

Descrição de ovos e ninfas de *Triatoma klugi* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)

José Jurberg¹, Helene S. Barbosa², Cleber Galvão³, Dayse da S. Rocha¹ & Maria Beatriz A. Silva³

1. Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil. (jjurberg@ioc.fiocruz.br)
2. Laboratório de Biologia Estrutural, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, 21040-361 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
3. Faculdade Nossa Senhora das Graças, Universidade de Pernambuco, Rua Arnóbio Marques, 310, Santo Amaro, Recife, PE, Brasil.

ABSTRACT. **Description of eggs and nymphs of *Triatoma klugi* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).** The authors had described the morphologic characteristics of *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001 to the group of species belonging to “*T. oliveirai* complex”. Until the moment it has been difficult to separate on the nymphs characteristics basis these species, what it justifies the development of this work. The specimens had been collected in openings of rocks in the Malavok mount in the locality of Linha Brazil, city of Nova Petrópolis, in the State of Rio Grande do Sul. The local of capture of the Triatominae is placed enters 700 and 800 m of altitude (29°18'38"S, 51°04'57"W). Together with *T. oliveirai* (Neiva, Pinto & Lent, 1939), its morphologically related species, is the only ones of the complex that had not been found, until the moment, in the State of Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and Goiás, Brazil. In experimental conditions, already it was tested and proven its susceptibilities to the infection for *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) and *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920). The comparative analysis of the ornaments of the exocorium of eggs and of three nymphs of *T. klugi* by optic microscopy and scanning electron microscopy showed some morphologic particularities, with prominence for: the ventral face of the head, the stridulatory sulcus and the last abdominal segments (IX, X - future genitalia and XI - anal duct). These data contribute for the magnifying of the distinguishing parameters aiming at diagnosis of *T. klugi* during its nymphal development.

KEYWORDS. Systematics, taxonomy, morphology, Triatominae, Chagas'disease.

RESUMO. Os autores descreveram as características morfológicas de *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001 pertencente ao grupo de espécies que compõem o “complexo *T. oliveirai*”. Até o presente tem sido difícil separar essas espécies com base nas características ninfais, o que justifica o desenvolvimento deste trabalho. Os espécimes foram coletados em frestas de rochas no morro Malavok na localidade de Linha Brasil, município de Nova Petrópolis, no Estado do Rio Grande do Sul. O local de captura dos triatomíneos situa-se entre 700 e 800 m de altitude (29°18'38"S, 51°04'57"W). Juntamente com *T. oliveirai* (Neiva, Pinto & Lent, 1939), espécie morfológicamente mais próxima, são as únicas do complexo que não foram encontradas, até o momento, no Estado do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, Brasil. Em condições experimentais, já foi testada e comprovada a sua susceptibilidade à infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) e *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920). A análise comparativa das ornamentações do exocôrion dos ovos e de três estádios ninfais de *T. klugi* por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura mostrou algumas particularidades morfológicas, com destaque para: a face ventral da cabeça, o sulco estridulatório e os últimos segmentos abdominais (IX, X - futura genitália e XI - tubo anal). Esses dados contribuem para a ampliação dos parâmetros diferenciais visando à diagnose de *T. klugi* durante o seu desenvolvimento ninfal.

PALAVRAS-CHAVE. Sistemática, taxonomia, morfologia, Triatominae, doença de Chagas.

Os triatomíneos, vetores da doença de Chagas, pertencem à subfamília Triatominae que atualmente conta com 18 gêneros e 141 espécies. Todas as espécies são transmissoras potenciais de *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico da doença de Chagas. Nem todas as espécies são vetoras efetivas, somente algumas, como por exemplo, *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *T. brasiliensis* Neiva, 1911 e *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), devido ao seu alto grau de adaptação aos ambientes domésticos e a antropofilia (LENT & WYGDZINSKY, 1979; TONN, 1988; SCHOFIELD, 1998; CARCAVALLO *et al.*, 1998; MEJIA *et al.*, 1999; GALVÃO *et al.*, 2003). De acordo com SHERLOCK *et al.* (1998) até o momento, 107 espécies já foram descritas como natural ou experimentalmente infectadas pelo *T. cruzi*. Esses vetores têm como característica biológica principal, o hematofagismo obrigatório de ambos os sexos e em todas as fases evolutivas (LIMA, 1940; JURBERG & GALVÃO, 2006). A alimentação sanguínea é fundamental para que os cinco

estádios ninfais possam evoluir. Esse fato de fêmeas, machos e ninhas serem hematófagos, agrava o potencial de transmissão do *T. cruzi* (BRENER & ANDRADE, 1979).

Triatoma klugi Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001 pertence ao “complexo *oliveirai*” que é composto por seis espécies, todas da região centro-oeste e sul do Brasil: *T. oliveirai* Neiva, Pinto & Lent, 1939; *T. matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953; *T. williami* Galvão, Souza & Lima 1965; *T. guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979; *T. jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 e *T. klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2000.

O estudo pormenorizado de cada táxon torna-se cada dia mais necessário visando compreender a relação filogenética entre as diversas espécies. A taxonomia antes baseada somente na morfologia, hoje conjuga outros caracteres. Assim, espécies que compõem determinados complexos, por apresentarem grandes semelhanças morfológicas na fase adulta, necessitam de outros tipos de abordagens para a caracterização

morfológica e cromática de ovos, ninfas e adultos (JURBERG *et al.*, 2004).

O estudo da morfologia de ovos e ninfas tem sido ressaltado por vários autores e considerado de fundamental importância para a taxonomia. Essas abordagens tiveram início em 1935, quando GALLIARD realizou um estudo morfológico comparativo dos ovos de algumas espécies de triatomíneos por microscopia óptica. Mais tarde, ABALOS & WYGODZINSKY (1951) estudaram a fauna triatomínica da Argentina, ilustrando ovos e ninfas de *Triatoma infestans* (Klug, 1834), vistos por meio de microscopia óptica, que foram posteriormente aprimoradas por BARTH & MUTH (1958). BARATA (1981) observou a ornamentação exocorial de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 por meio de microscopias óptica e eletrônica de varredura e elaborou, a partir dessas características, uma chave dicotômica. Assim, a morfologia de ovos e ninfas de triatomíneos tem sido alvo de estudos de diversos outros autores (CARCAVALLO *et al.*, 1975, 1978; GONÇALVES *et al.*, 1985; JURBERG *et al.*, 1986; MASCARENHAS, 1987; JURBERG *et al.*, 1991a, b; COSTA *et al.*, 1991; JURBERG & VOGEL, 1994; JURBERG & CAMPOS, 1995; ROCHA *et al.*, 1996; JURBERG *et al.*, 1998; GALÍNDEZ-GIRÓN *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2000; JURBERG *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2005).

As diferenças sexuais entre as ninfas de quinto estádio têm sido outro critério utilizado na distinção dos sexos (ESPÍNOLA, 1966; LENT & JURBERG, 1965, 1969, 1970; PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ & CRUZ, 1972; DA ROSA *et al.*, 1992a, b).

A microscopia eletrônica de varredura tem sido uma importante ferramenta na taxonomia, auxiliando na investigação e na análise de estruturas que permitem a diferenciação das espécies. Características morfológicas

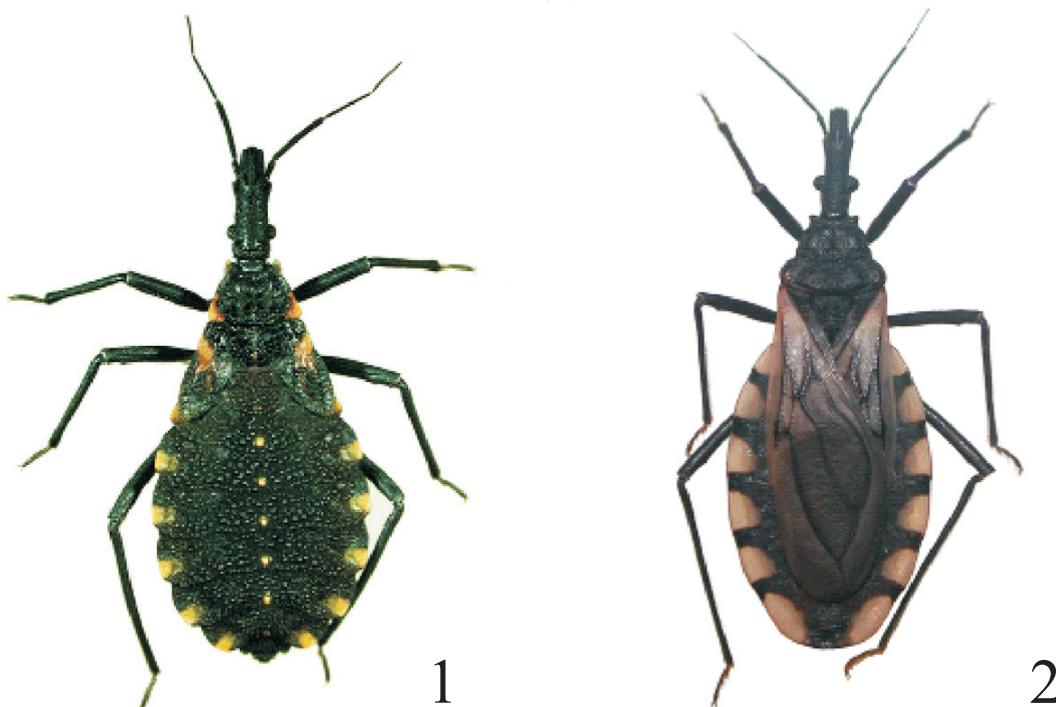
comparativas de espécies do “complexo oliveirai” têm sido publicadas (SILVA *et al.*, 1998, 1999, 2002, 2005), assim como a descrição de ninfas dos cinco estádios e do exocório de ovos por microscopia óptica e eletrônica de varredura (SILVA *et al.*, 2000; JURBERG *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2003, 2005). O emprego dessa técnica permite detalhar algumas áreas da anatomia externa dos triatomíneos e possibilita que se estabeleçam novos caracteres com intuito de auxiliar na resolução de problemas sistemáticos dos triatomíneos.

No presente trabalho, as estruturas de ovos de *T. klugi* e do sulco estridulatório, búcula e rosto, dos últimos segmentos abdominais (IX, X - futura genitália e XI) tubo anal, foram comparadas morfológicamente durante o desenvolvimento ninfal por microscopia eletrônica de varredura, com o objetivo de num futuro próximo comparar estruturas, possibilitando o esclarecimento do “status” das espécies crípticas e dos complexos específicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de triatomíneos estudados foram provenientes de colônias aclimatadas desde 2001 no insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos (LNIRTT) do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Todo material analisado encontra-se depositado na Coleção Rodolfo Carcavallo do LNIRTT do Instituto Oswaldo Cruz (laminário - *T. klugi*: números 5676 - 5693) (Figs. 1, 2).

Microscopia óptica. Foram utilizados dois ovos e duas ninfas dos cinco estádios. Os ovos tiveram o opérculo destacado e montado entre lâmina e lamínula com fenol. Para análise das ninfas, foram selecionadas as



Figuras 1, 2. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001: 1, ninfa de 5º estádio; 2, macho adulto.

recém-eclodidas. Após a observação dos aspectos cromáticos, as ninfas foram montadas em lâminas e coladas em posição padrão, sendo posteriormente desenhadas a seco com o auxílio de uma câmara clara acoplada a um microscópio estereoscópico. Os ovos fragmentados foram montados entre lâmina e lamínula com álcool, desenhados em microscópio biológico.

Microscopia eletrônica de varredura. Para análise ultra-estrutural, três ovos após a postura foram selecionados e três ninfas de cada estádio foram escolhidas após a eclosão e ecdises. Os insetos foram mortos por congelamento e desidratados em incubadora a 37°C for 24 h. A seguir, o material foi fixado com fita dupla face em suportes metálicos com 1,2 cm de diâmetro, metalizado com ouro e analisado em microscópio eletrônico de varredura. As imagens foram capturadas digitalmente e processadas no programa Adobe Photo Shop 6.0.

Mensuração de ovos e ninfas. Foram utilizadas três ninfas de cada estádio e três ovos. O material foi analisado em microscópio estereoscópico, com auxílio de uma ocular graduada aferida com uma lâmina micrométrica de um milímetro dividida em 100 partes.

RESULTADOS

O ovo de cor esbranquiçada apresenta comprimento em média de 2,04 mm (Fig. 3) e a largura máxima de 1,36 mm tendo como proporção entre o comprimento e a largura 1:0,66. A análise por microscopias óptica e eletrônica de varredura mostra que a superfície dos ovos apresenta células na sua maioria pentagonais, e também poligonais e hexagonais, sendo que as células do opérculo

são menores que as do corpo e ornamentadas por sulcos microscópicos e as células do corpo por pontuações, em ambas com distribuição aleatória (Figs. 4-7).

Ninhas, primeiro estádio (Fig. 8). Comprimento total 4,7 +/- 0,09 mm. Coloração parda, apresentando na cabeça cerdas longas inseridas em tubérculos setíferos dispostos aleatoriamente do clípeo à calosidade pós-ocular. Os três segmentos torácicos encontram-se lateralmente ornamentados por uma faixa um pouco mais clara, contendo cerdas dispostas aleatoriamente, inclusive nos bordos laterais. No pronoto observam-se 1+1 áreas glabras centrais. No abdome, os urotergitos apresentam-se com 1+1 fileiras paralelas de cerdas, inseridas em tubérculos setíferos e ainda, 1+1 placas retangulares dispostas lateralmente no nono urotergito.

Cabeça de coloração parda, em vista dorsal, devido à presença de tubérculos setíferos distribuídos aleatoriamente por toda sua extensão, o que lhes confere um tegumento de aspecto irregular. Calosidades pós-oculares presentes. A cabeça apresenta, entre as regiões pós-ocular e a anteocular, a proporção média de 1:1,5 e entre a largura nas regiões inter-ocular e ocular, a proporção média de 1:1,7 (Tab. I).

Olhos compostos de coloração negra, constituídos por ommatídeos circulares justapostos, aumentando em número e diminuindo o espaço entre eles nos demais estádios. Apresentam uma área póstero-inferior lisa e sem ommatídeos.

Antenas tetrarticuladas, inseridas em tubérculos anteníferos implantadas lateralmente no limite do terço anterior da cabeça. Estes tubérculos apresentam lateralmente, uma protuberância com uma única cerda

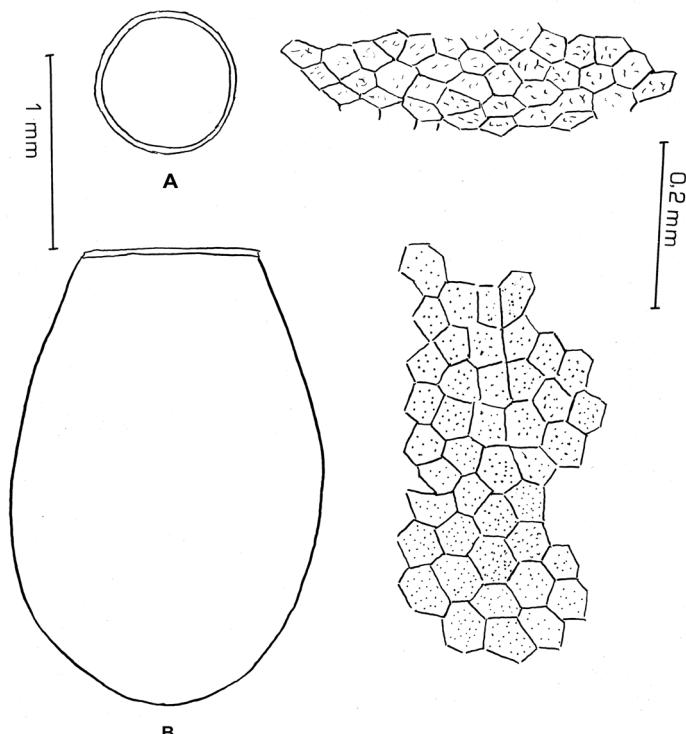


Figura 3. Ovo de *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, visto por meio de microscopia óptica (A, opérculo com detalhe dos sulcos; B, corpo do ovo com detalhe do exocório e das perfurações).

implantada em seus ápices. Artículos antennais apresentam as seguintes proporções médias 1:1,7:2,6:2,8 (Tab. I)

Rostro triarticulado, retilíneo com o 3º segmento atingindo o bordo anterior do proesterno quando em repouso. Apresenta coloração, um pouco mais clara que a cabeça. Os três segmentos encontram-se ornamentados por sensilas que aumentam em quantidade e tamanho no 3º segmento. Os três segmentos apresentam as seguintes proporções médias 1:2,4:1,2 (Tab. I)

Tórax de coloração mais escura do que a cabeça, ornamentado dorsalmente por cerdas implantadas em tubérculos distribuídos aleatoriamente, inclusive nos bordos laterais.

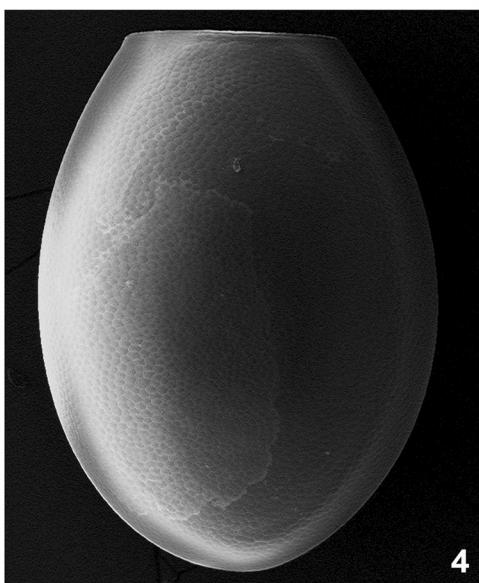
Pronoto trapezoidal, ornamentado dorsalmente por uma faixa clara mais evidente nos bordos inferiores, contendo cerdas implantadas em tubérculos setíferos aleatoriamente dispostos. Ângulos discrais presentes.

Mesonoto formado por 1+1 placas retangulares de bordos internos retos, lateralmente ornamentados por uma faixa mais clara, contendo cerdas esparsas.

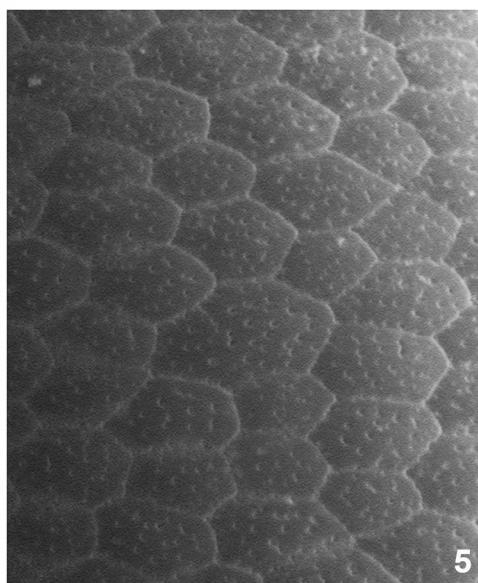
Metanoto de mesma coloração que os outros segmentos, formado por 1+1 placas com bordos internos arredondados, ornamentados por cerdas esparsas.

Pernas castanho-escuras em sua totalidade, ornamentadas por fileiras duplas e paralelas nos fêmures e tibias. Coxa globosa e menos pilosa que os outros segmentos. Tarsos com maior número de cerdas.

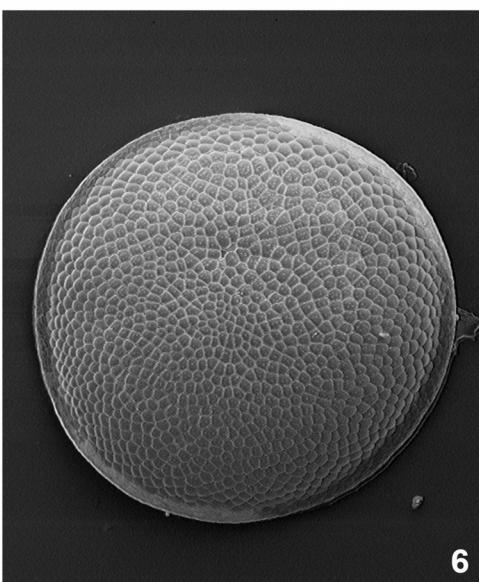
Abdome de coloração um pouco mais clara que o tórax e a cabeça, forma ovalada, com nove segmentos visíveis bem demarcados, face dorsal plana e ventral convexa. Os tergitos são dorsalmente ornamentados por cerdas dispostas por 1+1 fileiras paralelas. No nono segmento constam 1+1 placas retangulares ocupando o bordo superior.



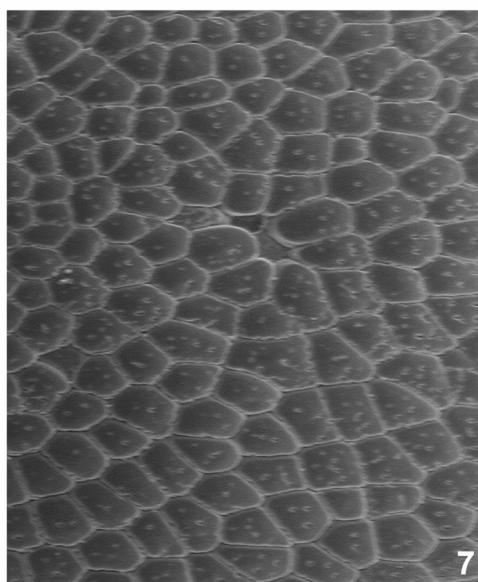
4



5



6



7

Figuras 4-7. Ovo de *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, visto por meio de microscopia eletrônica de varredura; 4, corpo do ovo (133X); 5, detalhe dos polígonos do corpo (1000X); 6, opérculo (200X); 7, detalhe dos polígonos do opérculo (1000X).

Ninfas, segundo estádio (Fig. 9). Comprimento total 6,2 +/- 0,02 mm. Coloração parda. Cabeça com cerdas implantadas em tubérculos setíferos com maior concentração nas genas e na frente, o que lhe confere um aspecto granuloso. Apresenta, entre as regiões pós-ocular e a anteocular, a proporção média de 1:2,0 e, entre a largura das regiões interocular e ocular, a proporção média de 1:1,5 (Tab. I).

Tórax de coloração negra. Os três segmentos são contornados lateralmente por faixas claras limitantes, sendo que, no protórax, elas estão presentes nos ângulos humerais e nos bordos inferiores, ornamentados por cerdas implantadas em tubérculos esparsadamente. Abdome de coloração parda, manchas conexivas visíveis a partir do 2º segmento, ornamentados por fileiras de cerdas dispostas paralelamente, 1+1 áreas glabras centrais localizadas no bordo inferior do 2º ao 5º segmento, 1+1 placas retangulares nos bordos superiores laterais do 9º tergito. Pernas com coxas e trocânteres mais claros.

Artículos antennais apresentam as seguintes proporções médias 1:2,3;2,8:3,0 (Tab. I).

Os três segmentos do rostro apresentam as seguintes proporções médias 1:2,9:1 (Tab. I).

Ninfas, terceiro estádio (Fig. 10). Comprimento total 8,9 +/- 0,21 mm. Coloração parda. Apresentam cerdas implantadas em tubérculos setíferos nas genas, clípeo, fronte e vértece.

Tórax apresenta coloração negra, contendo uma faixa clara ornamentando os ângulos humerais e os bordos inferiores do pronoto, enquanto no mesotórax e metanoto, apenas nos bordos inferiores, com cerdas esparsas nos três segmentos.

Apresentam entre as regiões pós-ocular e anteocular a proporção média de 1:2,2 e entre a largura das regiões inter-ocular e ocular a proporção média de 1:1,7 (Tab. I).

Antenas com os três primeiros segmentos e a metade basal do 4º segmento de coloração negra, contendo inúmeras sensilas no 2º e 3º segmento e o 4º segmento com sensilas longas e esparsas na sua metade apical. Os artículos antennais apresentam as seguintes proporções médias 1:2,2:2,9:3,0 (Tab. I).

Abdome de coloração parda, com manchas conexivas a partir do 2º segmento, ornamentado com cerdas inseridas em tubérculos setíferos dispostos em fileiras paralelas. Apresentam 1+1 áreas glabras centrais

Tabela I. Proporções médias de alguns parâmetros da cabeça de *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001 (medidas em mm).

Caracteres	1º estádio	2º estádio	3º estádio	4º estádio	5º estádio
Região pós-ocular/ ante-ocular	1:1,5	1:2,0	1:2,2	1:2,6	1:2,4
Largura das regiões Inter-ocular/ocular	1:1,7	1:1,5	1:1,7	1:1,7	1:1,6
Segmentos antennais	1:1,7:2,6:2,8	1:2,3:2,8:3,0	1:2,2:2,9:3,0	1:2,5:2,4:2,7	1:3,3:2,7:2,5
Segmentos do rosto	1:2,4:1,2	1:2,9:1,2	1:2,5:1,3	1:2,4:1,2	1:1,8:0,9

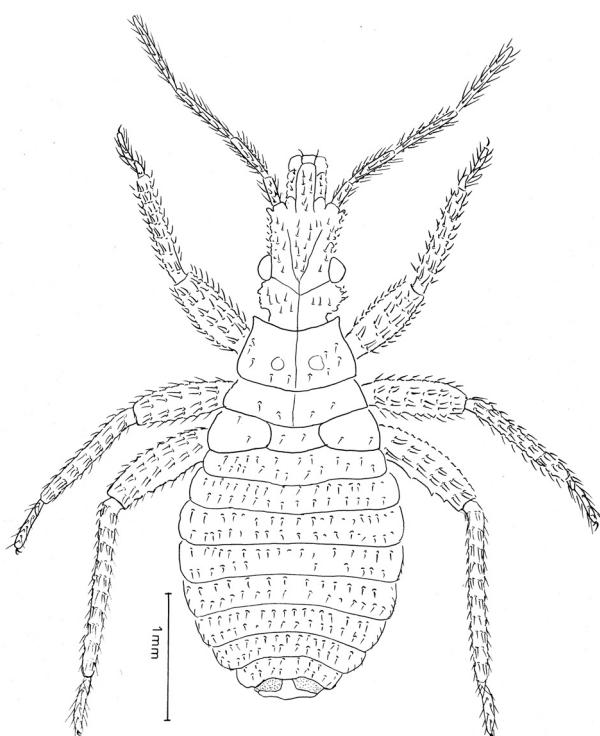


Figura 8. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, ninfa de 1º estádio, vista dorsal.

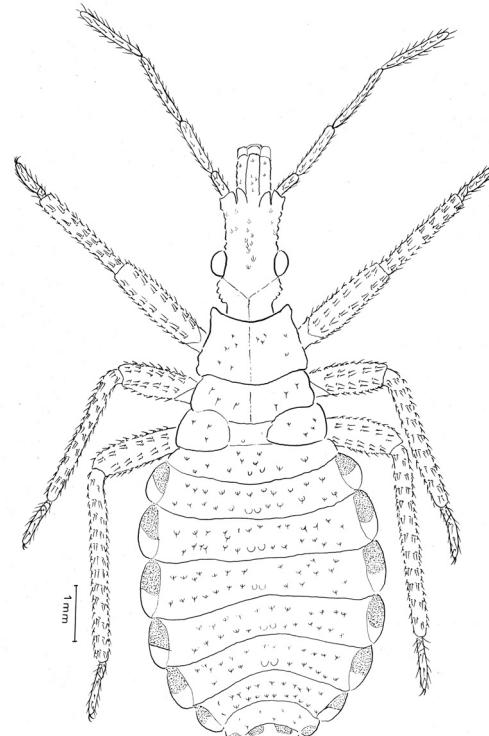


Figura 9. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, ninfa de 2º estádio, vista dorsal.

no bordo inferior do 2º ao 6º tergito e 1+1 placas localizadas na porção média do bordo superior do 9º tergito. O conexivo apresenta zonas ovaladas mais escuras em sua metade superior. Pernas de coloração negra, contendo fileiras paralelas de cerdas nas faces externas dos fêmures e das tibias.

Os três segmentos do rostro apresentam as seguintes proporções médias 1:2,5:1,3 (Tab. I).

Ninfas, quarto estádio (Fig. 11). Comprimento total 12,1 +/- 0,58 mm. Coloração castanho parda. Cabeça com aumento no número de cerdas implantadas em tubérculos, conferindo-lhe um aspecto granuloso. As tecas alares encontram-se evidenciadas. Apresenta entre as regiões pós-ocular e ante-ocular a proporção média de 1:2,6 e entre a largura nas regiões inter-ocular e ocular a proporção média de 1:1,7 (Tab. I).

Tórax negro, o pronoto apresenta regiões claras nos ângulos humerais e no mesonoto, nos bordos superiores e inferiores e no metanoto, apenas nos bordos inferiores.

Abdome contendo o maior número de cerdas implantadas em tubérculos de forma aleatória, contendo uma área glabra central no bordo inferior do 2º ao 6º tergito.

Pernas negras e longas, contendo nos fêmures e tibias cerdas dispostas em fileiras duplas e paralelas.

Artículos antenais apresentam as seguintes proporções médias 1:2,5:2,4:2,7 (Tab. I).

Os três segmentos do rostro apresentam as seguintes proporções médias 1:2,4:1,2 (Tab. I).

Ninfas, quinto estádio (Fig. 12). Comprimento total

17,7 +/- 0,58 mm. Cabeça de coloração negra, clípeo unilobado, jugas de formato triangular, aumento do número de cerdas por toda sua extensão conferindo-lhe um aspecto granuloso, diminuindo no pescoço, 1+1 protuberâncias dorsais no ponto de surgimento dos ocelos. Olhos compostos negros, constituídos por omatídeos justapostos. As antenas apresentam os três primeiros segmentos e a base do quarto de coloração negra. Apresentam entre as regiões pós-ocular e ante-ocular a proporção média de 1:2,4 e entre a largura das regiões inter-ocular e ocular a proporção média de 1:1,6 (Tab. I).

Tórax negro, apresentando as tecas alares mais pilosas e se estendem até o final do 2º segmento abdominal. Contém faixas claras nos ângulos humerais e no bordo inferior do protórax e uma área glabra central no bordo inferior do mesotórax. Abdome mostra manchas conexivas com zonas ovaladas mais escuras na parte superior, uma área glabra no bordo inferior central do 2º ao 6º segmento. Pernas negras ornamentadas por duas fileiras de cerdas paralelas nas tibias e fêmures dos três pares.

Artículos antenais apresentam a seguintes proporções médias 1:3,3:2,7:2,5 (Tab. I).

Os três segmentos do rostro apresentam as seguintes proporções médias 1:1,8:0,9 (Tab. I).

Por meio de análise ultra-estrutural das ninfas pode-se observar as alterações morfológicas durante o desenvolvimento ninfal da face ventral da cabeça e dos últimos segmentos abdominais (IX, X e XI - tubo anal, futura genitália).

Na região interocular ventral, observa-se nas ninfas de primeiro estádio uma diferenciação do tecido reticular

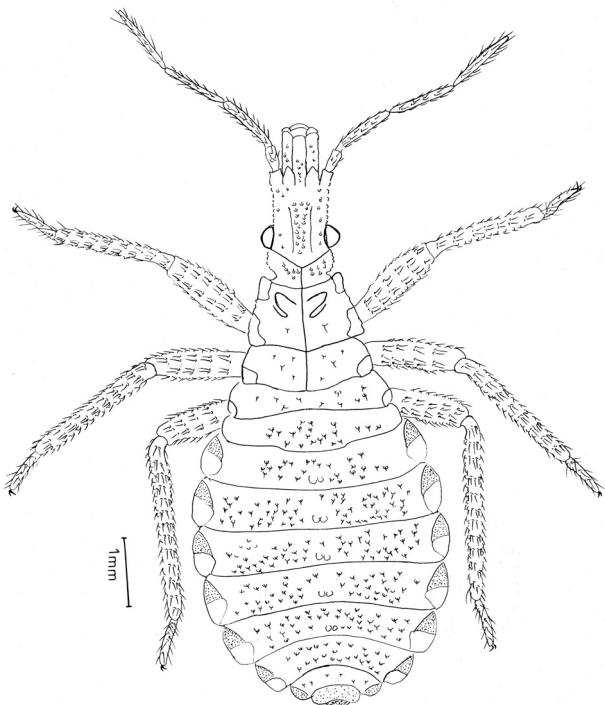


Figura 10. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, ninfa de 3º estádio, vista dorsal.

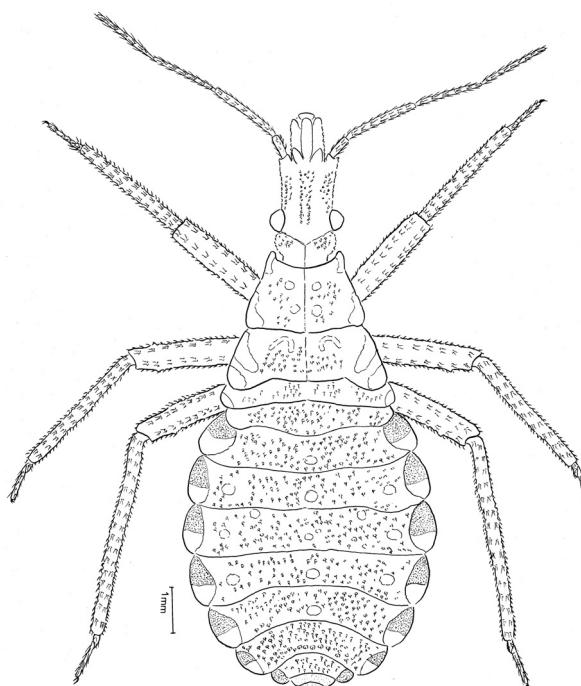


Figura 11. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, ninfa de 4º estádio, vista dorsal.

logo abaixo dos olhos compostos e algumas papilas (Fig. 13). No terceiro estádio, nota-se um aumento de tubérculos arredondados, o tecido reticular fica mais uniforme, constando 1+1 áreas glabras de formato ovalar (Fig. 14). No quinto estádio, essas áreas de formato ovalar apresentam a extremidade anterior afilada e a posterior arredondada, circundadas por papilas, sendo que no bordo interno, estas se limitam ao contorno da área lisa e glabra. Em torno dessa estrutura, visualizam-se algumas cerdas distribuídas aleatoriamente, podendo tratar-se de algumas cerdas que se modificam com evolução dos estádios (Fig. 15). O sulco estridulatório localizado no pré-externo apresenta-se no primeiro estádio como uma área ovalada, cuja superfície está repleta de elevações paralelas, limitadas lateralmente por tubérculos sem cerdas (Figs. 16, 17). No segundo estádio a área se transforma numa região triangular que atinge o bordo superior da cavidade coxal do primeiro par de pernas, limitada lateralmente em ambos os lados por tubérculos setíferos com pelos decumbentes (Figs. 16-19). Nas ninhas de terceiro estádio as características morfológicas do sulco estridulatório são semelhantes (Figs. 20, 21).

Visto lateralmente, com o rostro distendido, a búcula se apresenta como uma placa retangular menos quitinizada, sendo que, no primeiro estádio, com poucos tubérculos (Fig. 22). No terceiro estádio a búcula apresenta um número maior de tubérculos e 1+1 carenas longitudinais levemente elevadas (Fig. 23) e no quinto estádio com as carenas fortemente elevadas (Fig. 24).

A análise ultra-estrutural dos últimos segmentos abdominais se caracteriza por apresentar o X segmento (tubo anal) de forma anelar, ornamentado por tegumento enrugado mostrando parcialmente no seu

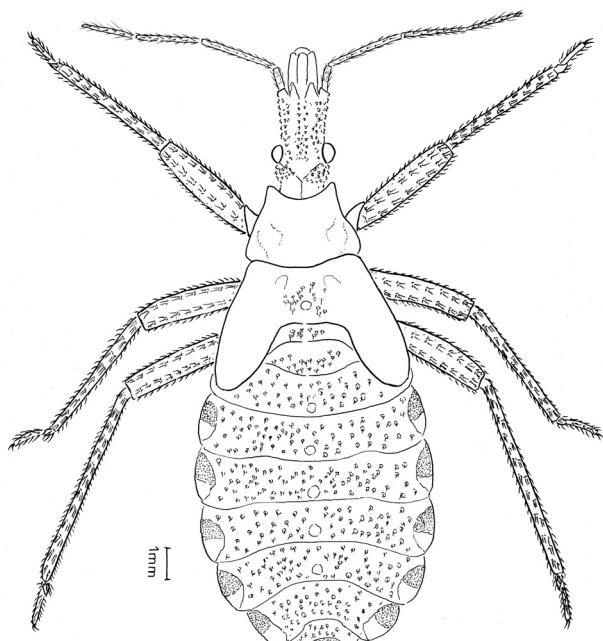
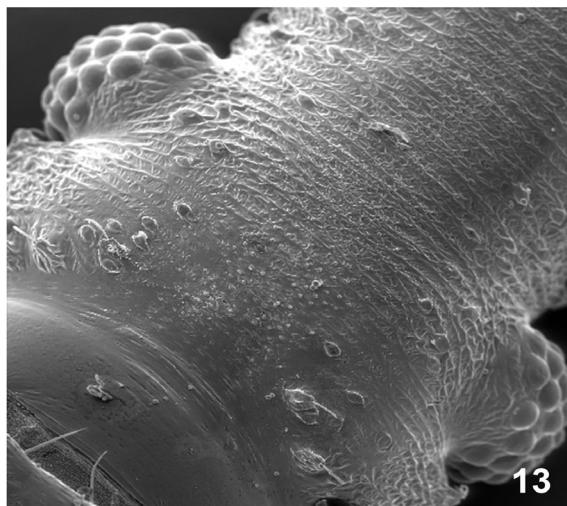
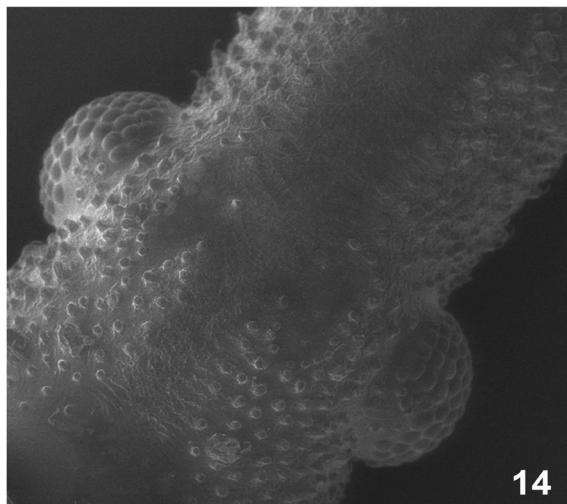


Figura 12. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, ninfa de 5º estádio, vista dorsal.

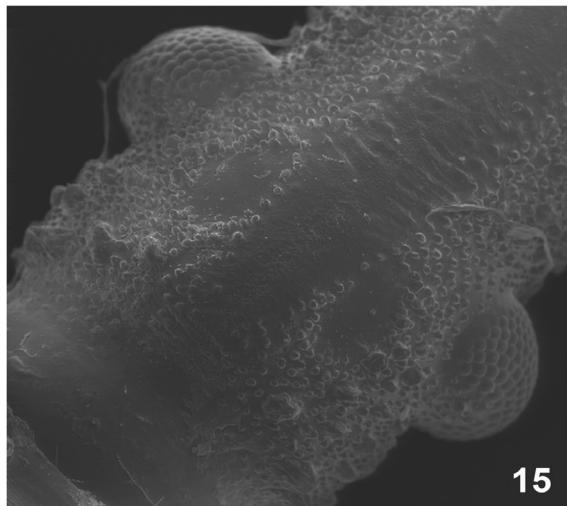
interior o ânus que fica telescópado e se caracteriza por apresentar 1 placa dorsal + 1 placa ventral com os bordos externos ornamentados com cerdas finas e longas (Figs. 25, 26).



13

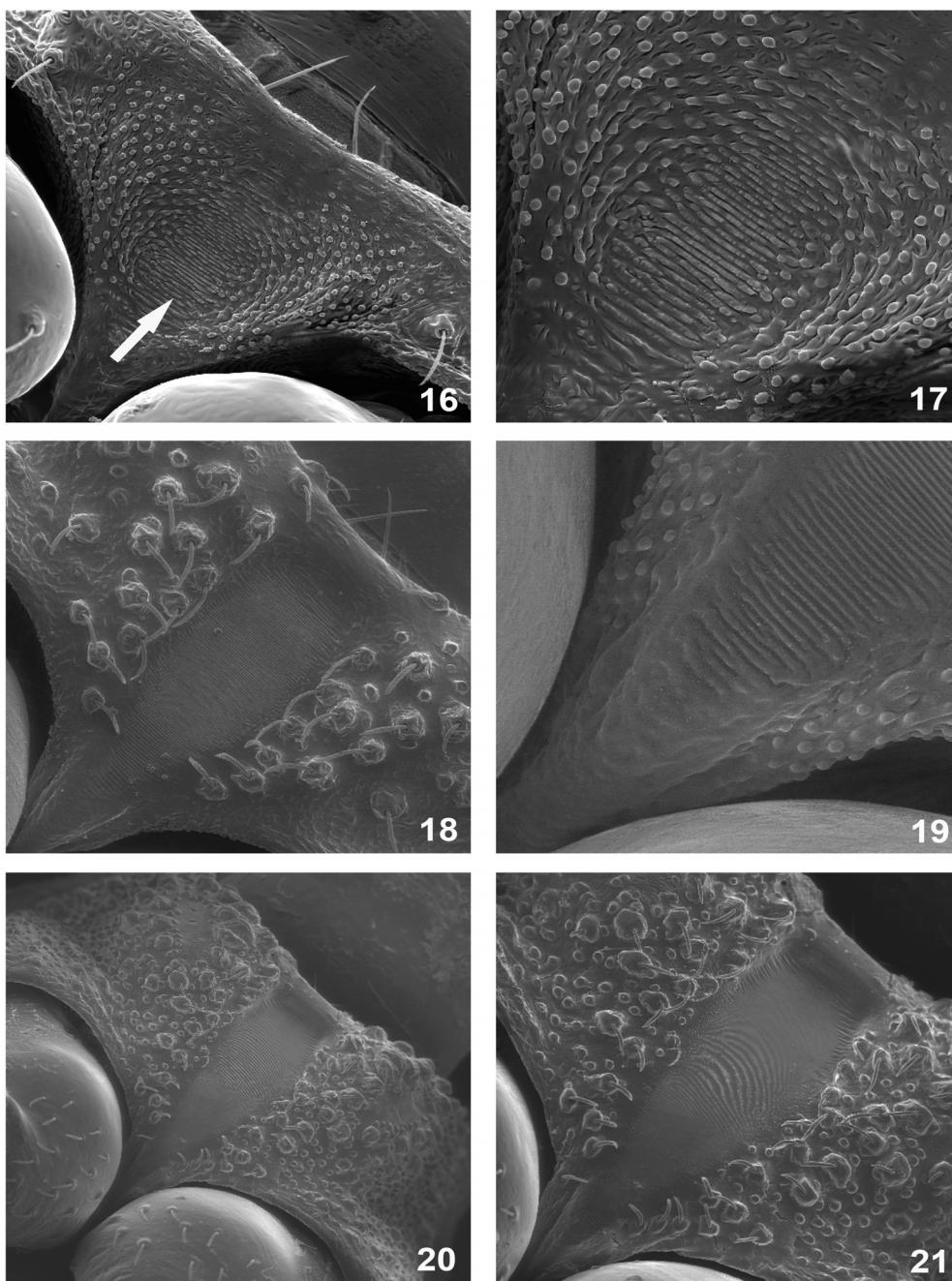


14



15

Figuras 13-15. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, vista ventral da região inter-ocular; 13, ninfa de 1º estádio (165X); 14, ninfa de 3º estádio (80X); 15, ninfa de 5º estádio (50X).



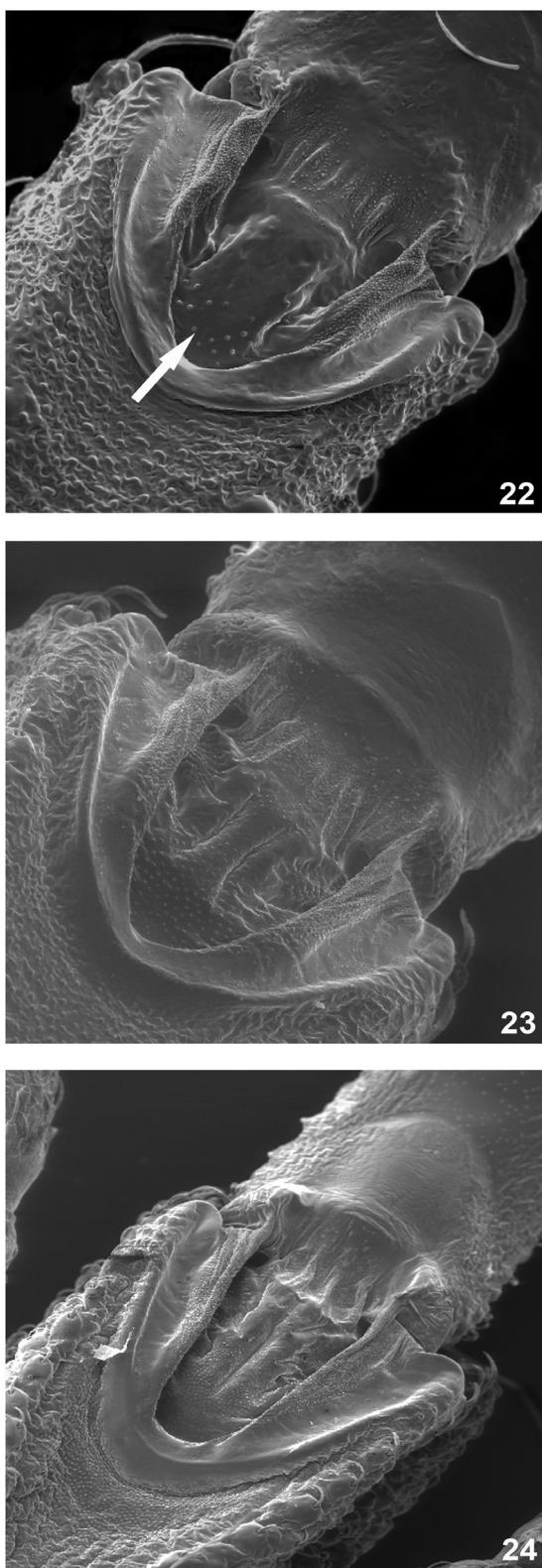
Figuras 16-21. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, vista ventral do sulco estridultório: 16, ninfa de 1º estádio (200X); 17, ninfa de 1º estádio (380X); 18, ninfa de 3º estádio (200X); 19, ninfa de 3º estádio (380X); 20, ninfa de 5º estádio (160X); 21, ninfa de 5º estádio (300X).

DISCUSSÃO

A análise de ovos e três estádios ninfais de *T. klugi* por meio de microscopia eletrônica de varredura mostrou diferenças morfológicas na face ventral e dorsal da cabeça e nos últimos segmentos abdominais (IX, X e XI - tubo anal, futura genitália), no sulco estridulatório, búcula, rostro e antenas durante o desenvolvimento das ninfas, constituindo, assim, novos parâmetros para identificação de espécies afins.

Na década de oitenta, alguns autores preocuparam-se com as características dos ovos ao estudar as espécies,

fornecendo detalhes macroscópicos como: tamanho, forma, coloração, tipo de casca, fixação, entre outros (BARATA, 1984). Utilizando a microscopia óptica e a microscopia eletrônica de varredura, BARATA (1984) mostrou a possibilidade de empregar as estruturas e as distintas ornamentações dos ovos como parâmetros na diagnose das espécies, elaborando uma chave para a identificação de dez espécies do gênero *Rhodnius*. Aspectos da morfologia externa e do exocório e as dimensões dos ovos em nove dos quinze gêneros conhecidos de Triatominae foram descritos por BARATA (1998).



Figuras 22-24. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão, 2001, vista lateral da búcula, com o rostro distendido: 22, ninfa de 1º estádio (310X); 23, ninfa de 3º estádio (200X); 24, ninfa de 5º estádio (88X).

A superfície do exocório dos ovos de *T. klugi* apresenta as células do opérculo ornamentadas por traços aleatórios e as do corpo, por pontuações com a mesma distribuição, enquanto a espécie afim, *T. williami*,

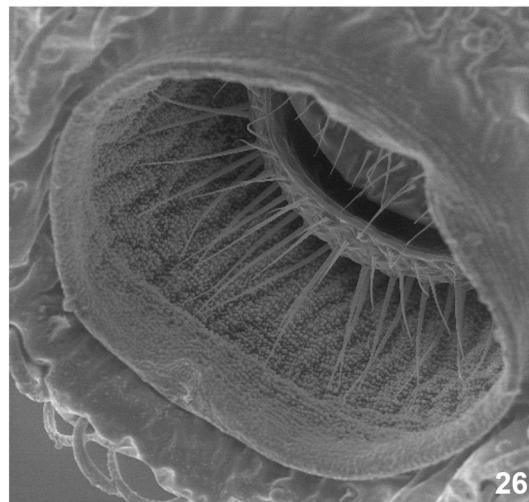
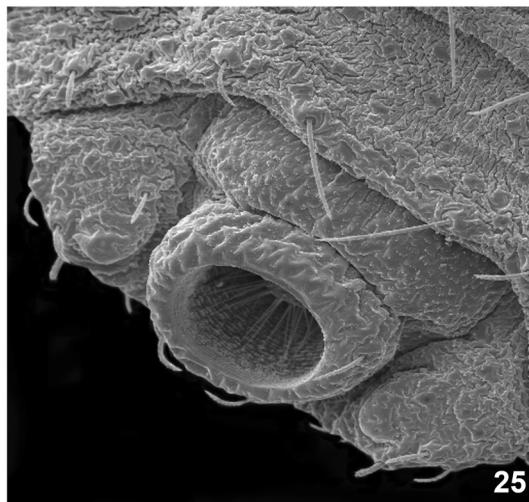
apresenta as células ornamentadas por pontuações dispostas ao acaso no corpo e no opérculo (SILVA *et al.*, 2005). Comparativamente, esses ovos quando foram observados por microscopia óptica apresentaram características macroscópicas no seu exocório capazes de distinguir as espécies pertencentes ao mesmo complexo. Em *T. matogrossensis*, o exocório é formado por um sistema de linhas irregulares e curvadas que se comunicam entre si, podendo em alguns polígonos, formar figuras fechadas (JURBERG & VOGEL, 1994). Em *T. guazu*, o opérculo e o corpo são formados por células ornamentadas por pequenas perfurações distribuídas ao acaso (SILVA *et al.*, 2000), enquanto *T. jurbergi* apresenta o opérculo ornamentado por pequenas fraturas e o corpo, além de pequenas fraturas, pontuações distribuídas ao acaso (SILVA *et al.*, 2000).

Atualmente, ainda não existe uma chave geral que relate taxonomicamente os cinco estádios ninfais das espécies, apesar de existirem numerosos trabalhos sobre morfologia das ninfas de várias espécies de triatomíneos (LENT & WYGODZINSKY, 1979; CARCAVALLO *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2000, 2005). LENT & WYGODZINSKY (1979) conseguiram agrupar as espécies com base nos caracteres das ninfas, conseguindo elaborar uma chave para o primeiro e o quinto estádios ninfais, que permitiu identificar os gêneros de triatomíneos utilizando a estrutura dorsal do abdome.

No presente trabalho pode-se constatar, dentre outras diferenças, as relacionadas às manchas conexivas que surgem a partir do segundo estádio. Em *T. klugi*, estas manchas são bem definidas, ocupando a metade superior do segmento, enquanto em *T. williami*, estas manchas conexivas são pouco definidas, ocupando uma parte da porção superior dos segmentos abdominais. No entanto, também se podem observar diferenças cromáticas entre essas espécies. Essa característica que diferencia as espécies estudadas, também foi observada em todos os estádios das ninfas de *T. matogrossensis*, *T. guazu*, *T. vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *T. williami* do “complexo oliveirai” (JURBERG & VOGEL, 1994; SILVA *et al.*, 2000; JURBERG *et al.*, 2002).

Por meio de microscopia eletrônica de varredura tem sido possível realizar estudos taxonômicos na entomologia, auxiliando nas investigações e nas análises das estruturas (CARCAVALLO *et al.*, 1994a, 1997). Esses estudos têm permitido também a distinção entre as espécies afins, crípticas e entre os complexos específicos. Diversos autores têm buscado novos parâmetros que, associados aos apresentados por LENT & WYGODZINSKY (1979), permitam avançar e tentar elaborar uma chave de identificação específica.

SILVA *et al.* (2005) realizaram uma análise ultraestrutural dos aspectos gerais dos últimos segmentos abdominais de *T. williami*, onde evidenciaram alterações morfológicas durante o desenvolvimento ninfal dessa espécie. Realizamos uma análise comparativa dos últimos segmentos abdominais do primeiro, terceiro e quinto estádios entre as duas espécies. Com relação ao X segmento abdominal das ninfas de primeiro estádio, observamos que *T. klugi* apresentou algumas cerdas e que *T. williami* apresentou cerdas por toda circunferência abdominal. Em *T. williami*, pode-se visualizar no IX



Figuras 25, 26. *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurb erg, Lent & Galvão, 2001, vista ventral dos últimos segmentos abdominais: 25, ninfa de 2º estádio (100X); 26, ninfa de 2º estádio (380X).

segmento, tubérculos setíferos proeminentes com cerdas de ápice rombo e serrilhado. Essa característica não foi observada em *T. klugi*. A morfologia dos últimos segmentos abdominais das ninfas dos triatomíneos foi evidenciada por vários autores (ESPÍNOLA, 1966; JURBERG *et al.*, 1970; DA ROSA *et al.*, 1992a, b) que abordaram a definição do futuro sexo através de sua configuração.

CARCAVALLO *et al.* (1994a, c, 1995) evidenciaram semelhanças e diferenças com valor sistemático da região óculo-ocular das espécies conhecidas do gênero *Rhodnius*, de onze espécies do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 e do gênero *Psammolestes* Bergroth, 1911. Nos dados aqui descritos, pode-se observar que a configuração dessas estruturas varia com a evolução dos estádios em *T. klugi* como também em *T. williami*.

Assim, este trabalho contribui com uma análise detalhada de algumas áreas da anatomia externa dos triatomíneos em continuidade à descrição de outras espécies afins e críticas (CARCAVALLO *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 1999, 2000, 2002, 2003; JURBERG *et al.*, 2002) visando o esclarecimento do status dessas espécies.

Agradecimentos. Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ABALOS, J. W. & WYGODZINSKY, P. 1951. Las Triatominae Argentinas (Reduviidae, Hemiptera). *Anales del Instituto Médico Regional Tucumán*, 2, 1:179.
- BARATA, J. M. S. 1981. Aspectos morfológicos de ovos de Triatomíneos. II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera-Reduviidae). *Revista de Saúde Pública de São Paulo* 15:490-542.
- . 1998. Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae). In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. *Atlas dos Vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro, Fiocruz. v.2, p.409-448.
- BARTH, R. & MUTH, H. 1958. Estudos anatômicos e histológicos sobre a Subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). VIII parte: Observações sobre a superfície de ovos de espécies
- mais importantes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 56:197-208.
- BRENER, Z. & ANDRADE, Z. 1979. *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S.A. 463p.
- CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I.; JURBERG, J. & MARTÍNEZ, A. 1994a. La región óculo-ocular en el género *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomología y Vectores* 1:113-120.
- CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I.; MARTÍNEZ, A. & JURBERG, J. 1994b. Cuticular structures of Triatominae. Their taxonomic significance. *Entomología y Vectores* 1:79-91.
- CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J.; MARTÍNEZ, A. & GALÍNDEZ-GIRÓN, I. 1994c. La región óculo-ocular en género *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomología y Vectores* 1:21-32.
- CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I. & JURBERG, J. 1995. La región óculo-ocular en el género *Psammolestes* Bergroth, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomología y Vectores* 2:113-116.
- CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I.; CATALÁ, S.; JURBERG, J.; LENT, H.; GALVÃO, C.; BARATA, J. M. S. & VALDERRAMA, A. 1997. Some anatomic structures studied with scanning electron microscopy (SEM). In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. *Atlas dos Vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro, FIOCRUZ. v.1, p.299-393.
- CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J. & LENT, H. 1999. Filogenia dos triatomíneos. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. *Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro, FIOCRUZ. v.3, p.925-969.
- CARCAVALLO, R. U.; JUSTUS, N. S. & MARTINEZ, A. M. 1978. Descripción del las ninfas de II, III y IV estadio de *Alberprosenia goyvargasi* Martinéz & Carcavallo, 1977 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Observaciones com microscopia eletrônica de barrido. *Boletim de la Dirección de Malaria e Sanidad Ambiental* 18:131,132.
- CARCAVALLO, R. U.; OTERO, M. A.; MARTINEZ, A. & TONN, R. J. 1975. Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica del *Psammolestes arthuri* (Pinto), 1926 (Hemiptera, Reduviidae). Descripción de los estadios preimágiales. *Boletim de la Dirección de Malaria e Sanidad Ambiental* 15:231-239.
- CARCAVALLO, R. U.; RODRIGUEZ, M. E. F.; SALVATELLA, R.; SUSANA, I.; SHERLOCK, I. S.; GALVÃO, C.; ROCHA, S. R.; GALÍNDEZ-GIRON, I.; OTERO, M. A.; AROCHA, O.; MARTÍNEZ, A.; DA ROSA, J. A.; CANALE, D. M.; FARR, T. H. & BARATA J. M. S. 1998. Habitats e fauna relacionada. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. *Atlas dos Vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro, FIOCRUZ. v.2, p.561-619.

- COSTA, J. M.; JURBERG, J. & BARTH, M. O. 1991 Estudos morfológicos de *Cavernicola lenti* Barrett & Árias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **86**(2):247-263.
- DA ROSA, J. A.; BARATA, J. M. S. & BARELLI, N. 1992a. Spiracles of 5th Instar nymphs in six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) using scanning electron microscopy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **87**:301,302.
- DA ROSA, J. A.; BARATA, J. M. S.; BARELLI, N.; SANTOS, J. L. F. & NETO, F. M. B. 1992b. Sexual distinction between 5th instar nymphs of six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **87**:257-264.
- ESPÍNOLA, H. N. 1966. Nota sobre diferenças sexuais em formas imaturas de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia** **26**:263-267.
- GALLIARD, H. 1935. Recherches sur les Réduvidés Hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. V. Morphologie de l' oeuf des Triatomés. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée** **13**:511-527.
- GALÍNEZ-GIRÓN, I.; ROCHA, D. S.; LENT, H.; CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; SANTOS, H. B.; MARTÍNEZ, A.; BARATA, J. M. S. & DA ROSA, J. A. 1998. Estadios Ninfais. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ. v.2, p.449-513.
- GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R. U.; ROCHA, D. S. & JURBERG, J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa** **202**:1-36.
- GONÇALVES, T. C. M.; JURBERG, J.; COSTA, J. M. & SOUZA, W. 1985. Estudo morfológico comparativo de ovos e ninhas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Correa & Espíñola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**:276-280.
- JURBERG, J. & CAMPOS, P. 1995. Morfologia de huevos y ninñas de *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae). **Entomología y Vectores** **2**:9-22.
- JURBERG, J.; FAGUNDES, L. M. & BARTH, O. M. 1991a. Estudo morfológico de ovos e ninhas de *Dipetalogaster maximus* (Uher, 1894) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **53**:269-283.
- JURBERG, J.; GALVÃO, C. & BARTH, O. M. 1991b. Estudo morfológico de ovos e ninhas de *Triatoma nitida* Usinger, 1939 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **5**:365-372.
- JURBERG, J. & GALVÃO, C. 2006. Biology, ecology and systematics of Triatominae (Heteroptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease, and implications for human health. **Denisia** **18**:1-2.
- JURBERG, J.; GALVÃO, C.; LENT, H.; MONTEIRO, F.; LOPES, C. M.; PANZERA, F. & PÉREZ, R. 1998. Revalidação de *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Cichero, Martínez, Prosen & Ronderos, 1967 (Hemiptera-Reduviidae). **Entomología y Vectores** **5**:107-122.
- JURBERG, J.; GALVÃO, C.; NOIREAU, F.; CARCAVALLO, R. U.; ROCHA, D. S. & LENT, H. 2004. Uma Iconografia dos Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae). **Entomología y Vectores** **11**:457-494.
- JURBERG, J.; GONÇALVES, T. C. M.; COSTA, J. M. C. & SOUZA, W. 1986. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninhas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1991 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **81**(1):111-120.
- JURBERG, J.; REIS, V. R. & LENT, H. 1970. Observações sobre o ciclo evolutivo, em laboratório, do *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **30**:477-481.
- JURBERG, J.; SILVA, M. B. A.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. S.; BARBOSA, H. S. & CARCAVALLO, R. U. 2002. Descrição de ovos e estádios ninfais de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 vistos através de microscopia ótica e eletrônica de varredura. (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **97**(2):209-216.
- JURBERG, J. & VOGEL, M. 1994. Morfología de huevos y ninñas de *Triatoma matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953 (Hemiptera: Reduviidae). **Entomología y Vectores** **1**:167-177.
- LENT, H. & JURBERG, J. 1965. O gênero *Psammolestes* Bergroth, 1911, com um estudo sobre as genitálias das espécies (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **25**:344-376.
- . 1969. O gênero *Rhodnius* Stål, 1858 com estudo sobre a genitália das espécies (Hemiptera - Reduviidae - Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **29**:487-560.
- . 1970. O gênero *Eratyrus* Stål, 1859 com um estudo sobre a genitália externa (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Biologia** **30**:297-312.
- LENT, H. & WYGDZINSKY, P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of American Museum of Natural History** **163**:163-175.
- LIMA, A. C. 1940 **Insetos do Brasil, Hemípteros**. Escola Nacional de Agronomia, série didática. v.2, 351p.
- MASCARENHAS, B. M. 1987. Descrição dos estádios imaturos de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Seção Zoologia** **3**:183-194.
- MEJIA, J. M.; GALVÃO, C. & JURBERG, J. 1999. *Rhodnius colombiensis* sp. n. da Colômbia, com quadros comparativos entre estruturas fálicas do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Entomología y Vectores** **6**:601-617.
- PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. & CRUZ, H. N. 1972. Triatominae (Hemiptera, Reduviidae): sex identification in immature forms of vectors Chagas disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** **14**:6-11.
- ROCHA, D. S.; JURBERG, J. & GALVÃO, C. 1996. Descrição de ovos e ninhas de *Triatoma lecticularia* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Entomología y Vectores** **3**:123-135.
- SCHOFIELD, C. J. 1998. Biosystematics of the Triatominae. In: M. W. Service ed. **Biosystematics of Haematophagous insects**. Oxford, Clarendon. p.286-312.
- SHERLOCK, I. A.; CARCAVALLO, R. U. & GALÍNEZ-GIRÓN, I. 1998. List of natural and experimental flagella infections several Triatominae species. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNEZ GIRON, I.; JURBERG, J. & LENT, H. eds. **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ. v.1, p.289-298.
- SILVA, M. B. A.; BARBOSA, H. S.; CARCAVALLO, R. U.; GALVÃO, C. & JURBERG, J. 1999. Placas apicais do lábio das ninhas de 1º estádio de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 e *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae), vetores da doença de Chagas. **Entomología y Vectores** **6**:663-668.
- SILVA, M. B. A.; BARBOSA, H. S.; GALVÃO, C.; JURBERG, J. & CARCAVALLO, R. U. 2003. Comparative Study of the Stridulatory Sulcus, Buccula and Rostrum of the Nymphs of *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 and *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 by Scanning Electron Microscopy (Hemiptera, Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **98**:335-344.
- SILVA, M. B. A.; BARBOSA, H. S.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. & CARCAVALLO, R. U. 2002. Comparative ultrastructural analysis of the antennae of *Triatoma guazu* and *Triatoma jurbergi* during the nymphal stage development (Hemiptera, Reduviidae). **Journal of Medical Entomology** **39**:705-715.
- SILVA, M. B.; JURBERG, J.; BARBOSA, H. S.; ROCHA, D. S.; CARCAVALLO, R. U. & GALVÃO, C. 2005. Comparative morphology of eggs and nymphs of *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 and *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **100**:549-61.
- SILVA, M. B. A.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; BARBOSA, H. S. & CARCAVALLO, R. U. 1998. Same insufficiently known cuticular structures of

- the *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 93(suppl. II):345.
- SILVA, M. B. A.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. & CARCAVALLO, R. U. 2000. Estudo morfológico e morfométrico de ovos e ninhas de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) vistos por microscopia óptica e eletrônica de varredura. **Entomología y Vectores** 7:311-334.
- TONN, R. J. 1988. Potential for research on vectors of Chagas' disease. **Revista Argentina de Microbiología** 20:1-3.