

Respecto a las células somáticas de la región de cistos, Virkki (1957) señala que los folículos del género *Onthophagus* carecen de tejido somático, sin embargo parece que este autor se refiere a la ausencia de una acumulación densa de este tipo de células que con fre -

cuencia se presenta en otros Coleópteros (Krause 1946, Virkki 1957). Nosotros hemos observado en *O. gazella* y en *C. cyanellus* tejido somático representado por células nutricias aisladas y dispersas entre los cistos.

Pensamos que las células somáticas nutricias después de haber sido distribuidas en la zona de cistos entrar en un período de inactividad y son difíciles de reconocerse; en el estadio juvenil no fueron observadas y durante el estadio de espermatogénesis aparentemente se activan, empiezan a crecer y a desempeñar su función nutritiva asociándose preferentemente a espermatidas y espermatozoides; durante el estadio de espermiogénesis se hipertrofian, acumulan gránulos PAS positivos y suelen ser expulsadas por el conducto eferente hasta el conducto deferente, sitio en el cual aún se reconoce una notable respuesta PAS positiva.

Rossen y Runge (1977) han descrito las células nutricias en muchas especies de insectos y las sitúan rodeando cada espermatocisto; Krause (1946) y Virkki (1957) las han descrito como acúmulos de tejido somático en *Passalus cornutus*, *Copris lunaris*, *Geotrupes stercorosus* y *G. Mutator*. En *O. gazella* *C. cyanellus* las hemos observado distribuidas entre los cistos en todo el folículo.

Esta disposición de las células cuya eficiencia alimenticia debe ser variable es la responsable de que los folículos de los diferentes grupos de insectos desarrollen elementos accesorios a la nutrición como los elementos fibrosos nacidos de la pared del folículo que permiten una fácil difusión de nutrientes hacia espermatocistos sin célula nutritiva, o los septos (Virkki 1957) que también aumentan la eficiencia de nutrición.

Las células basófilas aparentemente somáticas -

que se encuentran en ambas especies en la región de cistos inmediatamente vecina al germario tienen la misma -
 apariencia en los 4 estadios foliculares. Virkki (1957) -
 reporta en *Potosia cuprea* (Coleóptera: Scarabaeidae) -
 " dos agrupaciones densas" que no son morfológicamente -
 iguales a las de *O. gazella* y *C. cyanellus* pero tienen -
 la misma localización, este autor señala para *P. cuprea* -
 que pueden tener relación con la iniciación de la meiosis, en nuestro caso no sabemos si se les puede asignar la misma función.

En *O. gazella* y en *C. cyanellus* los cistos están limitados solamente por elementos fibrilares nacidos de la pared folicular; lo más probable es que los cistos -
 jóvenes (espermatoцитos primarios y secundarios) se nutran de sustancias presentes en los límites fibrilares del cisto los cuales dan una respuesta PAS positiva.

Los cistos de espermatoцитos primarios y secundarios de *O. gazella* y *C. cyanellus* presentan en términos generales las mismas características que han sido reportadas para otros insectos, en ambos casos se trata de -
 una clona y aunque no fueron observadas conexiones intercelulares es posible que exista un estado sincitial entre las células germinales como suele presentarse en muchos insectos (Rossen y Runbe 1977), estos mismos autores afirman que dicha unión intercelular se pierde cuando ocurre la transformación a espermátide.

Las espermátides en los cistos de las especies -
 estudiadas adquieren arreglos especiales (Fig.6) como -
 resultado del crecimiento del flagelo, la elongación de la cabeza y la compactación para formar un paquete de -
 espermatozoides. De estos fenómenos es bien conocido -
 que los 2 primeros resultan de procesos morfogénéticos regulados por un programa genético de la célula, pero -

la compactación y sobre todo la sincronía en el desarrollo de las células pensamos que son el resultado de - otros factores. Dumser (1980) reporta en *Scatophaga stercoraria* (Diptera) y en *Pterostichus nigrata* (Coleoptera) que la actividad de los corpórea alata o extractos de hormona juvenil pueden desempeñar un papel importante en el proceso de compactación, pensamos que el proceso de compactación si bien puede estar regulado hormonalmente, las células nutricias pueden jugar un papel - importante puesto que solo a partir del estado de espermatide es cuando los cistos parecen iniciar su asociación con esta célula.

Frielande y Wharman (1966) han demostrado en el testículo de Neuropteros que la diferenciación de la espermátide es un fenómeno independiente de la meiosis y que puede ocurrir espontáneamente. Pensamos que para *O. gazella* y *C. cyanellus* solo la diferenciación temprana de la espermátide pudiera ser espontánea y que los pasos finales de elongación y compactación de las cabezas parecen depender de algún factor fisiológico presente - solamente durante el estadio de espermiogénesis, esto - explicaría la existencia de abundantes cistos de espermátides con núcleo esférico no compactado que se presentan en el folículo en espermatogénesis.

En los insectos se pueden distinguir varios tipos de espermatozoides: los eupirénicos que tienen un contenido cromosómico normal, su forma corresponde a la de espermatozoides con cabeza alargada, flagelo y suelen organizarse en paquetes; los oligopirénicos y los apirénicos cuyo contenido cromosómico es anormal, que pueden carecer de cabeza y no forman paquetes. Las formas apirénicas se encontraron solo en el estadio juvenil, este fenómeno puede indicar que durante el estadio larvario

y/o pupal existe actividad testicular cualitativamente - distinta a la que se presenta en el adulto que ha emergido. Durante el estadio juvenil se encontraron además espermatozoides eupirénicos, en los estadios subsecuentes (espermatogénesis y espermiogénesis) sólo se presentan - las formas eupirénicas. Pensamos que estos hechos son indicadores de que la regulación testicular en los estadios previos a la emergencia es diferente a la que se - presenta en el adulto.

En el estadio de degeneración no se observaron espermatozoides en ninguna estructura del sistema reproductor lo que hace pensar que el semen ha sido transferido a la hembra.

En los estadios juvenil, de espermato y espermiogénesis todos los folículos del testículo tienen la misma composición histológica, sin embargo, en el degenerativo los folículos de un testículo son distintos en cuanto al grado de degeneración.

Jaroslav (1978) ha encontrado que larvas y pupas de *Agonum assimile* (Coleóptera) hay actividad testicular, pensamos que el estadio juvenil encontrado en las - dos especies estudiadas es el reflejo de las actividades testiculares que ocurrieron en los estadios larvales y/o pupales. Esta actividad previa parece necesaria para - llevar al testículo a la condición juvenil que se presenta en el adulto recién emergido, determina la estructura histológica y el funcionamiento del folículo testicular después de la emergencia.

En el estado de espermiogénesis hemos observado - que hay una transformación masiva de espermátides a paquetes de espermatozoides, pensamos que esta oleada resulta de un factor externo de tipo hormonal que desencadena además la conducta sexual de *O. gazella* y *C. cyanellus*. Existen suficientes evidencias que apoyan esta

suposición, Dumser (1980) reporta para *Draculacephala crasicornis* que la hormona juvenil es la responsable de la conducta de apareamiento y que tiene además un efecto acelerador sobre la espermiogénesis. Fngelmann (1970) afirma que en el macho la alatectomía afecta la maduración sexual, la conducta sexual, la cópula e impide la aparición de caracteres sexuales secundarios.

El estadio de espermatogénesis es una etapa en que el folículo adquiere un tamaño notable debido a los procesos mitóticos y meióticos que en él ocurren. Una característica notable de este estadio es que hay una gran acumulación de espermatocitos secundarios. Dumser (1980) ha analizado el fenómeno de acumulación de espermatocitos y afirma esta acumulación es una consecuencia inevitable de la diferente cinética de división de espermatogonias y espermatocitos: la división mitótica de las espermatogonias es más rápida que la división meiótica de los espermatocitos, esto trae como consecuencia que el comportamiento de espermatocitos se amplíe. Dumser no descarta la posibilidad de que tal acumulación resulte de un bloqueo meiótico semejante al dictióteno del ovocito. En las especies que estudiamos no se hicieron registros de los aspectos de cinética de división pero la explicación de Dumser bien puede ser válida para el caso de *O. gazella* y *c. cyanellus*.

Las neurosecreciones pueden desempeñar un papel importante para llevar al folículo juvenil a un estado de espermatogénesis, pero no sabemos si su efecto es directo o a través de otro órgano. Pensamos que la acción de las neurosecreciones u otro factor desencadenado por ellas es básicamente a nivel del germario pues la espermatogonia es la célula que hay que estimular para que se origine el resto de células de la línea germi

nal. Dumser (1980) establece que una vez que la espermatogonia inicia la mitosis, el número de divisiones espermatogoniales y su posterior diferenciación en espermátides no es modificado por ningún factor, a este proceso lo denomina autodiferenciación secuencial.

Rossen y Runge (1977) han analizado el proceso de degeneración de las células germinales y han establecido que es un fenómeno ampliamente distribuido en los animales, dentro de los insectos lo reportan para algunos Coleópteros. Dumser (1980) hace un análisis más exhaustivo, específicamente en insectos y establece que los procesos de degeneración testicular pueden estar programados genéticamente a través de una capacidad mitótica limitada de las espermatogonias las cuales cuando se diferencian a espermátocitos agotan la fuente de células germinales; afirma que el aspecto de degeneración no solo es debido a estos fenómenos de senescencia programada sino que también se asocian al proceso de diapausa.

En *C. cyanellus* sabemos que el proceso de degeneración se presenta durante el cuidado del nido y por otra parte se conoce que durante una temporada una pareja puede nidificar varias veces. Desconocemos si el folículo testicular pueda recuperarse y presentar durante cada nidificación, todos los estadios de madurez folicular.

Pensamos que el proceso degenerativo es una condición final y que probablemente se debe a la capacidad mitótica limitada de las espermatogonias, debido a ésto no es raro que durante la degeneración el germario desparezca como entidad histológicamente reconocible. Suponemos que puede ser una condición final ya que del testículo no solo son eliminadas las células germinales, sino también las células somáticas que nutren las espermátides y los espermatozoides las que puedan quedar ca-

recen de capacidad mitótica (Rossen y Runge, 1977).

La degeneración es un fenómeno dependiente de varios factores entre los cuales el factor hormonal parece ser el más importante Dumser (1980) afirma que la degeneración testicular ocurre cuando los niveles de ecdysona son bajos.

En *O. gazella* y *C. cyanellus* los conductos deferentes, el eyaculatorio y sobre todo las glándulas tienen función secretora, su máxima actividad la observamos cuando el folículo testicular está en espermiogénesis. Pensamos que las secreciones pueden ser de dos tipos: unas de función energética producidas en el conducto deferente por las células nutricias expulsadas y en el eyaculatorio; son desde moderada a fuertemente PAS positivas; reacción que evidencia carbohidratos o porciones azucaradas conjugadas con otros elementos (proteínas), las otras estarían relacionadas con la formación del espermátforo y se producen en las glándulas tubulares, son probablemente de naturaleza ácida y no parecen tener ningún elemento glucídico, son PAS negativas.

El hecho de que la espermiogénesis coincida con la actividad glandular máxima sugiere que un mismo factor controla ambos fenómenos. Highnam (1977) afirma que en muchos insectos el crecimiento y desarrollo de las glándulas accesorias está controlado por los corpórea alata.

El conducto deferente tiene en ambas especies una vesícula seminal poco desarrollada. Esta reducción parece estar relacionada con la presencia de células expulsadas desde el folículo testicular, las cuales se localizan a todos los niveles del conducto deferente. Son células altamente secretoras y expulsan sus granulaciones

para nutrir los paquetes espermáticos sin asociarse directamente a ellos y sin que se desarrolle un órgano especialmente adaptado para la nutrición y almacenamiento de espermatozoides.

La estructura histológica del eyaculatorio coincide con la descripción de Edmons (1974) para *Coprophanaeus lancifer*. Pensamos que su elaborada estructura resulta de las múltiples funciones que desempeña, está adaptada para una función secretora, para permitir la mezcla de secreciones provenientes de otros órganos, para aumentar de volumen ante la acumulación de un producto (el espermátforo) y para desempeñar una función propulsora importante para la expulsión del espermátforo.

La íntima cuticular presente en el epitelio del conducto eyaculador tiene relación con la formación de un espermátforo (Edmons 1974, Gundevia y Ramamurty 1977).

En los cerebros de *O. gazella* y *C. cyanellus* solo fueron estudiadas las secreciones basófilas de las células A de la pars intercerebralis; se sabe que su actividad puede ser tomada como un parámetro preciso que refleja la actividad gonadal (Joly 1968, Highnam 1977, Caussanel 1973). Es bien conocido que experimentos de cauterización dan como resultado individuos que no muestran conducta reproductora (Engelmann 1970) y no debe descartarse que otros órganos endócrinos cuya actividad depende de la pars intercerebralis, puedan tener acción sobre el testículo, como serían los córpora alata. Tampoco deben pasarse por alto otros órganos como los ganglios ventrales de la región posterior del abdomen que han sido poco estudiados pero que contienen células neurosecretoras cuyos productos probablemente tienen in -

fluencia sobre el testículo (Davey 1968). Nuestros resultados de neurosecreción se basan en lo que Highnam (1977) ha establecido: " la apariencia de gran acumulación de gránulos se asocia a una escasa actividad sobre los órganos blanco".

En el estadio juvenil la neurosecreción no ha sido liberada, la función testicular probablemente no está controlada por las células de la pars intercerebralis. - Engelmann (1970) reporta que en el estado pupal de muchas especies la córpora alata es inactiva. Si la córpora alata es inactiva consecuentemente la pars intercerebralis no libera secreciones. Si la conducta reproductora es dependiente de la pars intercerebralis y los córpora alata (Joly 1968, Engelmann 1970, Highnam 1977), no es sorprendente que el individuo no tenga contacto con la hembra.

Los estadios de espermatogénesis y espermiogénesis marcan el inicio de la liberación de gránulos de neurosecreción por lo tanto la acción directa o indirecta sobre la gónada. Si las secreciones liberadas actuarán sobre los órganos endócrinos dependientes de la pars intercerebralis quienes se activan, poco durante la espermatogénesis y probablemente a un máximo durante la espermiogénesis.

Durante la etapa de espermatogénesis sabemos que *O. gazella* y *C. cyanellus* no tienen contacto con la hembra y por otro lado se sabe que los córpora alata controla la conducta sexual (Joly, 1968, Highnam 1977), Engelmann 1970, Dumser 1980), por lo que podemos pensar que si bien los córpora alata pudieran haber sido activados no liberaron su producto.

En el estadio de espermiogénesis no podemos establecer si hay acción directa sobre el testículo pero sí

podemos suponer que órganos como los córpora alata son - activos pues se desencadenan los procesos conductuales - de reproducción, las glándulas del sistema reproductor - son muy activas y se producen grandes volúmenes de esper_umatozoides.

Durante el proceso de degeneración testicular las células de la pars intercerebralis no muestran gránulos de secreción, dicha ausencia no significa necesariamente que el folículo testicular esté totalmente fuera de control. Como no disponemos de datos de la actividad de - los córpora alata no podemos afirmar si en *O. gazella* la inactividad de este órgano es lo que provoca la ausencia de una conducta reproductora y por otro lado que en *C. cyanellus* los córpora alata activos sean los que mantienen la conducta de cuidado del nido.

Respecto de la composición histológica del folículo testicular de *O. gazella* y *C. cyanellus*, las variaciones que llegan a presentarse no afectan la estructura - más importante: la organización cística. El conocimiento de la organización histológica es un paso inicial para la elaboración de planteamientos más profundos que - tiendan sobre todo a aclarar ciertos aspectos de la regulación testicular de la cual, lo conocido es incompleto. Los aspectos del conocimiento histológico del testículo serán siempre incompletos si no se conoce su evolución - ontogenética por lo tanto es necesario conocer más acerca del testículo larval y pupal así como del estado de - degeneración.

Es importante el establecimiento de estadios de

madurez gonadal ya que suministran un esquema de referencia útil cuando se relacionan con la conducta reproductora y cuando se contemplan desde el punto de vista del control hormonal de la función testicular. Los estudios que como el nuestro son comparativos, pueden ser utilizados además para conocer la edad de un individuo. Del estudio de la neurosecreción cabe mencionar que el análisis aislado de la actividad de la pars intercerebralis solo dá un panorama muy reducido de su función reguladora, es necesario estudiar todos aquellos centros endócrinos que hasta la fecha se sabe que tienen acción sobre el testículo: córpora cardíaca, córpora alata y glándulas protorácicas.

CONCLUSIONES

En base a nuestros resultados y lo que se conoce podemos afirmar que la organización anatómica del sistema reproductor masculino es la misma para todos los *Scarabaeinae*. Solo la forma y número de los folículos testiculares así como la anatomía del órgano copulador permiten distinguir una especie de otra.

La estructura histológica del testículo de *O. gazella* y *C. cyanellus* aunque tiene ciertos rasgos que permiten distinguirlos, tienen en común que las células germinales están organizadas en un cisto y que de acuerdo con el estado de desarrollo del cisto, la abundancia de cada uno y su distribución principalmente; se pueden establecer cuatro estadios de maduración gonadal, de los cuales dos se presentan antes de la cópula, otro durante la cópula, y el último durante la nidificación en el caso de *C. cyanellus* ó cuando el individuo ya no participa en la reproducción que es el caso de *O. gazella*.

Las células de la pars intercerebralis presentan durante los estadios de madurez gonádica variaciones en su contenido de gránulos de secreción. Estos gránulos tienen cuando menos indirectamente un efecto regulador sobre el funcionamiento testicular y la conducta reproductora.

RESUMEN

Se describe la estructura anatómica e histológica del sistema reproductor masculino en particular del testículo de *Onthophagus gazella* (Fabricius) y *Canthon cyanellus cyanellus* (Le Conte)

Se analizan los cambios testiculares a nivel histológico, así como las variaciones en neurosecreción de las células de la pars intercerebralis y se relacionan con el comportamiento reproductor.

Los resultados obtenidos son similares en ambas especies.

Se establece que para cada estadio de madurez testicular, propuestos en el presente trabajo, corresponde una cierta concentración de neurosecreciones en las células de la pars intercerebralis y un determinado comportamiento reproductor.

FIGURAS
Y
TABLAS

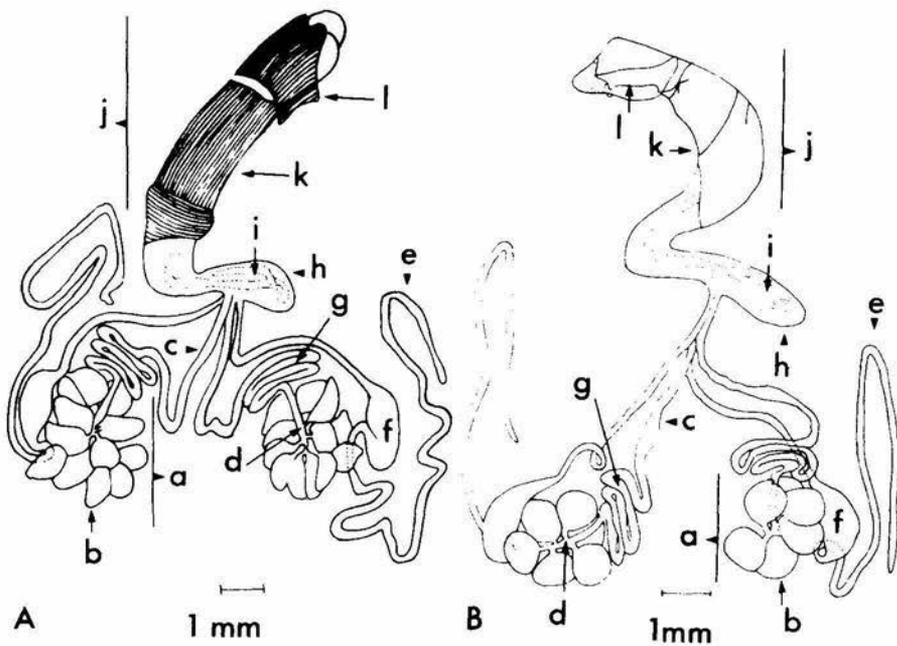


FIGURA 1. Esquemas del Sistema Reproductor de *O. gazella* (A) y de *C. cyaneellus* (B).

a) testículo, b) folículo testicular, c) conducto deferente, d) conducto eferente, e) glándulas tubulares accesorias, f) porción sacular de la glándula accesorias, g) epidídimo, h) bulbo eyaculador, i) conducto eyaculador, j) órgano copulador, k) falobase, l) parámetros.

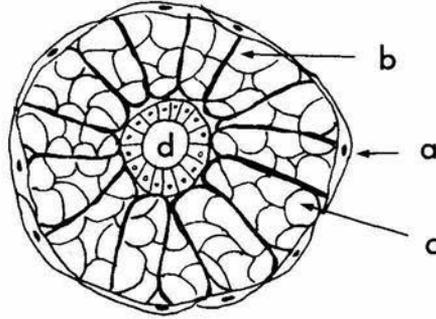


FIGURA 2. Esquema de la sección transversal de un folículo de *O. gazella* a) pared del folículo, b) divisiones fibri-lantes que parten de la pared del folículo, c) división fi-brilar de cada cisto, d) conducto eferente.

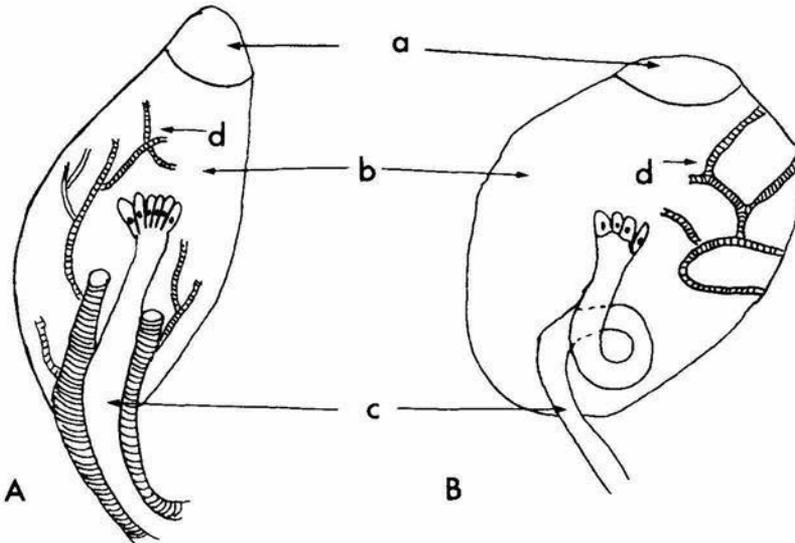


FIGURA 3. Esquema de la organización general del folículo testicular de: *O. gazella* (A) y *C. cyanellus* (B) a) germario, b) zona de cistos, c) conducto eferente, d) árbol traqueal.

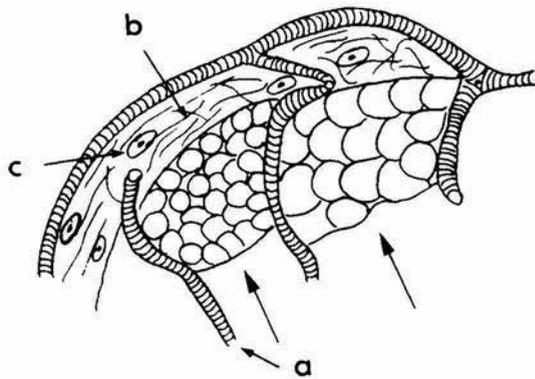


FIGURA 4. Esquema de la pared de un folículo testicular de *C. cyanellus* a) traqueólas, b) fibras, c) células. Las flechas indican dos espermatocistos.

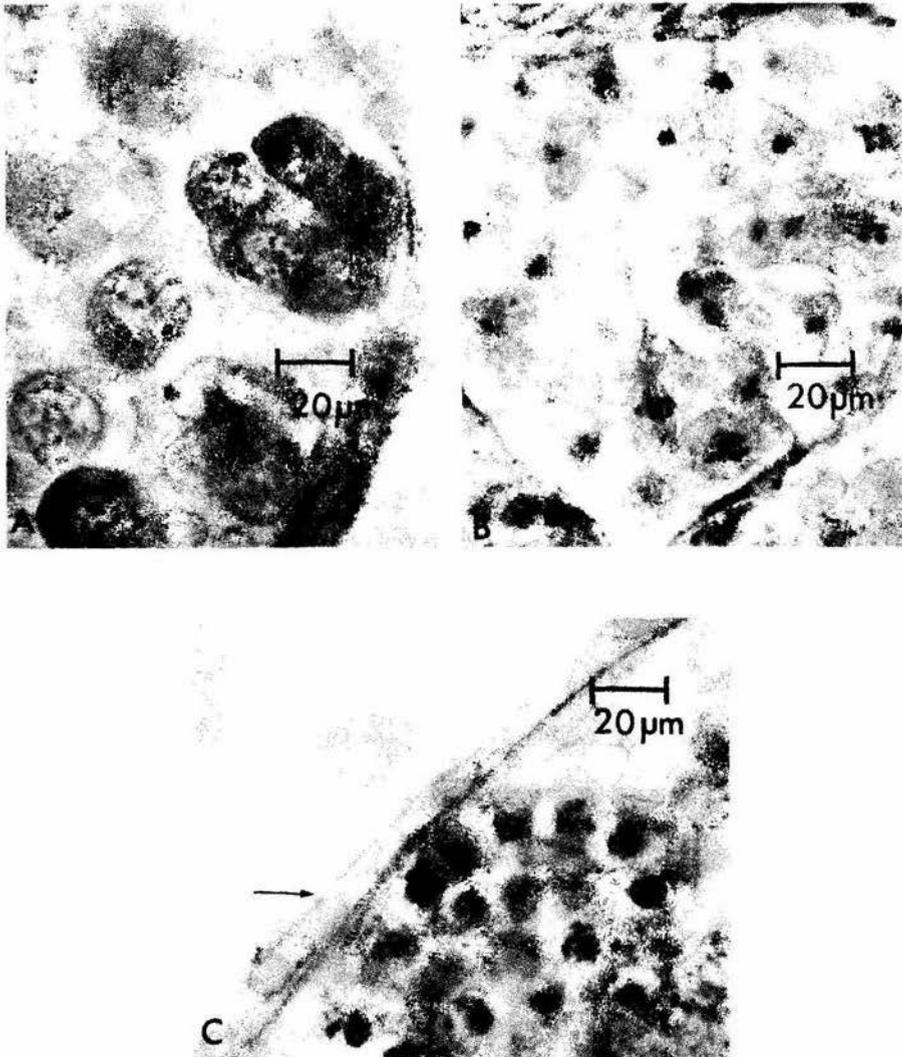


FIGURA 5. Microfotografías de la secuencia de desarrollo de las células germinales. (A) Espermatogonias observe que algunas se han encistado. (B) Cisto de espermatocitos primarios, las figuras de división corresponden a la primera división meiótica. (C) Cistos de espermatocitos secundarios. La flecha señala la pared del folículo.

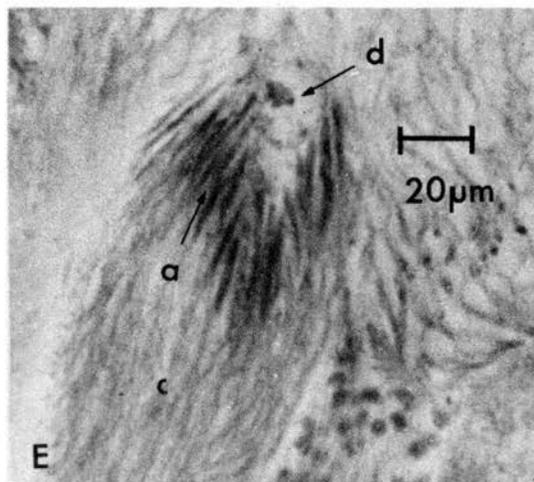
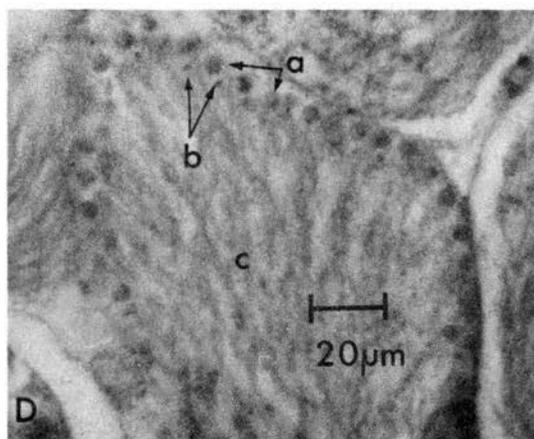


FIGURA 5. Continuación. (D) Cistos de espermatides observe que la cabeza aún es redonda y que el flagelo ya ha crecido, (E) Paquete de espermatozoides. a) núcleo, b) derivado mitocondrial, c) flagelos, d) célula nutricia.

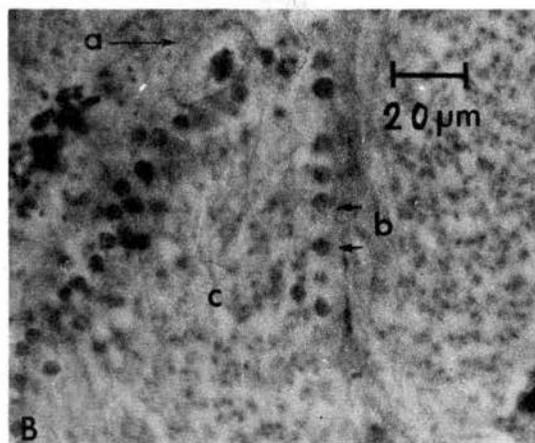
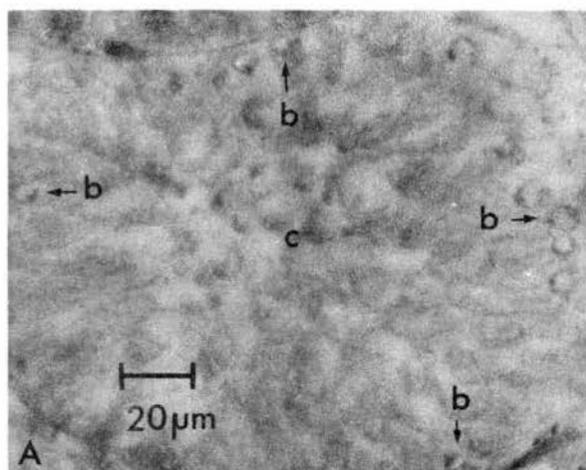


FIGURA 6. Microfotografías del desarrollo de la espermatide. (A) durante esta etapa las células se distribuyen alrededor del cisto. (B) las células comienzan a converger hacia la célula nutricia. a) célula nutricia, b) núcleos, c) flagelos.

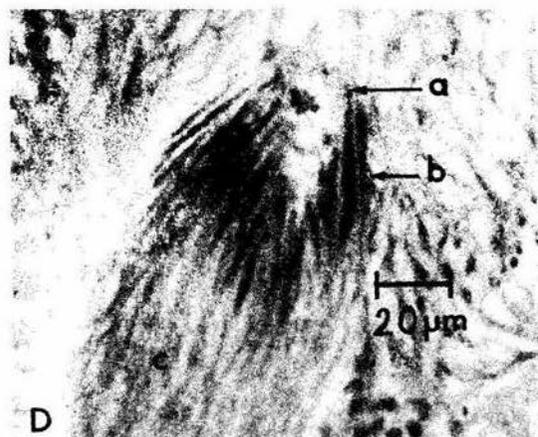
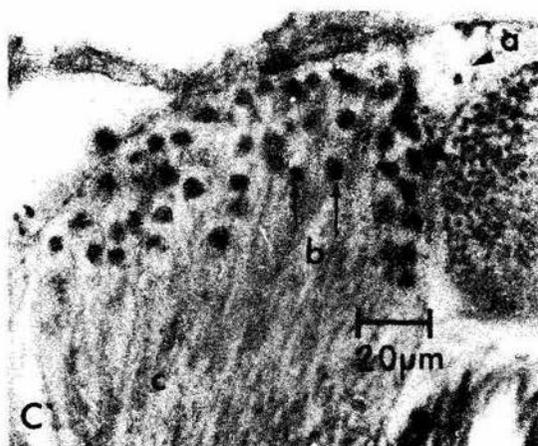


FIGURA 6. Continuación. (C) Compactación de las espermatides, (D) paquete de espermatozoides que se han asociado a la célula nutricia. a) célula nutricia, b) núcleos, c) flagelos.

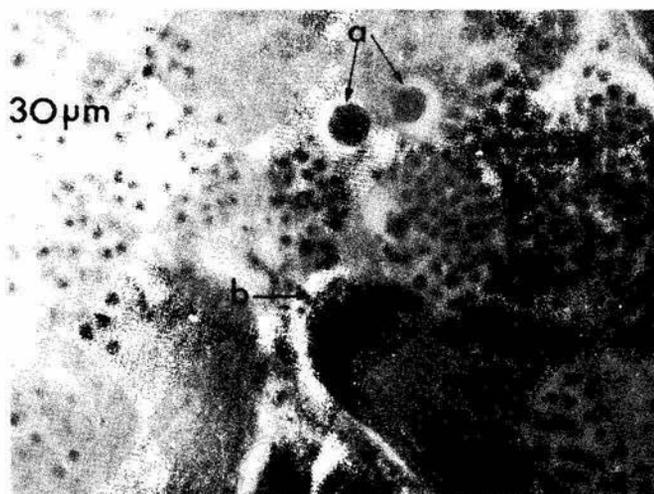


FIGURA 7. Microfotografía de los elementos celulares somáticos del folículo testicular a)acúmulos basófilos cercanos al germario, b) célula nutricia de espermatozoides, c)cistos.

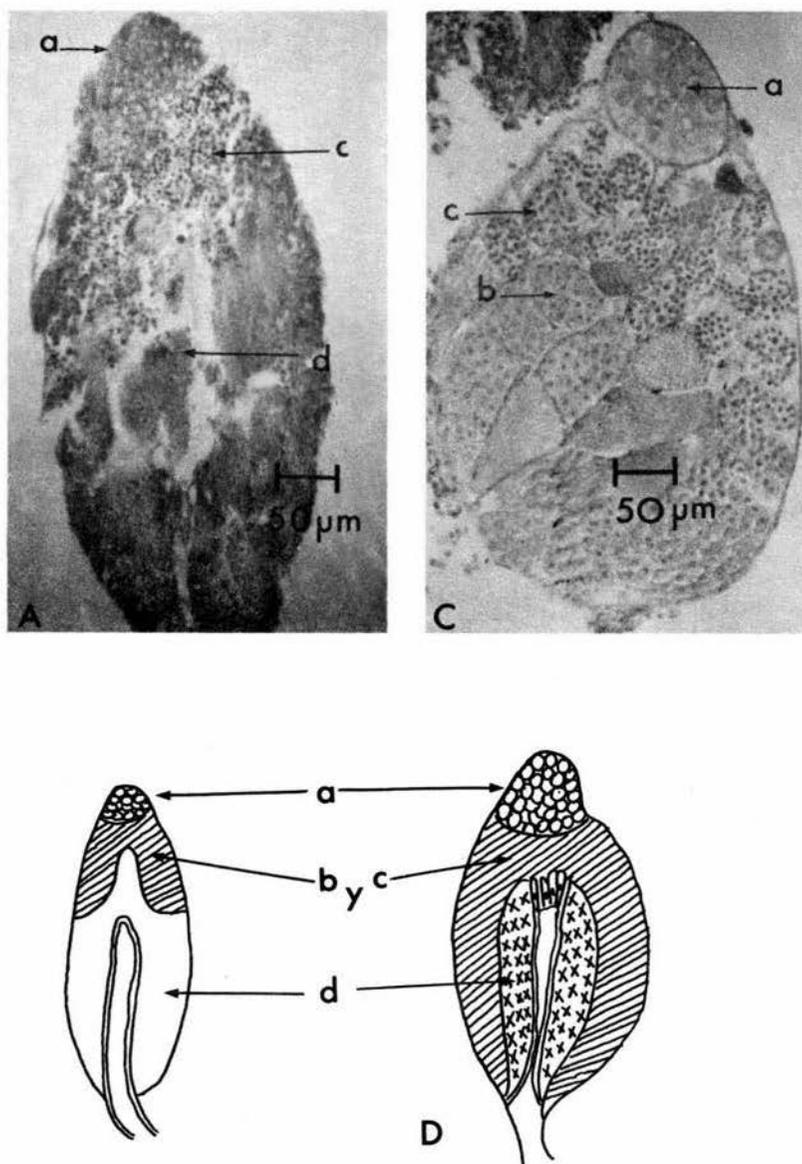


FIGURA 8. Microfotografías de los estadios juvenil (A), y espermatogénesis (C). Representación esquemática de los estadios juvenil (B) y espermatogénesis (D). a) espermato^gonias b) espermato^citos primarios c) espermato^citos secundarios d) espermato^zoides.

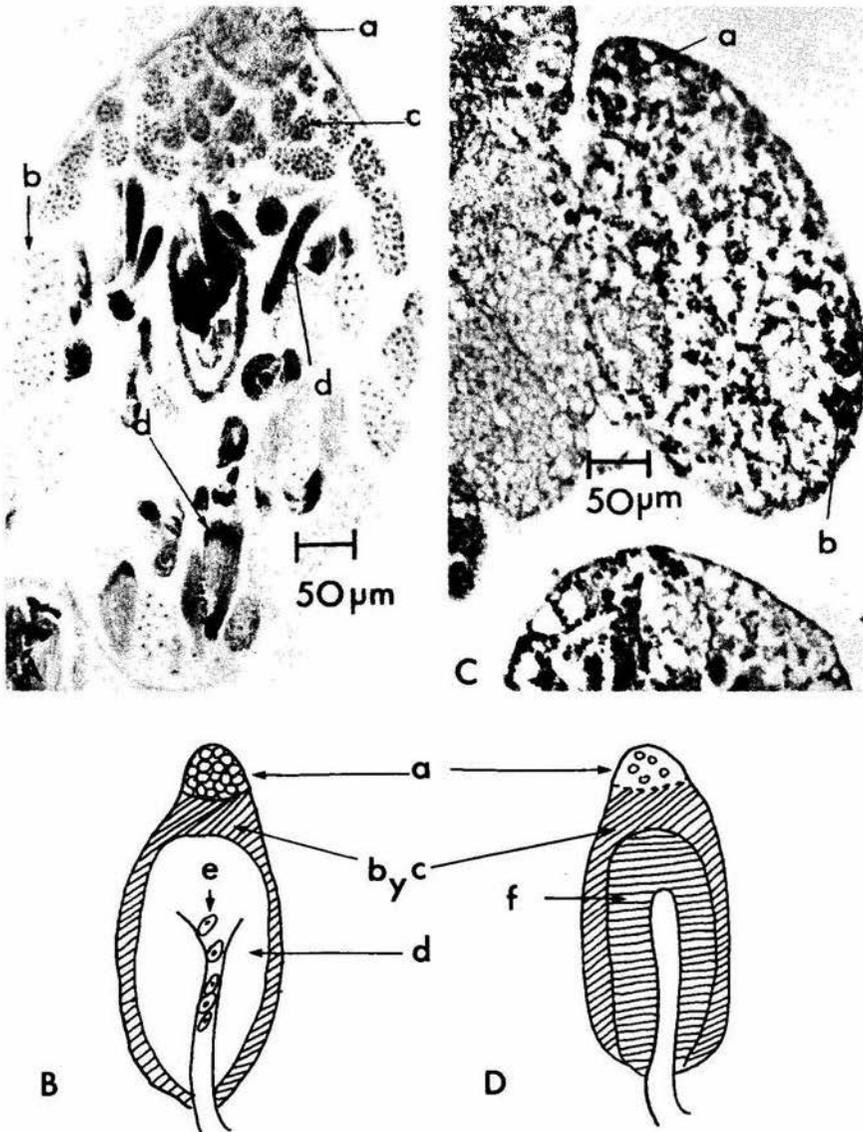


FIGURA 9. Microfotografías de los estadios de espermiogénesis (A) y degeneración (C) Representación esquemática de los estadios de espermiogénesis (B) y denegeración (D). a) espermatogonias, b) espermatocitos primarios, c) espermatocitos secundarios d) espermatozoides e) células nutritivas expulsadas al conducto eferente, f) degeneración.

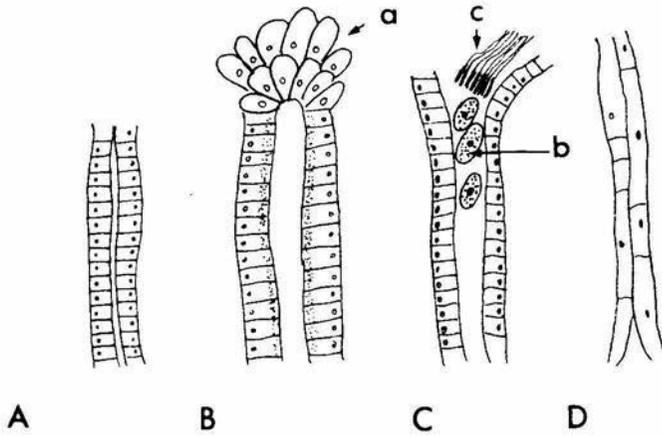


FIGURA 10. Esquemas de la estructura del conducto eferente durante los estadios (A) juvenil, (B) espermatogénesis, (C) espermiogénesis, (D) degeneración. a) tapón del conducto eferente, b) células nutritivas expulsadas, c) espermatozoides.

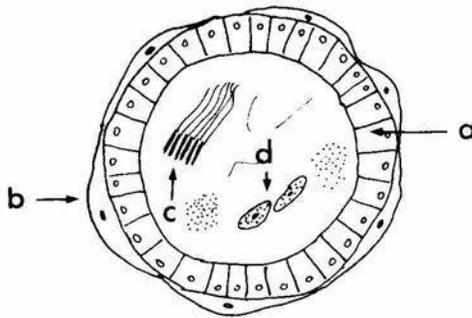


FIGURA 11. Esquema de la estructura del conducto deferente en sección transversal. a) epitelio, b) músculo, c) espermatozoides d) células nutritivas.

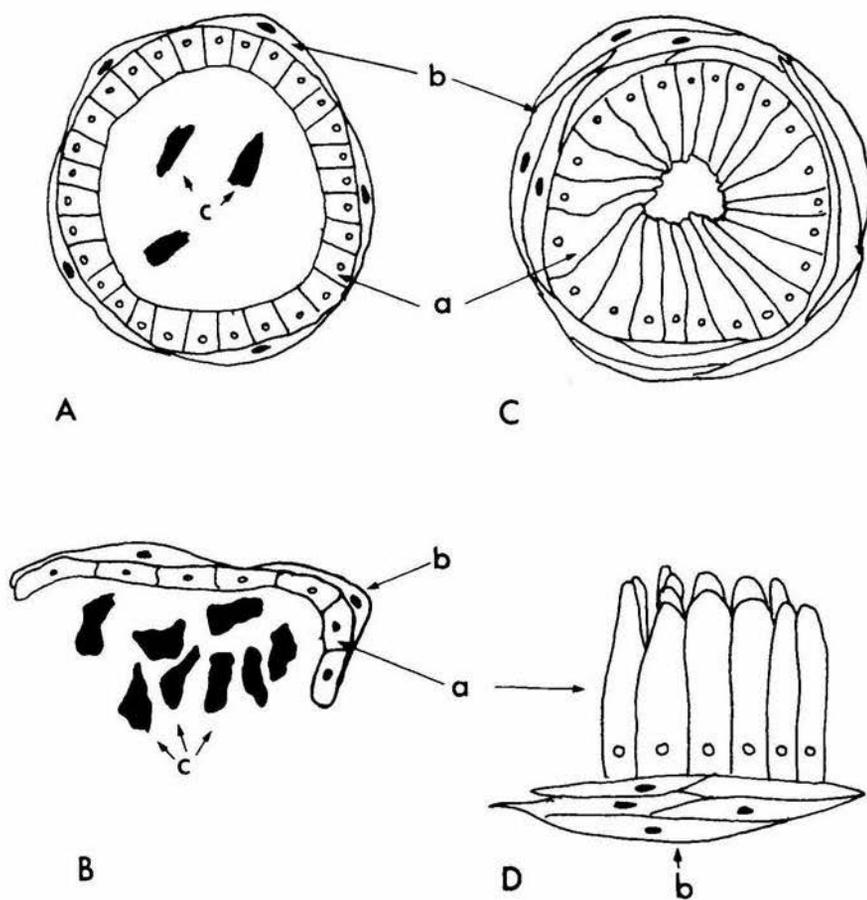


FIGURA 12. Esquemas de la organización histológica de las diversas regiones de la glándula tubular accesoria: (A) - en el extremo ciego, (B) en la porción sacular, (C) en la porción vecina al eyaculatorio, (D) detalle del epitelio de la región (C) a) epitelio, b) músculo, c) secreción.

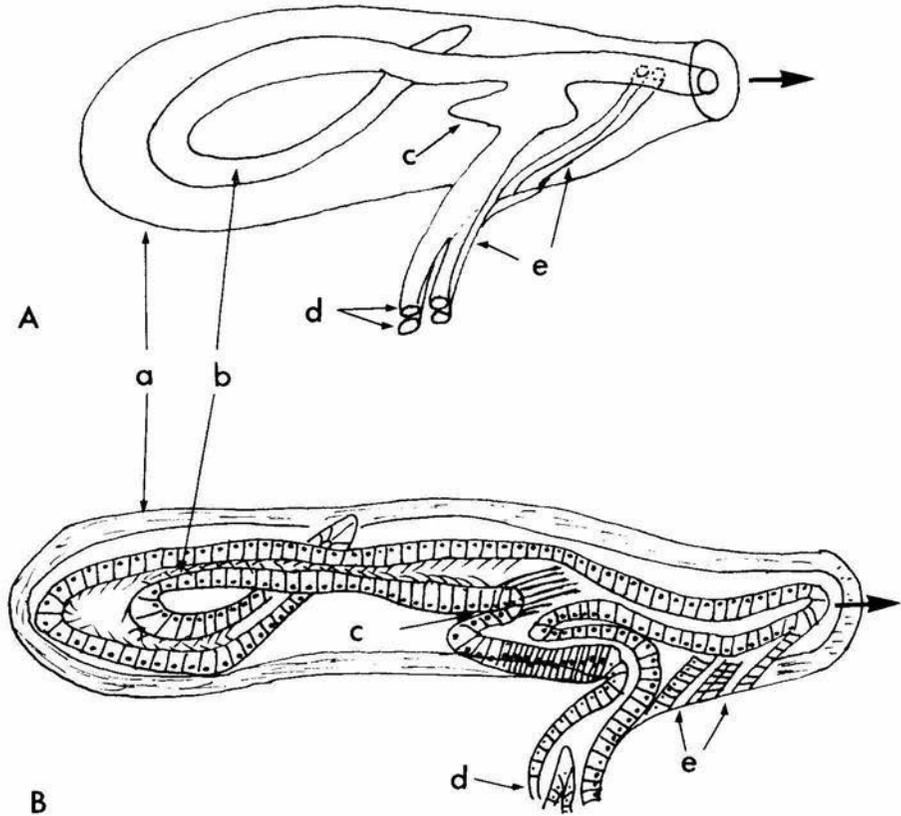


FIGURA 13. Esquemas de la estructura del eyaculatorio - (A). Aspecto tridimensional, (B) en corte histológico. Se indican las relaciones de este órgano con los conductos - deferentes y las glándulas accesorias. a) bolsa muscular externa b) conducto eyaculador, c) bulbo d) conductos deferentes, e) glándulas tubulares.

La flecha indica la dirección hacia el edeago.

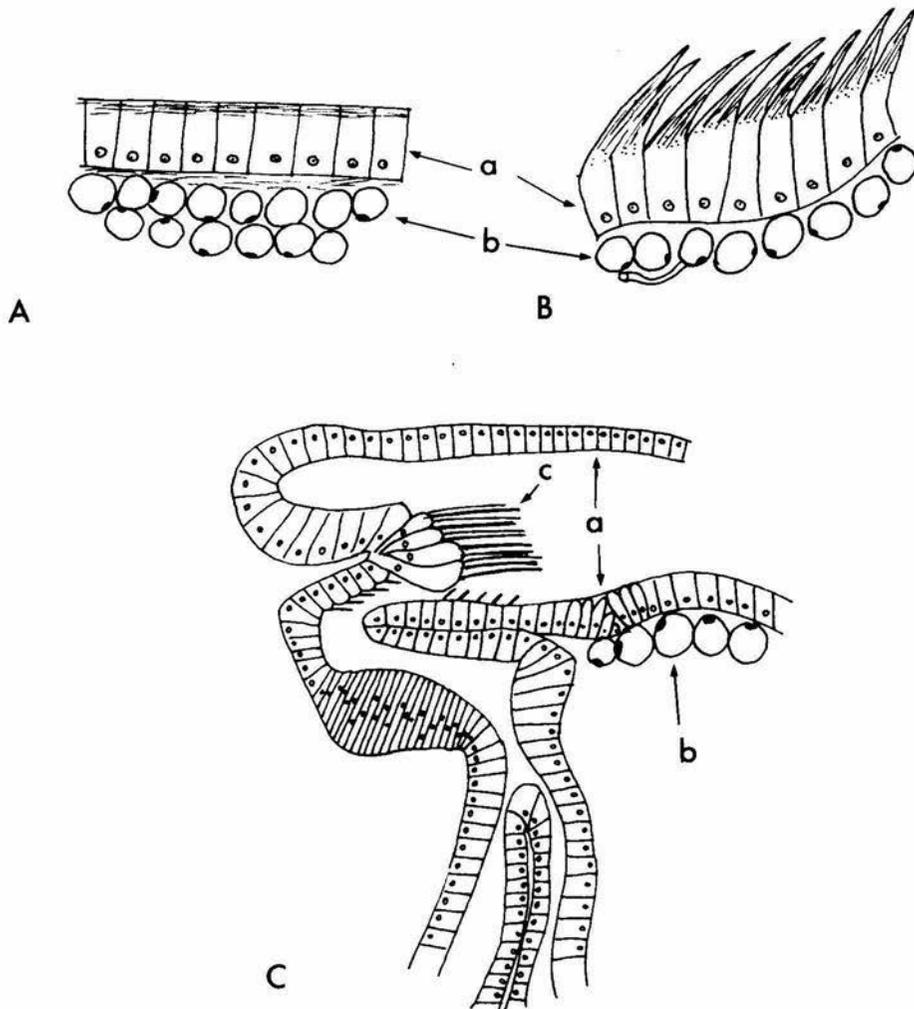


FIGURA 14. Esquema de los diversos tipos de epitelio en - el conducto eyaculador. (A) en el extremo ciego, (B) antes del bulbo del conducto eyaculador, (C) región del bulbo. a) epitelio, b) músculo, c) íntima cuticular.

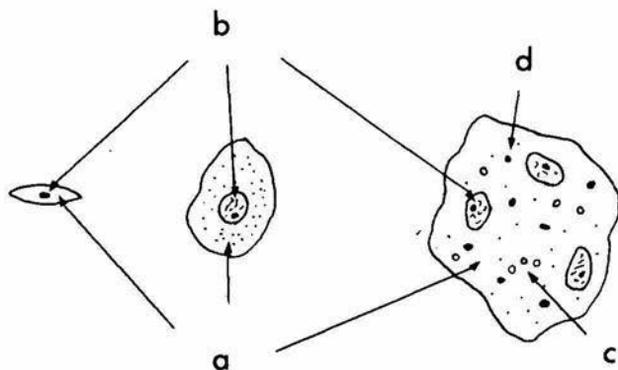


FIGURA 15. Esquema de los tipos celulares que se encuentran en el espacio entre la bolsa muscular y el conducto eyaculador del eyaculador. a) citoplasma b) núcleo, c) vacuolas, d) granulaciones.

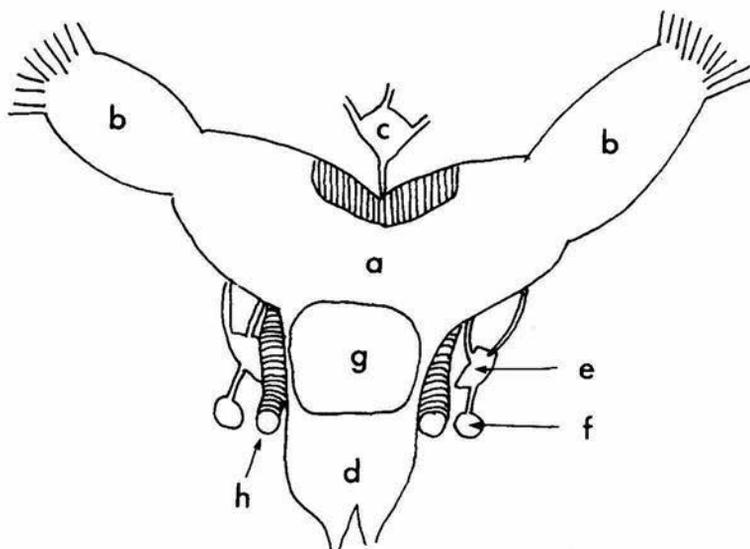


FIGURA 16. Esquema de la estructura anatómica del cerebro de *O. gazella* y *Canthon c. cyanellus* a) cerebro, b) lóbulos ópticos, c) ganglio frontal, d) ganglio subesfágico, e) corpóra cardíaca, f) corpóras alatas, g) esófago, h) tráqueas.

La línea sombreada corresponde a la Pars intercerebralis.

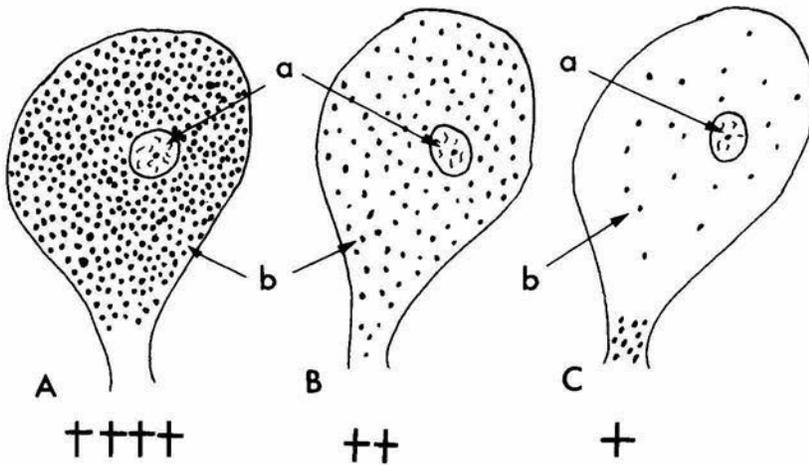


FIGURA 17. Esquema de las células A de la pars intercerebralis. Patrón utilizado para determinar: (A) gran cantidad de secreción (++++), (B) regular cantidad de secreción (++) y (C) poca secreción (+). a) núcleo, b) gránulos de secreción .

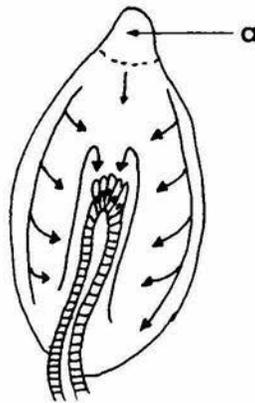


FIGURA 18. Esquema donde se indican los tres tipos de movimiento que siguen los quistes durante su maduración. a) germenio.

TABLA No. 1

Especie	Estadio de desarrollo del - Folículo testicular.	Edad después de la eclosión.	Conducta Reproductora
<i>Onthophagus gazella</i>	Juvenil	Recién eclosionado.	No ha tenido contacto con la hembra.
	Espermatogénesis	Del 2° al 4° día aproximadamente.	No ha tenido contacto con la hembra.
	Espermioagénesis	Desde el 4° día hasta cuando menos 3 semanas.	Ha copulado.
	Degeneración	Individuos viejos.	No participa en la reproducción
<i>Canthon cyanellus cyanellus</i>	Espermioagénesis	Desde el 4° día hasta un mes aproximadamente	Cópula y Nidificación.
	Degeneración	Más de un mes.	Nidificación.

TABLA No. 2

Especie	Folículo Testicular	Neurosecreción	Conducta
<i>Onthophagus gazella</i>	Juvenil	++ ++	No contacto con la hembra.
	Espermatogénesis.	++ ++ ++ a ++	No contacto con la hembra.
	Espermiogénesis.	+ + + a	Cópula.
	Degenerativo	+ a -	No participación en la reproducción
<i>Canthon cyanellus cyanellus</i>	Espermiogénesis.	+ a + +	Cópula y nidificación.
	Degenerativo	+ a -	Cuidado del nido (?)

TABLA No. 3

ESTADIOS TESTICULARES	juvenil	Espermato génesis	Espermiogénesis	Degene- ración
CONDUCTA	Eclosión			
			Cópula inte- racción con la hembra.	Fin etapa reproduc- tora.

Onthophagus gazella

ESTADIOS TESTICULARES	juvenil	Espermato génesis	Espermiogénesis	Degene- ración
CONDUCTA	Eclosión			
			Cópula, inte- racción con - la hembra y - nidificación	Cuidado del ni- do.

Canthon cyanellus cyanellus

BIBLIOGRAFIA.

- Borrow, 1976. An introduction to the Study of Insects. -
4th edition. Holt, Rinehart and Winston. p. 280-284.
- Bowen, R.H. Studies on insect spermatogenesis. 1924. VI
Notes on the formation of the sperm in Coleoptera -
and Aptera, with a general discussion of the
flagellate sperms. J. Morphol. 39: 351-413.
- Breland, O.P., Eddleman, C.D. and Biesele, J.J. 1968. -
Studies on insect spermatozoa. I. Entomological News
79: 197-216.
- Cameron, M.L. and Steele, J.E. 1959. Simplified Aldehyde
Fucision-staining of neurosecretory cells. Stain
Technology. 265-266.
- Caussanel, C. 1975. Variations et principales fonctions
au corpus allatum au cours des cycles reproducteurs
de la femelle de *Labiduria riparia*. Pallas (Insecte:
Dermaptère). C.R. Acad. Sc. Paris. t 277: 1521-1524.
- Chen, G.T. and Graves, J.B. 1968. Spermatogenesis of the
tobacco budworm. Annals of the Entomological Society
of America 63 (4): 1095-1104.
- Dajoz. 1972. Biologie et anatomie des *Scarabaeus semi-*
junctatus (Coleoptera: Scarabaeidae) Comparaison -
avec quelques autres coleopteres coprophages. Cahiers
des Naturalistes 28 (3): 61-79.
- Davey, K.G. 1968. La reproducción de los insectos. Ed.
Alhambra. México.
- Dogra, G.S. 1973. Neurosecretion in *Rhodnius prolixus*
and the problem of endocrine control of the
reproduction. Annals of the Entomological Society
of America. 66 (5): 1011-1021.

- Dumser, B. 1980. The regulation of spermatogenesis in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 25: 341-69.
- Edmons, W.E. 1974. Internal anatomy of *Coprophanæus lancifer* (Coleoptera: Scarabaeidae) *J. Insect Morphol. and Embriol.* 3 (2): 257-272.
- Engelmann, F. 1970. *The Physiology of Insect Reproduction* Pergamon Press. pp. 36-41, 98-105, 143-189.
- Fraser, H.R. 1978. The cells of the insect neurosecretory system Constancy, variability and the concept of the unique identifiable neuron. *Insect Physiol.* 63-123.
- Frielanders, M., Wahrman, J. 1966. The independence of spermatid differentiation from the meiotic divisions. *Exp. Cell Res.* 38: 680-684.
- Gabe, M. 1968. *Techniques Histologiques.* Masson et Cie, France, p. 767-69, 967-69.
- Grassé, P. 1977. *Traité de Zoologie. Anatomie Systematique Biologie. Tome VIII. Insectes.* Masson Paris. p. 125-137, 177-189.
- Gundevia, H.S. and Ramamurty, P.S. 1977. The male Accessory Reproductive glands and spermatophore in *Hidrophilus olivaceus* (Polyphaga-Coleoptera) *Z. mikrosk. anat Forsch. Leopzig* 91: 475-492.
- Halfpter, G. 1977. Evolution of nidification in the Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeinae). *Quaestiones Entomologicae* 13: 231-253.
- Halfpter, G. and Edmons 1979. Evolución de la nidificación y de la cooperación bisexual en Scarabaeinae. *Folia Entomologica Méx.* 42: 13-20.

- Halffter and López 1977. Development of the ovary and mating behavior in *Phanaeus*. Annals of the Entomological Society of America 70 (2): 203-213.
- Halffter, G., Martínez F. 1980. Folia Entomológica Mexicana. No. 43, pp. 13-14.
- Halffter, G. and Matthews, G.F. 1966. The natural history of dung beetles of the subfamily Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae). Folia Entomológica Mexicana, No. 12-24.
- Heymons 1929. Die Zahl der Fihoren bei den Coprini (Coleoptera) Zool. Anz. 85: 35-38.
- Heymons 1930. Über die morphologie des weiblichen Geslecs apparatus der Gattung Scarabaeus. L.Z. Morphol. Oekol Tiere, 18: 536-574.
- Highnam, C.K. and Hill, L. 1977. The comparative Endocrinology of the invertebrates. 2nd. Edition. Edward Arnold. p. 15-20, 131-175.
- Huerta, C., Anduaga, S. y Halffter, G. 1981. Folia Entomológica Mexicana. No. 17 pp. 139-170.
- Jaroslav 1978. Die espermatogenese wahrend der ontogenese bei *Agonum assimile* (Coleoptera: Scarabidae) Acta Entomológica bohemoslavaca 75: 289-295.
- Jolly, P. 1968. Endocrinologie des Insects. Monographie 7 Collection. "Les grands problemés de la Biologie". Masson et Cie, editeurs. pp. 33-77, 209-235.
- Krause, J.B. 1946. The structure of the gonads of the wood eating beetle, *Passalus cornutus* Fabricius. Annals of the Entomological Society of America. 39: 193-206.

- Menon, M. 1969. Structure of the apical cells of the -
testis of the tenebrionid beetles. *Tenebrio molitor*
and *zoophobasrugipes* (Coleoptera) J. Morphol. 127:
403-430.
- Mordue, W. 1965. Studies on oocite production and -
associated histological changes in the neuroendocrine
system in *Tribolium castaneum* L. (Coleoptera: Tene-
brionidae) J. Anim. Morphol. and Physiol. 24: 35-41.
- Phillips, D.M. 1970. Insect sperm: Their structure and
morphogenesis. J. Cell.Biol. 44: 243-277.
- Rossen and Runge 1977. Spermatogenesis in Animals.
Cambridge University Press. pp. 133-164.
- Ross, H. 1967. A textbook of Entomology. 3th ed. John
Wiley and Sons. Inc. pp. 206-211.
- Thorson, J.B. and Rieman, G. 1977. Abdominally entrained
periodicities of testis and vas deferens activity
in the Mediterranean Flour Moth. J. Insect. Physiol.
23: 1189-1197.
- Virkky, N. 1957. Structure of the testis follicle in
relation to evolution in the Scarabaidae (Coleopte-
ra). Can. J. Zool. 35: 265-277.
- Wigglesworth, V.B. 1974. Insect Physiology. 7a. Ed.
Chapman and Hall London pp. 114-126, 154-159.
- Williams, J.L. 1945. The anatomy of the internal genita-
lia of some coleoptera. Proc. Entomol. Soc. Wash. 47
(4): 73-91.
- Zunino, M.L. 1978. Armature genitale negli Onthophagini
Technique di preparazione e criteri di studio
(Coleoptera: Scarabaeioidea). Supplemento al Bulet-
tino de la Societa' Entomologica Italiana No.90, XIX.

Zunino, M. 1971. Importanza dell'apparato genitale -
femminile nella sistematica del genere *Onthophagus*
Latr. (Coleoptera: Scarabaeoidea). Boll. Soc. Ento-
mol. Ital. 103: 26-31.