

# Morfologia comparada dos ovos e ninfas de *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)

Maria Beatriz Araújo Silva, José Jurberg, Helene Santos Barbosa\*, Dayse da Silva Rocha, Rodolfo U Carcavallo, Cleber Galvão/+

Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos \*Laboratório de Biologia Estrutural, Departamento de Ultra-estrutura e Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21040-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

*Comparative morphology of eggs and nymphs of Triatoma vandae Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 and Triatoma williami Galvão, Souza & Lima, 1965 - Eggs and all nymphs of these species were studied employing light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM). The major differences observed by LM in the eggs were related to the presence and the distribution of pores on the surface of their chorion. Morphological differences among three nymphal stages (1st, 3rd, and 5th) development of each species were observed. The differential characteristics are chromatic and in the shape of connexival spots. The ultrastructure of the ventral region of the head and the IX, X, and XI abdominal segments (anal tube) of the both species were described demonstrating morphological differences that can be used for diagnosis of the species.*

Key words: *Triatoma vandae* - *Triatoma williami* - nymphs - Chagas disease - vectors

A subfamília Triatominae é composta atualmente por 136 táxons agrupados em 18 gêneros (Galvão et al. 2003, Forero et al. 2004). Todas as espécies são consideradas potenciais transmissoras do *Trypanosoma cruzi*, contudo somente algumas são vetores efetivos da doença de Chagas (Lent & Wygodzinsky 1979, Carcavallo et al. 1999). O estudo da morfologia dos ovos e dos estádios ninfais é considerado de fundamental importância para a taxonomia dos triatomíneos. As primeiras observações foram feitas por Galliard, em 1935, que realizou um estudo morfológico comparativo dos ovos de algumas espécies em microscopia óptica (MO), concluindo que diferenças na ornamentação dos ovos poderiam ser usadas para a diferenciação de espécies. Até a década de 1960, a taxonomia dos triatomíneos usava como critérios básicos, os caracteres morfológicos externos e cromáticos aliados às informações da distribuição geográfica (Lent & Wygodzinsky 1979). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem se mostrado uma importante ferramenta para uso na taxonomia, auxiliando na investigação e na análise de estruturas que permitem a diferenciação das espécies. Com a utilização desta técnica, detalhes de algumas áreas da anatomia externa dos triatomíneos vêm sendo descritos para que no futuro possam auxiliar no esclarecimento do status de espécies crípticas (Carcavallo et al. 1998a, Silva

et al. 1999, 2000, 2002, 2003, Jurberg et al. 2002). Atualmente na sistemática dos triatomíneos têm sido utilizadas também ferramentas moleculares na tentativa de ampliar o conceito específico e, especialmente, de reconstruir a filogenia da subfamília (Hypša et al. 2002, Galvão 2003, Schaefer 2003, Paula et al. 2005) entretanto, os caracteres morfológicos e morfométricos permanecem como o ponto de partida para os estudos sistemáticos.

*Triatoma williami* foi descrita em 1965 por Galvão, Souza e Lima, baseada em espécimes capturados em uma fazenda, no município de Piranhas, no estado de Goiás. É uma espécie invasora do peridomicílio e domicílio (Carcavallo et al. 1998b) e até o momento seu habitat silvestre é desconhecido. *Triatoma vandae* foi descrita por Carcavallo et al. (2002), a partir de espécimes silvestres e sua biologia e ecologia são desconhecidas (Noireau et al. 2002). As duas espécies estão incluídas no “complexo *T. oliveirai*” que, atualmente, é composto por nove espécies encontradas nas regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil (Galvão et al. 2001, Carcavallo et al. 2002).

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar ovos e ninfas de *T. vandae* e *T. williami*, comparar sua morfologia, através de MO e MEV e identificar as possíveis diferenças a serem utilizadas na diagnose das espécies.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As espécies estudadas foram provenientes de colônias mantidas no insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos do Instituto Oswaldo Cruz, segundo o protocolo CEUA nº -0014-00.

Para o estudo em MO e MEV, foram utilizados espécimes de colônias oriundas dos municípios de Goiânia, GO (*T. williami*) e Itiquira, MT (*T. vandae*). Para as observações em MO foram utilizados dois ovos e duas ninfas de cada estágio por espécie. O óperculo dos ovos foi destacado

Auxílio: CNPq, SVS-Ministério da Saúde, Chagas Disease Intervention Activities

+Autor de contato. E-mail: galvao@ioc.fiocruz.br

Recebido em 9 de junho de 2005

Aceito em 31 de agosto de 2005

e montado entre lâmina e lamínula com fenol. As ninfas recém-eclodidas foram sacrificadas em baixa temperatura com a finalidade de conservar suas características morfológicas e sua coloração. Após as observações dos aspectos cromáticos, as ninfas foram montadas em lâminas e desenhadas a seco, com auxílio de uma câmara clara acoplada a um microscópio estereoscópico Wild M5. Os ovos fragmentados foram montados entre lâmina e lamínula com álcool e desenhados em microscópio biológico Wild M20. Para a análise em MEV foram utilizados três ovos e três ninfas de cada estágio. O material foi fixado com fita dupla face em suportes metálicos com 1,2 cm de diâmetro. Devido ao pequeno diâmetro dos suportes, as ninfas de 5<sup>o</sup> estágio foram cortadas na região cefálica e fixadas com a face ventral exposta. Em seguida todo o material foi metalizado com ouro, sendo posteriormente analisado de forma comparativa no microscópio eletrônico de varredura, Zeiss, modelo DSM 940 e no microscópio eletrônico de varredura SEM Leo 430 VP. As imagens foram digitalizadas e processadas no programa Adobe Photo Shop 6.0.

## RESULTADOS

### Descrição

#### *Triatoma vandae*

##### Ovo

Coloração esbranquiçada após a postura, chegando ao rosa-salmão quando prestes a eclodir. Comprimento total médio de  $2,2 \pm 0,04$  mm. Relação diâmetro/largura máxima do opérculo 1:0,7. Exocório do opérculo e corpo ornamentados por áreas poligonais (hexagonais e pentagonais). Corpo constituído por células contendo pontuações e fissuras maiores do que as do opérculo, sendo essas ornamentadas apenas por fissuras (Fig. 1).

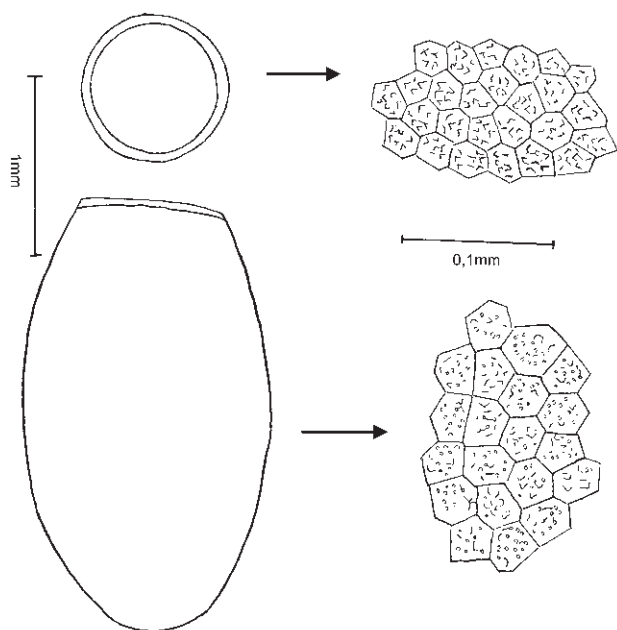


Fig. 1: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Desenho do ovo e opérculo vistos em microscopia óptica.

Pode-se observar em MEV o opérculo unido ao corpo, apresentando uma modificação gradativa da ornamentação das células que formam o exocório. Células do corpo com porosidade visivelmente maior do que as do opérculo, cujos poros são menos profundos e às vezes ausentes (Fig. 2 a-d).

##### Ninfas

1<sup>o</sup> estágio (Fig. 3) - Comprimento total  $4,1 \pm 0,10$  mm. Coloração castanho-escuro, com cerdas implantadas em tubérculos setíferos, desde porção mediana da região anteocular até a sutura pós-ocular. Corpo piloso. Suturas cefálicas dorsais pós-oculares convergentes formando um “V” e prolongando-se até o 2<sup>o</sup> segmento abdominal. Tegumento da cabeça em vista dorsal de aspecto irregular, pilosidade presente na região mediana dorsal (frente) e nos bordos laterais. Jugas de ápices arredondados atingindo uma pequena porção do 1<sup>o</sup> segmento antenal. Presença de 1+1 faixas menos granulosas na região da sinlipsis separadas por alguns tubérculos que se fundem na altura da sutura pós-ocular. Olhos compostos negros, constituídos por omatídeos afastados uns dos outros, contendo uma área pósterio-inferior lisa e sem omatídeos. Proporção entre a região pós-ocular e a anteocular de 1:2,5. Proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,6. Antenas tetrarticuladas, inseridas lateralmente em tubérculos localizados no limite do terço anterior da cabeça, apresentando uma protuberância que contém uma cerda no bordo lateral. Coloração mais clara nos dois primeiros segmentos e na metade apical do 4<sup>o</sup> segmento. Cerdas antenais com maior densidade nos 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> segmentos, especialmente nos bordos laterais. Proporções entre os artículos antenais: 1:2,0:2,6:3,0. Rostro triarticulado, retilíneo com o 3<sup>o</sup> segmento em repouso, atingindo o bordo anterior do proesterno, de coloração menos intensa do que a da cabeça. Proporções entre os segmentos de 1:2,3:0,8. Tórax ornamentado dorsalmente por poucas cerdas implantadas em tubérculos setíferos com maior intensidade no metanoto. Pronoto trapezoidal, castanho-escuro dorsalmente; dividido em duas partes iguais por uma linha mediana longitudinal de coloração mais clara, tubérculos discais de coloração mais clara visíveis. Mesonoto de coloração negra, formado por 1+1 placas retangulares, dividido por uma faixa membranosa dorsal, com os bordos laterais e inferior irregulares de coloração mais clara. Metanoto de coloração negra, formado por 1+1 placas retangulares de bordos internos retos e bordos externos superiores com 1+1 projeções arredondadas. Pernas apresentando coxas, trocânteres e a porção mediana basal dos fêmures mais claros do que as tíbias e os tarsos. Fêmures medianos e posteriores com 3+3 tubérculos setíferos na região inferior. Abdomen castanho-claro, ornamentado por tubérculos setíferos em fileiras paralelas por toda a extensão do segmento; 8<sup>o</sup> e 9<sup>o</sup> urotergitos com 1+1 placas escuras.

2<sup>o</sup> estágio (Fig. 4) - Comprimento total  $6,4 \pm 0,83$  mm. Coloração castanho-escuro, apresentando cerdas implantadas em tubérculos setíferos em maior quantidade nos bordos laterais da região anteocular, contendo 1+1 linhas paralelas na região mediana dorsal. Segmentos torácicos ornamentados com tubérculos setíferos, ângulos discais visíveis no pronoto. Pronoto e mesonoto divididos por uma

faixa membranosa mais clara, contendo 1+1 áreas glabras centrais no bordo posterior do 2º ao 7º tergito. Os fêmures apresentam uma região anelar mais escura na região distal e as tíbias mais claras. Manchas conexas a partir do 2º tergito; 1+1 placas quitinizadas no bordo superior do 8º tergito e 1+1 nos bordos laterais do 9º tergito. Proporção média entre a região pós-ocular e a anteocular de 1:1,9. Proporção entre a sinlípsis e a região ocular de 1:1,4. Os artículos antenais com proporções médias de 1:2,5:3,1:3,6. Rosto com as seguintes proporções médias: 1:3,0:1,3.

3º estágio (Fig. 5) - Comprimento total  $9 \pm 0,37$  mm. Coloração castanho-escuro; cabeça com o tegumento granuloso contendo cerdas inseridas em tubérculos setíferos 1+1 linhas paralelas centrais na região mediana dorsal. Protórax com 2+2 áreas de aspecto reniforme e 1+1 no mesotórax, nos bordos posteriores laterais 1+1 áreas glabras claras. Uma faixa clara no bordo inferior do mesotórax. Antenas negras, exceto na metade apical do 4º segmento.

No abdome, 1+1 áreas glabras na região central do 1º ao 5º tergitos e 1+1 placas laterais no bordo inferior do 9º tergito. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteocular proporção de 1:2,8 e entre a sinlípsis e a região ocular de 1:1,6. Artículos antenais com as proporções médias de: 1:2,9:3,0:3,3. Proporções médias entre os segmentos do rosto de 1:3,3:1,2.

4º estágio (Fig. 6) - Comprimento total  $12,5 \pm 0,44$ . Coloração castanho-escuro, tórax negro. Apresenta aumento no número de tubérculos setíferos nos bordos laterais da cabeça, mantendo 1+1 linhas paralelas na região mediana dorsal até a sutura pós-ocular. Jugas de ápices triangulares. Pronoto com tubérculos disciais visíveis e 1+1 áreas glabras circundadas pelo tegumento granuloso, o mesmo ocorrendo no mesotórax com 1+1 áreas de aspecto reniforme. Tecas alares evidenciadas; as do 1º par atingem a porção média do metatórax e as do 2º atingem o 1º segmento abdominal. As pernas apresentam na porção

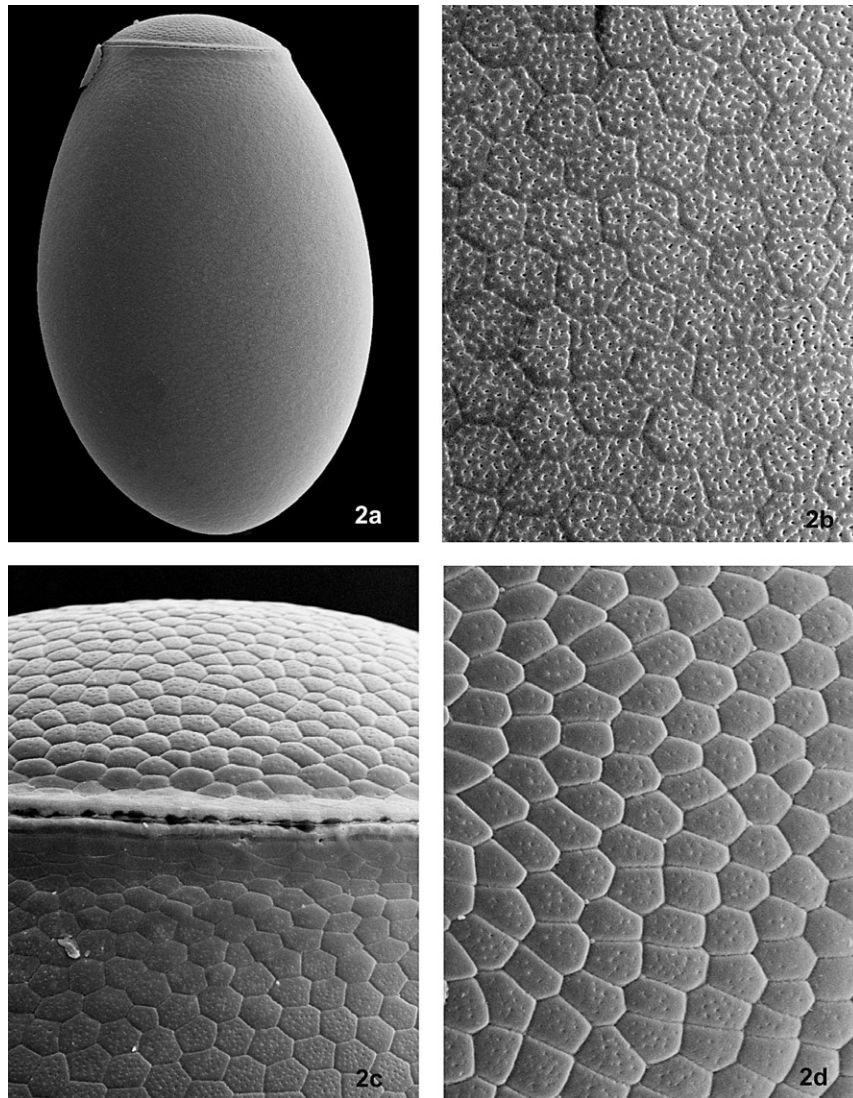


Fig. 2: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ovo visto através de microscopia eletrônica de varredura - a: vista geral (133×); b: detalhe da superfície do opérculo (1.000×); c: detalhe do bordo superior e opérculo (790×); d: detalhe da superfície do opérculo (1.000×).



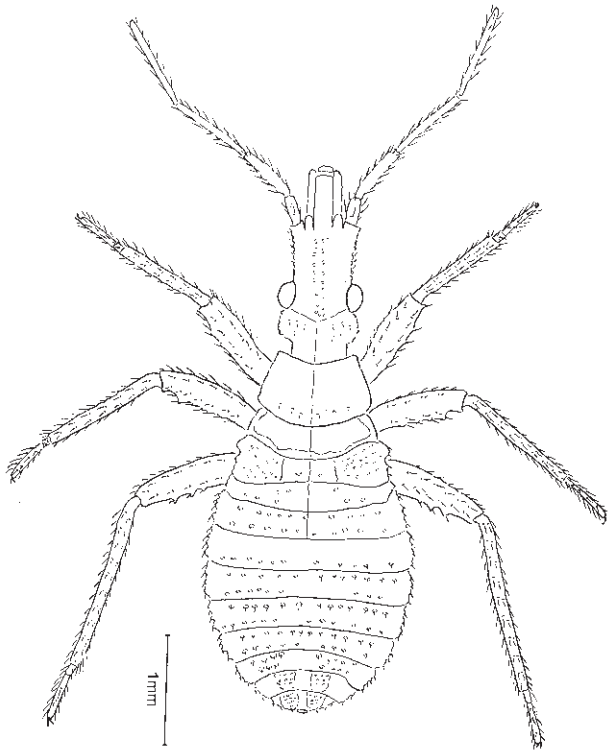


Fig. 3: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ninfa de 1º estágio, vista dorsal.

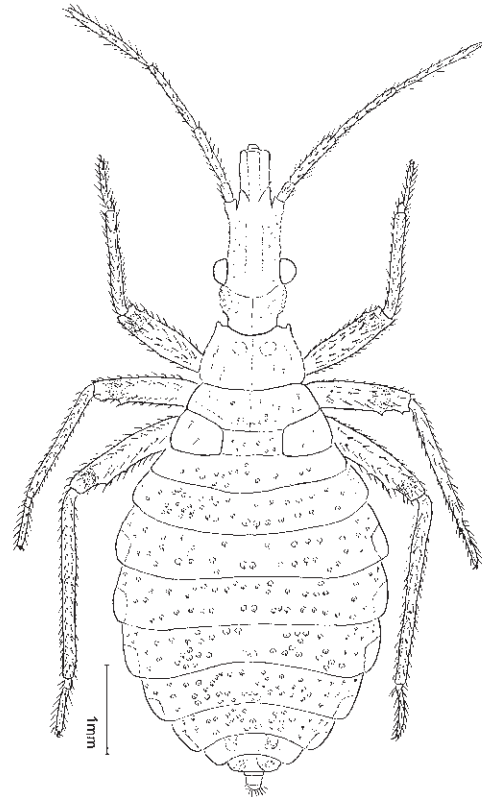


Fig. 4: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ninfa de 2º estágio, vista dorsal.

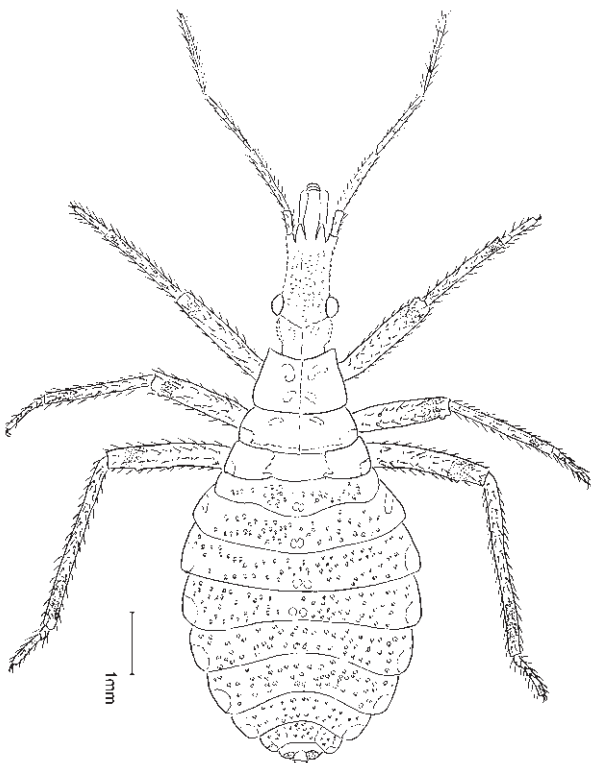


Fig. 5: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ninfa de 3º estágio, vista dorsal.

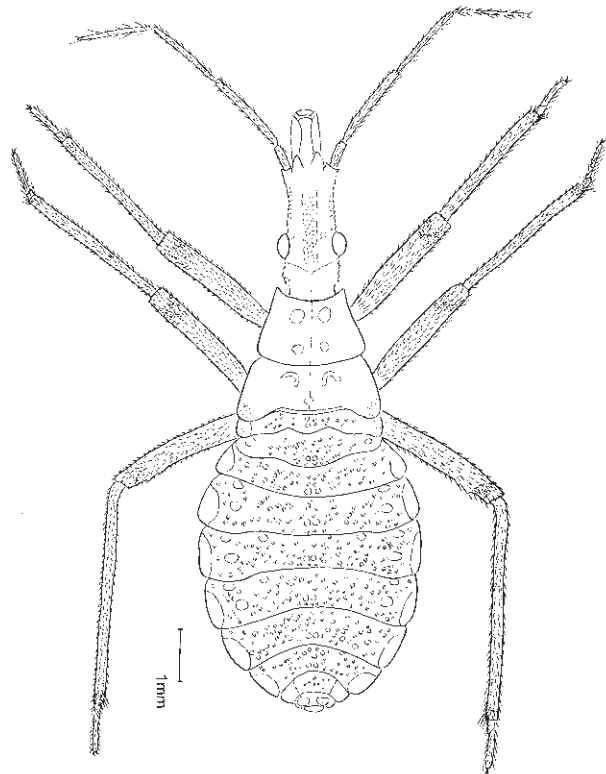


Fig. 6: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ninfa de 4º estágio, vista dorsal.

terminal dos fêmures e tíbias um anel de coloração mais clara. O abdome encontra-se mais ornamentado, com 1+1 áreas glabras do 1<sup>o</sup> ao 6<sup>o</sup> tergito e 1+1 placas retangulares no 9<sup>o</sup> tergito. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteocular proporção média de 1:3 e entre a sinlipsis e a região ocular 1:1,6. Artículos antenais com as seguintes proporções médias: 1:3,8:3,3:3,4. Rostro com proporções médias de 1:3,2:1,1.

5<sup>o</sup> estágio (Fig. 7) - Comprimento total  $19,3 \pm 0,57$  mm. Coloração castanho-escuro, clipeo unilobado e jugas com os ápices de formato triangular, 1+1 áreas glabras acima das protuberâncias de surgimento dos ocelos. Os três primeiros e a porção basal do 4<sup>o</sup> segmento antenal de coloração negra. Tórax negro com os ângulos laterais de coloração mais clara e tubérculos discais visíveis. No mesotórax, uma pequena porção da faixa clara do bordo inferior presente e uma área glabra central. O abdome mostra manchas conexas, 1+1 áreas glabras no 1<sup>o</sup> segmento, uma área glabra do 2<sup>o</sup> ao 6<sup>o</sup>, e 2+2 áreas circulares escuras no bordo inferior no 9<sup>o</sup> segmento abdominal. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteocular proporção média de 1:2,9 e proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,6. Artículos antenais com as seguintes proporções médias: 1:3,8:3,1:2,6. Rostro com as proporções médias de 1:2,4:0,9.

A análise MEV da região inter-ocular ventral permite visualizar nas ninfas de 1<sup>o</sup> estágio uma diferenciação do tecido reticular logo abaixo dos olhos compostos e algumas papilas (Fig. 8a). No 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> estádios esta estrutura se

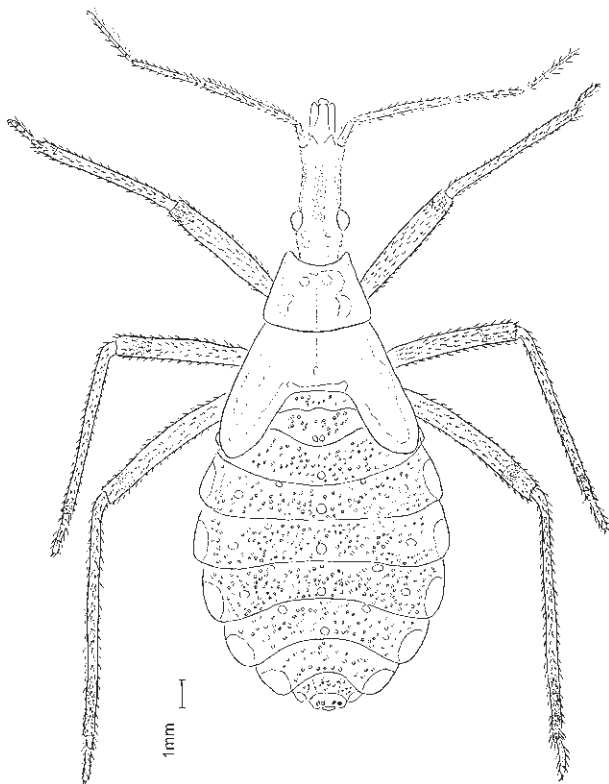


Fig. 7: *Triatoma vandeae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Ninfã de 5<sup>o</sup> estágio, vista dorsal.

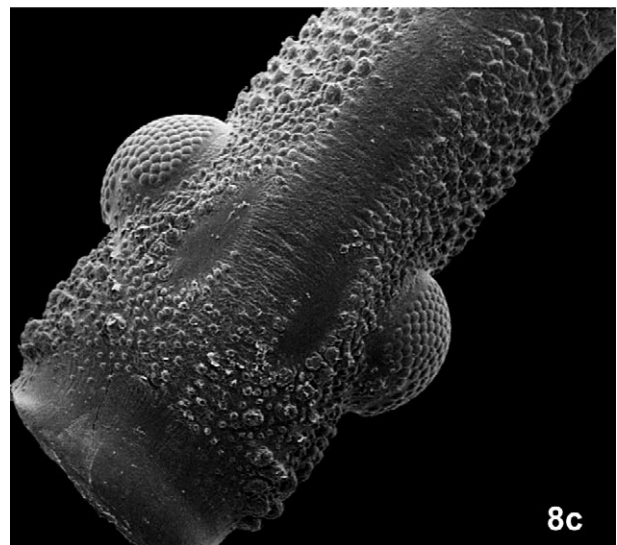
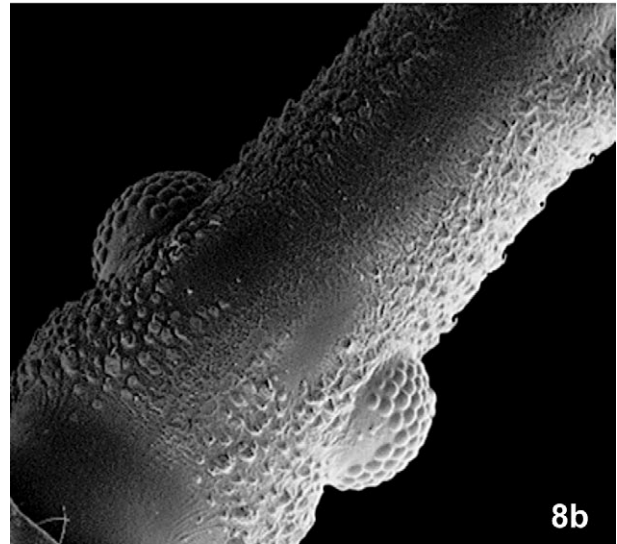
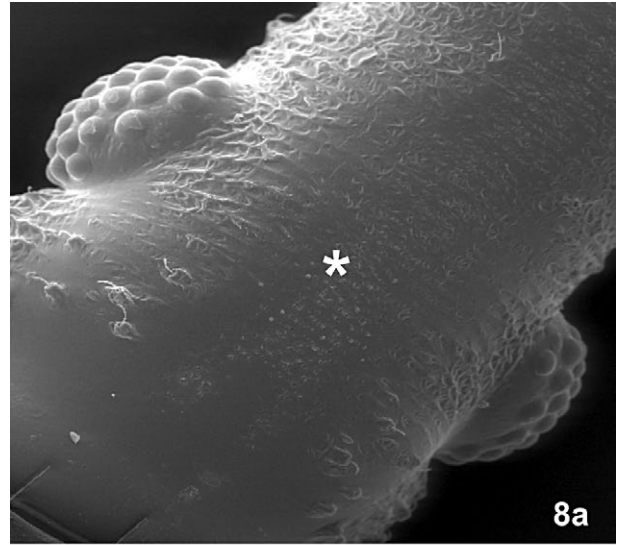


Fig. 8: *Triatoma vandeae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 - Região inter-ocular ventral das ninfas de 1<sup>o</sup> estágio - a; 2<sup>o</sup> estágio - b; 3<sup>o</sup> estágio - c. 140 $\times$ ; 80 $\times$ ; 70 $\times$ .



apresenta com o formato ovalar e circundada por papilas (Fig. 8b,c). A análise por MEV dos últimos segmentos abdominais caracteriza-se por apresentar nas ninfas de 1º estágio o X segmento também de forma anular, notando-se a presença marcante de quatro cerdas grandes, sendo duas na região mediana e duas na região posterior e com algumas cerdas pequenas espalhadas aleatoriamente (Fig.

9a). Em maior aumento, notam-se com detalhes os grânulos da região interna do X segmento que se exterioriza para a borda deste segmento (Fig. 9b). No XI segmento, visualizam-se diferentes tipos de sensilas (Fig. 9a, b, d). No 3º estágio, observam-se os espiráculos respiratórios no 7º e 8º segmentos abdominais e uma diferenciação do tegumento em toda a extensão dos segmentos (Fig. 9c-f).

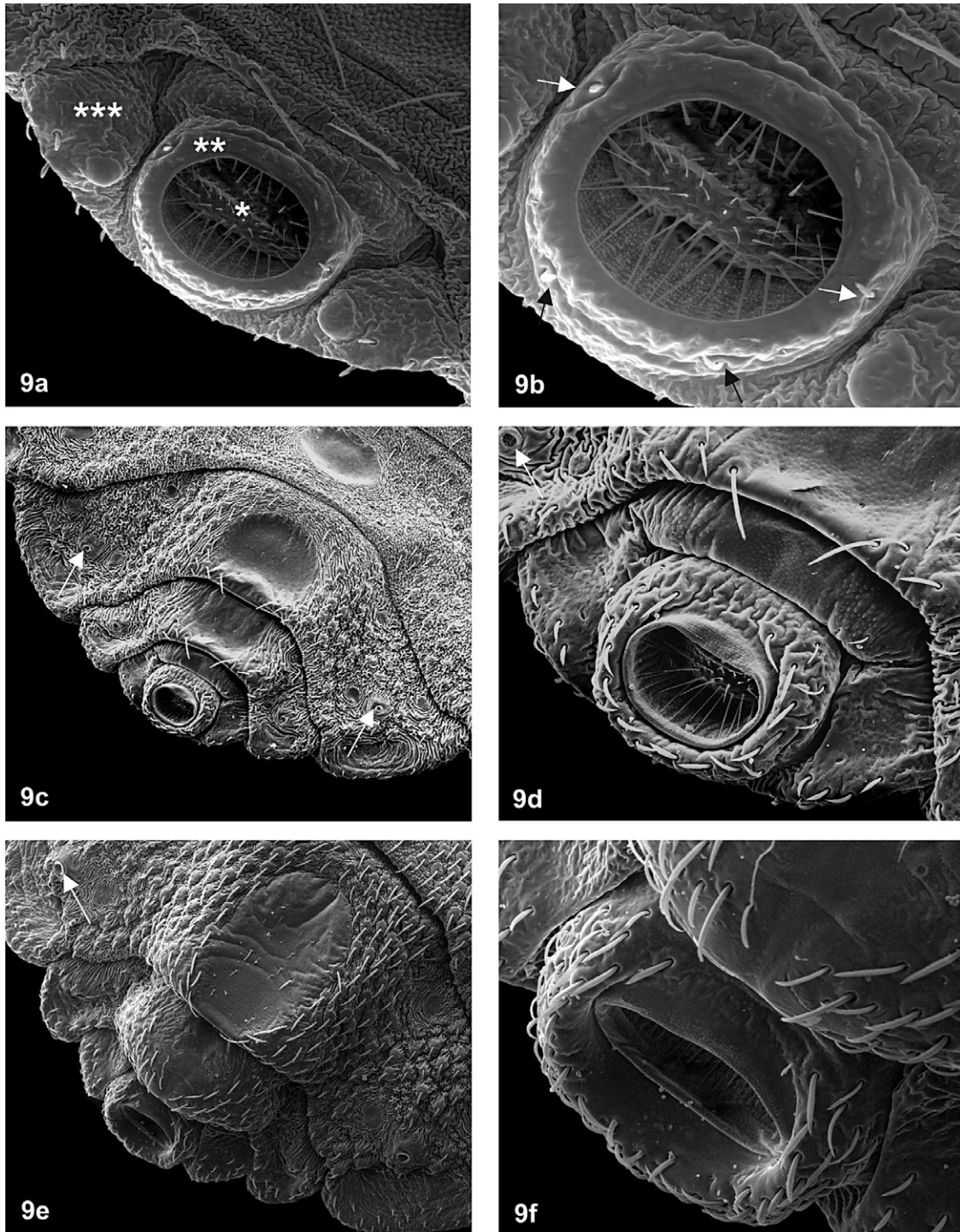


Fig. 9: *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002. Últimos segmentos abdominais. Nos 1º (a, b; 200×; 350×), 2º (c, d; 100×; 380×) e 3º (e, f; 100×; 570×) estádios ninfais. Segmentos: VIII\*\*\*, IX\*\* e X\*. Espiráculos respiratórios: setas.

*Triatoma williami*

Ovos

Apresentam a proporção média de 1:1,9 com relação ao diâmetro do opérculo e a largura máxima e o comprimento total de  $2,1 \pm 0,05$  mm. Em MO, o opérculo apresenta pontuações aleatórias distribuídas em células hexagonais e pentagonais, corpo formado por células maiores hexagonais justapostas e outras menores, com pontuações aleatórias (Fig. 10). Através da MEV pode-se observar que são menores e as pontuações aleatórias distribuídas em células hexagonais e pentagonais do opérculo, em menor quantidade do que as do corpo, e possuem um formato mais abaulado (Fig. 11a, b, c).

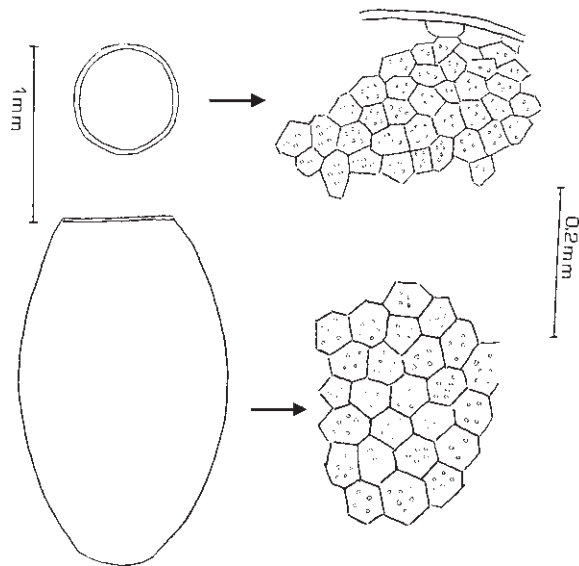


Fig. 10: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ovo e opérculo vistos em microscopia óptica.

Ninfas

1<sup>o</sup> estádio (Fig. 12) - Comprimento total  $3,2 \pm 0,14$  mm. Coloração geral castanho-claro. Cabeça em vista dorsal apresenta o tegumento que recobre toda sua extensão de aspecto granular, presença de tubérculos setíferos distribuídos aleatoriamente, com maior concentração nos bordos laterais, nas regiões ante e pós-ocular. Clipeo unilobado, jugas de ápices arredondados atingindo a região basal do 1<sup>o</sup> segmento antenal. Sulco pós-ocular bem demarcado seguindo em direção ao tórax. Em vista ventral, apresenta inúmeros tubérculos setíferos em toda sua extensão, exceto em uma faixa larga na região inter-ocular e menor quantidade numa faixa longitudinal que se estende da jugá até o pescoço. Olhos compostos negros, constituídos por omatídeos circulares afastados uns dos outros, contendo uma área pósterio-inferior lisa e sem omatídeos. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteocular a proporção média de 1:2,4 e proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,6. Antenas tetrarticuladas, inseridas em tubérculos laterais localizados no limite do terço anterior da cabeça; possui em suas extremidades laterais uma protuberância saliente contendo uma cerda grossa em seus ápices. Coloração castanho-escuro nos três primeiros segmentos incluindo a metade basal do 4<sup>o</sup> segmento, cuja metade apical caracteriza-se pela coloração castanho-claro com sensilas longas inseridas espaçadamente. Demais segmentos ornamentados por sensilas que se encontram em menor quantidade no 1<sup>o</sup> segmento. Artículos antenais com as proporções médias de: 1:2,3:3,3:3,7. Rostro triarticulado, retilíneo, com o 3<sup>o</sup> segmento atingindo o bordo anterior do prosterno quando em repouso, de coloração menos intensa do que a cabeça. Os três segmentos encontram-se ornamentados por sensilas que aumentam em quantidade e tamanho no 3<sup>o</sup> segmento. Os segmentos apresentam proporções médias de 1:2,0:1. Tórax de coloração castanho-claro, ornamentado

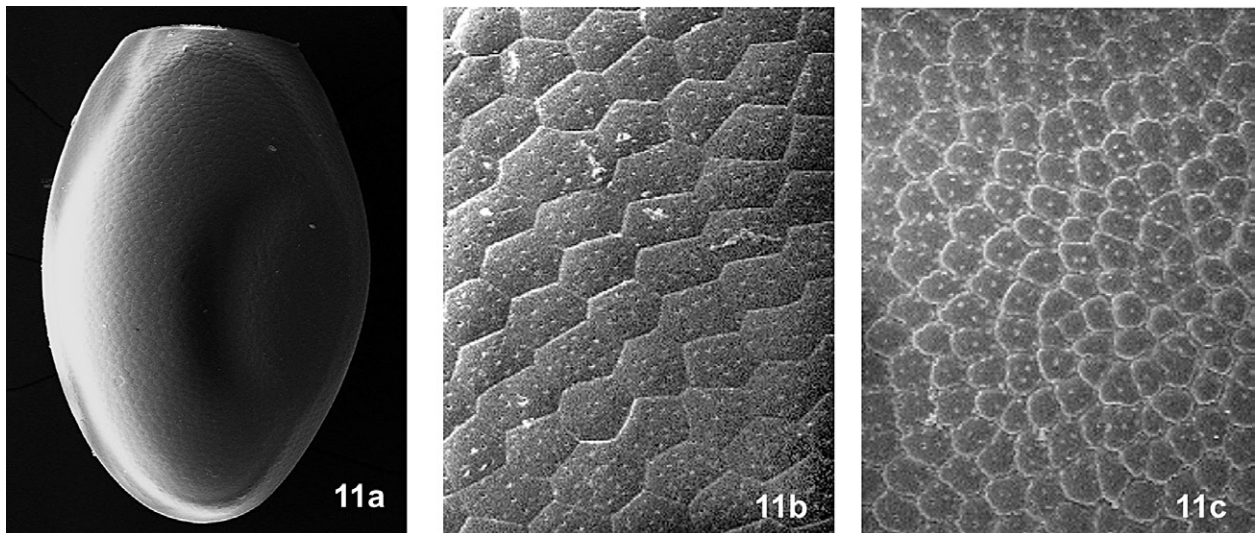


Fig. 11: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ovo visto através de microscopia eletrônica de varredura - a: vista geral (133x); b: detalhe da superfície do opérculo (1000x); c: detalhe da superfície do corpo (1000x).



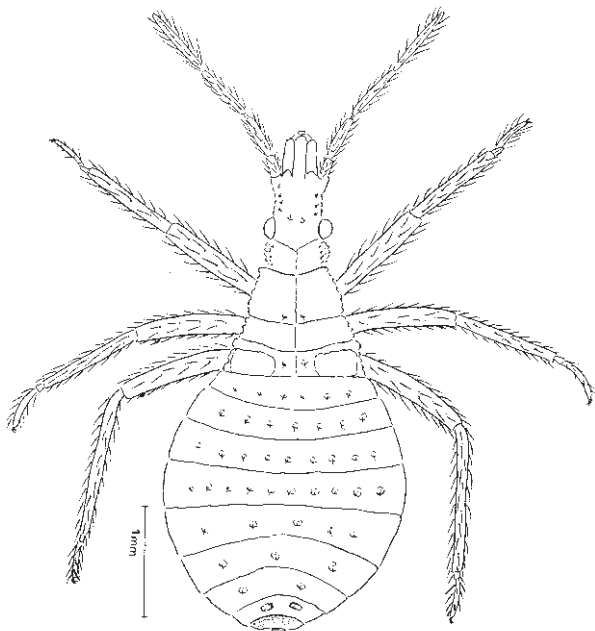


Fig. 12: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ninfas de 1º estágio, vista dorsal.

dorsalmente com poucas cerdas implantadas em tubérculos distribuídos aleatoriamente ao longo dos segmentos. Pronoto de forma trapezoidal, ornamentado lateralmente por uma faixa clara dos ângulos ântero-laterais até o limite inferior. Dorsalmente dividido em duas partes iguais por uma linha mediana longitudinal mais clara. Tubérculos disciais visíveis. Mesonoto representado por 1+1 placas retangulares; bordos laterais e inferiores delimitados por uma faixa clara lateralmente e inferiormente contendo poucos pêlos na região lateral, sendo dividido por uma faixa membranosa dorsal. Metanoto formado por 1+1 placas retangulares menores do que o mesonoto. Pernas apresentando coxa, trocânteres, articulações entre fêmures e tíbias e os dois terços basais dos fêmures mais claros do que as tíbias e os tarsos. Abdomen com coloração castanho-claro, nítida marcação dos nove segmentos, separados por uma delicada membrana. Segmentos ornamentados por tubérculos setíferos dispostos em fileiras que se intensificam nos quatro primeiros. No 8º tergito, apresenta 1+1 placas retangulares e uma única placa ocupando quase toda porção do nono tergito.

2º estágio (Fig. 13) - Comprimento total  $6,3 \pm 0$  mm. Coloração castanho-escuro. Cerdas da cabeça implantadas em tubérculos setíferos na região lateral da região anteo-ocular, em maior concentração na região mediana que se estende das jugas até a sutura inter-ocular e nas extremidades laterais nas calosidades pós-oculares. Os três segmentos torácicos encontram-se delimitados lateralmente por uma faixa clara, sendo cobertos por cerdas inseridas em tubérculos dispostos aleatoriamente. Manchas conexas presentes a partir do 2º segmento abdominal, contendo áreas glabras centrais 1+1 do 2º ao 6º tergito. Apresenta

entre a região pós-ocular e a anteo-ocular proporção média de 1:2,5; proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,5. Artículos antenais com proporções médias de 1:2,2:3,9:3,0. Rostro com proporções médias de 1:3:1,3.

3º estágio (Fig. 14) - Comprimento total  $8,6 \pm 0,19$  mm. Coloração castanho escuro, cerdas implantadas em tubérculos setíferos da região anteo-ocular até a calosidade pós-ocular, com maior concentração na região central onde se encontram em fileiras paralelas. Jugas de forma triangular. Protuberâncias oclares presentes. Antenas de coloração negra nos três primeiros segmentos e nos 2/3 basais do 4º segmento. Tórax delimitado, lateralmente, por uma faixa clara com 1+1 tubérculos disciais. Abdomen com 1+1 áreas glabras no bordo inferior central do 1º ao 5º tergitos. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteo-ocular a proporção média de 1:2,3 e entre a sinlipsis e a região ocular 1:1,6. Artículos antenais com proporções médias de 1:3,1:3,0:4,8. Rostro com proporções médias de 1:3,1:1,2.

4º estágio (Fig. 15) - Comprimento total  $11,2 \pm 0,37$  mm. Coloração castanho-pardo. Cabeça ornamentada com cerdas inseridas em tubérculos com maior concentração da região anteo-ocular até a calosidade pós-ocular. Tecas alares evidenciadas, sendo que o primeiro par atinge o bordo anterior do metatórax e o segundo atinge uma pequena porção do 1º tergito. Mesotórax com 1+1 áreas de aspecto reniforme e ângulos disciais presentes no protórax. Pernas de coloração marron, mais claras do que o corpo. Abdomen com 1+1 áreas glabras do 2º ao 5º tergitos. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteo-ocular a proporção média de

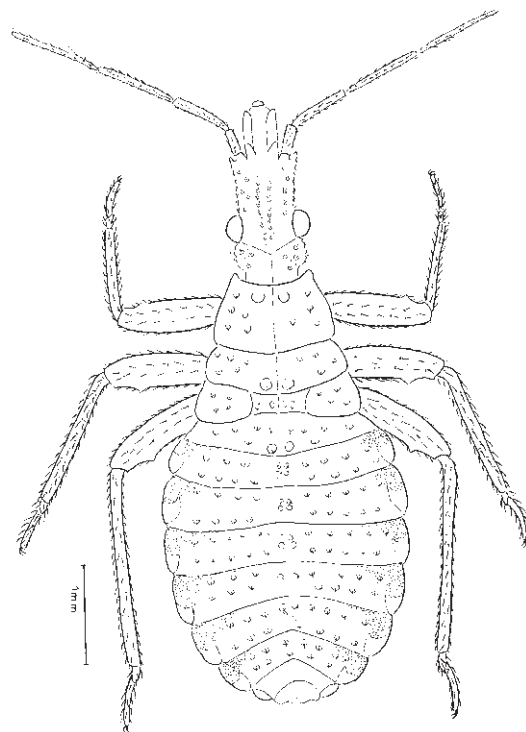


Fig. 13: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ninfas de 2º estágio, vista dorsal.



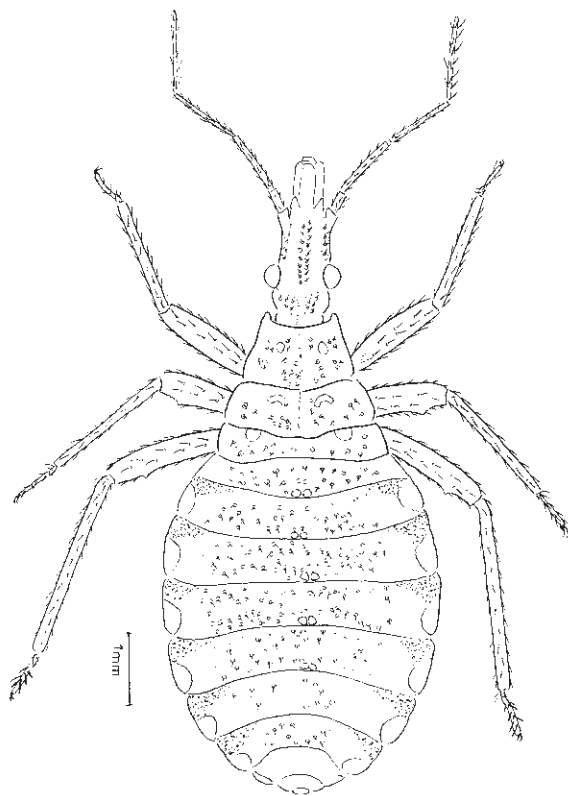


Fig. 14: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ninfa de 3º estágio, vista dorsal.

1:2,9. Proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,5. Artículos antenais com proporções médias de 1:3,4:3,5:3,4. Rostro com proporções médias de: 1:3,0:1,3.

5º estágio (Fig. 16) - Comprimento total  $18,0 \pm 0$  mm. Coloração parda. Cabeça contendo cerdas implantadas em tubérculos setíferos localizados nas genas, com maior concentração na faixa central que se estende das jugas até o sulco pós-ocular e aleatoriamente nas calosidades pós-oculares, conferindo um aspecto granuloso a toda a cabeça. Jugas com aspecto triangular, com 1+1 protuberâncias dorsais no ponto de surgimento dos ocelos, olhos compostos, negros, constituídos por omátídeos justapostos. Três primeiros segmentos antenais e base do 4º de coloração negra. Pronoto lateralmente ornamentado com faixa clara, 1+1 áreas de aspecto reniforme no mesotórax. Tecas alares quase atingindo o bordo inferior do 2º segmento abdominal. Abdome mostrando manchas conexas contendo uma região mais clara no bordo inferior dos segmentos, com área glabra do 2º ao 6º tergitos. Apresenta entre a região pós-ocular e a anteocular a proporção média de 1:2,9. Proporção entre a sinlipsis e a região ocular de 1:1,6. Artículos antenais com proporções médias de 1:4,3:3,7:3,7. Rostro com proporções médias de 1:2,5:1,1.

Através da MEV da região inter-ocular ventral, visualizam-se, nas ninfas de 1º estágio, uma diferenciação do tecido reticular logo abaixo dos olhos compostos e algumas papilas (Fig. 17a). No 3º e 5º estádios, podem-se visualizar 1+1 áreas glabras ovais próximas ao bordo interno dos olhos; a área central está recoberta por inúmeros tubérculos

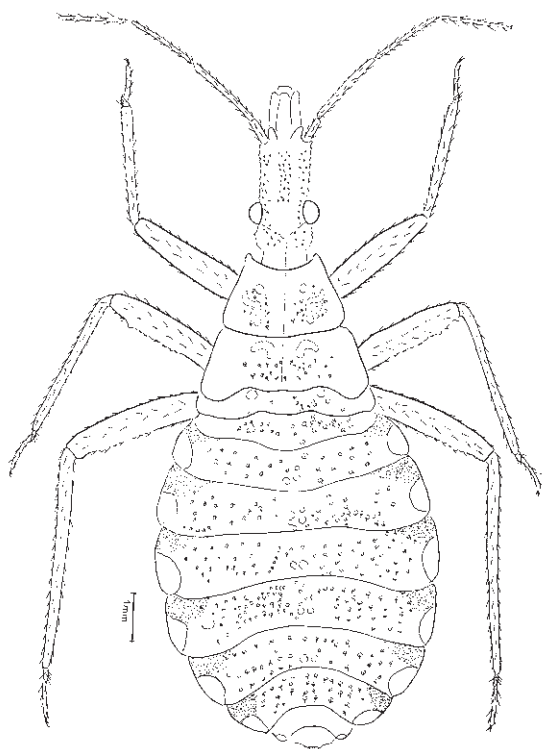


Fig. 15: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ninfa de 4º estágio, vista dorsal.

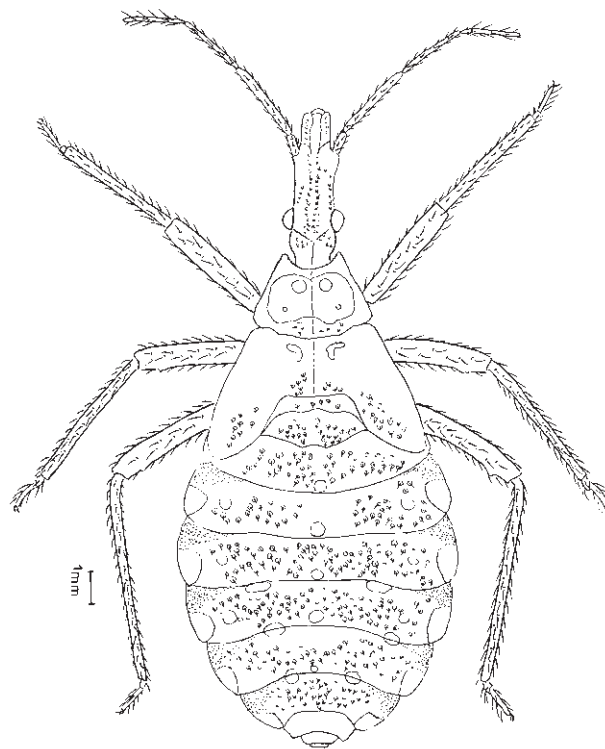


Fig. 16: *Triatoma william* Galvão, Souza & Lima, 1965. Ninfa de 5º estágio, vista dorsal.

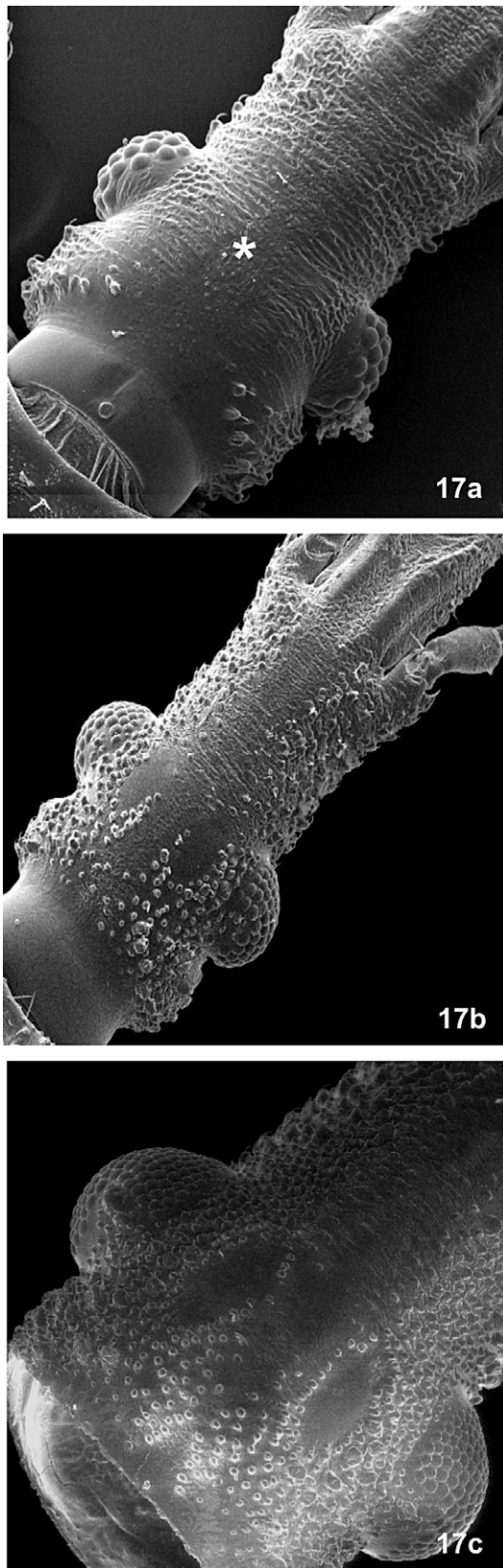


Fig. 17: *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Cabeça: microscopia eletrônica de varredura da região ventral inter-ocular (\*). a: ninfa de 1<sup>o</sup> estágio (165×); b: ninfa de 3<sup>o</sup> estágio (80×); c: ninfa de 5<sup>o</sup> estágio (50×).

arredondados, menos densos do que nas áreas próximas aos bordos internos dos olhos (Fig. 17b-c). A MEV dos últimos segmentos abdominais (IX ao XI) mostra o X segmento de forma anular com inúmeras cerdas grossas e decumbentes ao redor da abertura (Fig. 18a, b). No IX segmento, tubérculos setíferos proeminentes com cerdas de ápice rombo e serrilhado (Fig. 18b). Nos estádios seguintes, os últimos segmentos (IX ao XI) apresentam o XI segmento ou ânus telescopando-se dentro do X segmento e mostram nos seus bordos superiores e inferiores uma série de cerdas longas e afiladas (Fig. 18b-d). O X segmento tem o seu interior constituído por um tegumento estriado transversalmente e o exterior coroador por 1+1 fileiras de cerdas grossas decumbentes (Fig. 18 e, f).

#### DISCUSSÃO

A importância do conhecimento dos ovos dos triatomíneos foi ressaltada por Pinto (1924) quando teve a oportunidade de descrever a morfologia e a coloração dos ovos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1925, conseguindo diferenciá-la das outras espécies de “barbeiros” existentes no Brasil. Barata (1981) mostrou a possibilidade de empregar as estruturas e as distintas ornamentações do exócório e opérculo dos ovos na diagnose das espécies, incluindo uma chave para identificação de dez espécies do gênero *Rhodnius*. Aspectos da morfologia externa e do exócório e as dimensões dos ovos em nove gêneros de triatomíneos foram descritos por Barata (1998). Um sumário dos trabalhos dedicados à morfologia de ovos e ninfas de triatomíneos foi publicado recentemente por Galvão et al. (2005).

No presente trabalho, verificamos por MO que a superfície do exócório dos ovos de *T. vanda* apresentou células do corpo ornamentadas por pontuações e fissuras e as células do opérculo apenas por fissuras, enquanto *T. williami* apresentou células ornamentadas por pontuações, dispostas ao acaso no corpo e no opérculo. Estes ovos, quando observados comparativamente por MO, apresentaram características macroscópicas no seu exócório capazes de distinguir as espécies pertencentes ao mesmo complexo. Em *T. matogrossensis*, o exócório é formado por um sistema de linhas irregulares e curvas (Jurberg & Vogel 1994). Já 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. A proporção entre o diâmetro do opérculo e a largura máxima do ovo de *T. vanda* é menor do que em *T. williami*, diferente de *T. jurbergi* e *T. guazu* que apresentam estes índices iguais entre si. Por MEV *T. vanda* apresenta uma porosidade visivelmente maior nas células do corpo do que as observadas em *T. williami*.

No presente trabalho pode-se constatar, entre outras diferenças, as relacionadas às manchas conexivais que surgem a partir do 2<sup>o</sup> estágio. Em *T. vanda* essas manchas conexivais apresentam-se claras e definidas ocupando a metade inferior do segmento. Em *T. williami*, estas manchas são pouco definidas, ocupando uma parte da porção



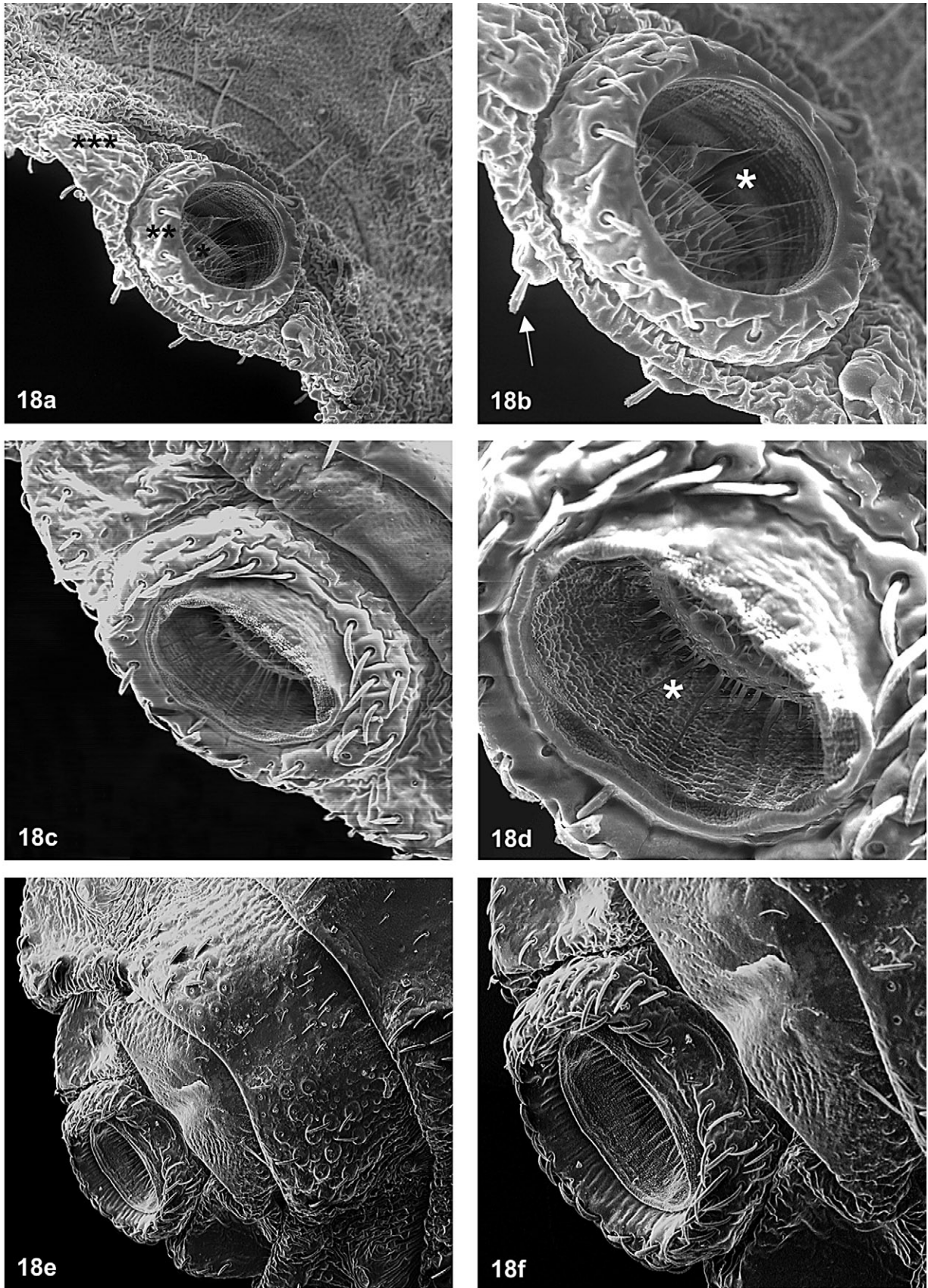


Fig. 18: *Triatoma wiliami* Galvão, Souza & Lima, 1965. Vista ventral dos últimos segmentos abdominais por microscopia eletrônica de varredura. Segmentos IX\*\*\*, X\*\* e XI\*. Nos 1<sup>o</sup> (a, b; 200×, 380×), 3<sup>o</sup> (c, d; 200×; 580×) e 5<sup>o</sup> (e, f; 160×; 300×) estádios ninfais.



superior dos segmentos abdominais. Há também diferenças cromáticas entre as duas espécies estudadas, assim como previamente observado nas ninfas de outras espécies do complexo *T. oliveirai* (Jurberg & Vogel 1994, Silva et al. 1999, 2000, 2002, 2003, Jurberg et al. 2002). Diversos autores têm buscado novos parâmetros que, associados aos apresentados por Lent e Wygodzinsky (1979), permitam avançar e tentar elaborar uma chave de identificação específica (Carcavallo et al. 1994a, b, c, 1995, Galíndez-Girón et al. 1998).

A análise comparativa por MEV dos últimos segmentos abdominais e da região ventral inter-ocular do 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> estádios possibilitou verificar diferenças morfológicas entre as ninfas das espécies estudadas. Com relação ao X segmento abdominal das ninfas de 1<sup>o</sup> estádio, observamos que *T. vanda* apresentou quatro cerdas grandes, sendo que duas delas na região mediana e duas na região posterior, contando ainda, com algumas cerdas pequenas espalhadas ao acaso, enquanto *T. williami* apresentou cerdas por toda a circunferência abdominal. Pode-se visualizar no IX segmento tubérculos setíferos proeminentes com cerdas de ápice rombo e serrilhado apenas em *T. williami*, característica esta não observada em *T. vanda*. A morfologia dos últimos segmentos abdominais das ninfas dos triatomíneos já tem sido evidenciada por vários autores (Espínola 1966, Rosa et al. 1992a, b) que definiram o futuro sexo através de sua morfologia. Carcavallo et al. (1994b, c, 1995) evidenciaram semelhanças e diferenças com valor sistemático da região óculo-ocular das espécies conhecidas do gênero *Rhodnius* Stål, 1859, de 11 espécies do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 e do gênero *Psammolestes* Bergroth, 1911. No presente trabalho observou-se que a configuração destas estruturas varia com a evolução dos estádios em *T. vanda* e *T. williami*. As diferenças encontradas poderão minorar as dúvidas na identificação das formas imaturas destas espécies e serem empregadas para diagnose das espécies e na organização de chaves dicotômicas para ninfas.

#### REFERÊNCIAS

- Barata JMS 1981. Aspectos morfológicos de ovos de triatomíneos. II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera-Reduviidae). *Rev Saúde Públ São Paulo* 15: 490-542.
- Barata JMS 1998. Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae). In: RU Carcavallo, I. Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.), *Atlas of Disease Vectors in the Americas*, Fiocruz, Rio de Janeiro, Vol. II, p. 409-448.
- Carcavallo RU, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Galíndez-Girón I, Jurberg J, Galvão C, Mena Segura CA. 1999. Geographical distribution and altitudinal dispersion. In: RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, Vol. III, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 747-792.
- Carcavallo RU, Galíndez-Girón I, Catalá S, Jurberg J, Lent H, Galvão C, Barata JMS, Valderrama A 1998a. Some anatomic structures studied with scanning electron microscopy (SEM). In: RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, Vol. I, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 299-393.
- Carcavallo RU, Galíndez-Girón I, Jurberg J 1995. La región óculo-ocular en el género *Psammolestes* Bergroth, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomol Vect* 2: 113-116.
- Carcavallo RU, Galíndez-Girón I, Jurberg J, Martínez A 1994c. La región óculo-ocular en el género *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomol Vect* 1: 113-120.
- Carcavallo RU, Galíndez-Girón I, Martínez A, Jurberg J 1994a. Cuticular structures of Triatominae. Their taxonomic significance. *Entomol Vect* 1: 79-91.
- Carcavallo RU, Jurberg J, Martínez A, Galíndez-Girón I 1994b. La región óculo-ocular en género *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomol Vect* 1: 21-32.
- Carcavallo RU, Jurberg J, Rocha DS, Galvão C, Noireau, Lent H 2002. *Triatoma vanda* n. sp. do Complexo *oliveirai* encontrada no estado de Mato Grosso, Brasil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 649-654.
- Carcavallo RU, Rodríguez MEF, Salvatella R, Susana I Curto de Casas, Sherlock IS, Galvão C, Rocha DS, Galíndez-Girón I, Otero MA, Arocha O, Martínez A, Da Rosa JÁ, Canale DM, Farr TH, Barata JMS 1998b. Habitats and related fauna. In: RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, Vol. II, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 561-600.
- Espínola HN 1966. Nota sobre diferenças sexuais em formas imaturas de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Rev Brasil Biol* 26: 263-267.
- Forero D, Weirauch C, Baena M. 2004. Synonymy of the reduviid (Hemiptera: Heteroptera) genus *Torrealbaia* (Triatominae) with *Amphibolus* (Harpactorinae), with notes on *Amphibolus venator* (Klug, 1830). *Zootaxa* 670: 1-12.
- Galliard H 1935. Recherches sur les réduvidés hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. V. Morphologie de l'oeuf des triatomes. *Ann Parasit Hum Comp* 13: 511-527.
- Galíndez-Girón I, Rocha DS, Lent H, Carcavallo RU, Jurberg J, Galvão C, Santos HB, Martínez A, Barata JMS, Rosa JA da 1998. Nymphal stages. In: RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (eds.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*, Vol. II, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 449-513.
- Galvão C 2003. A sistemática dos triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de De Geer ao DNA. *Entomol Vect* 10: 511-530.
- Galvão C, Carcavallo RU, Rocha DS, 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.
- Galvão C, Mc Aloon M, Rocha DS, Schaeffer CW, Patterson JS, Jurberg J 2005 Description of eggs and nymphs of *Linshcosteus karupus* Galvão, Patterson, Rocha & Jurberg, 2002 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Ann Ent Soc Am* 98 (in press)
- Galvão C, Rocha DS, Jurberg J, Carcavallo RU 2001. Ampliação da distribuição geográfica de *Triatoma deaneorum* Galvão, Souza & Lima, 1967, nova denominação para *Triatoma deanei* (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 34: 587-589.
- Hypša V, Tietz DF, Zrzavý J, Rego ROM, Galvão C, Jurberg J 2002. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. *Mol Phyl Evol* 23: 447-457.
- Jurberg J, Vogel M 1994. Morfologia de huevos y ninfas de *Triatoma matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953 (Hemiptera: Reduviidae). *Entomol Vect* 1: 167-177.

- Jurberg J, Silva MBA, Galvão C, Rocha DS, Barbosa HS, Carcavallo RU 2002. Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 vistos através de microscopia óptica e eletrônica de varredura (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 209-216.
- Lent H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera - Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Amer Mus Nat Hist* 163: 123-520.
- Noireau F, Santos SM, Gumiel M, Dujardin JP, Soares MS, Carcavallo RU, Galvão C, Jurberg J 2002. Phylogenetic relationships within the *oliveirai* complex (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Infect Gen Evol* 2:11-17.
- Paula AS, Dioatiuti L, Schofield CJ 2005. Testing the sister-group relationship of the Rhodniini and Triatomini (Insecta: Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Molecular Phylogenetics Evol* 35: 712-718.
- Pinto C 1924. Biologia do *Triatoma brasiliensis* Neiva. *Sci Méd* 2: 541-543.
- Rosa JA da, Barata JMS, Barelli N 1992a. Spiracles of 5th instar nymphs in six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) using scanning electron microscopy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 301-302.
- Rosa JA da, Barata JMS, Barelli N, Santos JLF, Neto FMB 1992b. Sexual distinction between 5th instar nymphs of six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 257-264.
- Schaefer CW 2003. Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): systematic questions and some others. *Neotrop Entomol* 32: 1-10.
- Silva MBA, Barbosa HS, Carcavallo RU, Galvão C, Jurberg J 1999. Placas apicais do lábio das ninfas de 1º estágio de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 e *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae), vetores da doença de chagas. *Entomol Vect* 6: 663-668.
- Silva MBA, Barbosa HS, Galvão C, Jurberg J, Carcavallo RU 2003. Comparative study of the stridulatorium 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). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 335-344.
- Silva MBA, Jurberg J, Galvão C, Carcavallo RU 2000. Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) vistos através de microscopia óptica e eletrônica de varredura. *Entomol Vect* 7: 311- 334.
- Silva MBA, Barbosa HS, Jurberg J, Galvão C, Carcavallo RU 2002. Comparative ultrastructural analysis of the antennae of *Triatoma guazu* and *Triatoma jurbergi* during the nymphal stage development (Hemiptera, Reduviidae). *J Med Entomol* 39: 705-715.