JOSÉ MARIA SOARES ^{me}BARATA

Ø

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE OVOS DO GÊNERO
RHODNIUS STAL, 1859 (HETEROPTERA, REDUVIIDAE)
E SUA IMPORTÂNCIA NA IDENTIFICAÇÃO ESPECÍFICA.

TESE APRESENTADA À FACUL-
DADE DE SAÚDE PÚBLICA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAU-
LO. DEPARTAMENTO DE EPI-
DEMIOLOGIA, PARA OBTEN-
ÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
SAÚDE PÚBLICA.

SÃO PAULO, 1979.

BIBLIOTECA
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
S P - 8

DEDICATÓRIAS.

À EUDINA A.M. DE FREITAS BARATA
que se afastando da pesquisa e do ensino,
e a nossos filhos LUIZ ANDRÊ,
LUIZ AUGUSTO, LUIZ ANTONIO e FLÁVIA,
para quem consagrou-se em dedicação exclusiva.

À MEUS PAIS
GUIOMARY E LÚCIA

À memória de
Dino B.G. Pattoli

AGRADECIMENTOS.

Ao Professor Doutor Oswaldo Paulo Forattini pela orientação, estímulo e apoio irrestrito.

Ao Professor Doutor Jair Lício Ferreira dos Santos pela valiosa contribuição no planejamento e análise estatística das mensurações dos ovos.

Aos Doutores Alberto Morales, Instituto Nacional de la Salud, Bogotá, Colômbia; Antonio D'Alessandro, Universidad de Valle Calli, Calli, Colômbia; Arlita C. de Pinho, Departamento de Biologia Geral, Faculdade de Filosofia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais; Edelmira Mora Silveira, Instituto de Malariologia, Maracay, Aragua, Venezuela; E. Osorno Mesa, Laboratório do Instituto Nacional para programa Especiales de Salud (INPES), Bogotá, Colômbia; Habib Frahia Neto, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará, Brasil; Hélio Espínola, Organização Panamericana de Saúde, Aragua, Venezuela; Italo Sherlock, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia; Joaquim Alencar e Otávio F. Bezerra da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará; José Jurberg e Wanda Cunha Ramos, Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil; José Torrealba, Universidad de Los Andes, Merida, Venezuela; Octavio E. Souza, Gorgas Memorial Laboratory, Canal Zone, Panamá; Oswaldo Pinto Serra e Noé Von Atzingen, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil; Rodrigo Zeledon, Universidad de Costa Rica, El Salvador, Costa Rica; pela gentileza do envio de material.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do equipamento de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Centro Brasileiro de Estudos Entomológicos em Epidemiologia (CENTEP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de recursos materiais.

À Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior (CAPES) pela concessão de auxílio financeiro especial.

Ao Dr. Tibério Cescon, ao Senhor Antonio Carlos Joaquim e a Doutora Vera Joaquim do Laboratório de Metalografia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas pela prestimosa colaboração.

Ao Carlos Alberto Paula Leite, à Celina Toshimi Uehara e à Eudina A.M. de Freitas Barata, pela ajuda, apoio, sugestões e revisões incontáveis, tanto relacionado às atividades laboratoriais quanto à elaboração do manuscrito.

Ao Senhor Belanto Ribeiro da Silva pela revisão de português.

À Leda C.P. de Campos Camargo, Dayse Pires Noronha e Maria Terezinha Dias de Andrade, pelo apoio e revisões bibliográficas.

À Teodora de Paiva Pinheiro e Margareth Suely Peraçoli, pela ajuda, apoio e revisões do texto.

Aos funcionários do Departamento de Epidemiologia e Centro Brasileiro de Estudos Entomológicos em Epidemiologia (CENTEP) que contribuíram direta ou indiretamente na execução deste trabalho nossos sinceros agradecimentos.

ÍNDICE

	PÁG.
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
2.1. OBSERVAÇÕES DOS OVOS E CASCAS QUANTO A FORMA E COLORAÇÃO ATRAVÉS DA LUPA ES- TEREOSCÓPICA.....	8
2.2. MENSURAÇÃO DOS OVOS.....	8
2.2.1. MODELO PARA ANÁLISE DE VARIÂN- CIA.....	10
2.2.2. CONTRASTES.....	12
2.3. OBSERVAÇÕES DO EXOCÓRIO ATRAVÉS DE MI- CROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	13
2.4. OBSERVAÇÕES DO EXOCÓRIO ATRAVÉS DE MI- CROSCOPIA ÓTICA (MO).....	14
2.4.1. OBSERVAÇÕES POR TRANSPARÊNCIA DE PLANOS.....	14
2.4.2. OBSERVAÇÕES POR TRANSPARÊNCIA DE CORTES TRANSVERSAIS.....	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	16
3.1. GENERALIDADES SOBRE OS OVOS, SUAS MEN- SURAÇÕES E FORMAÇÕES EXOCORIAIS NO GÊ- NERO <i>Rhodnius</i>	17
3.1.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS OVOS E DAS CASCAS.....	19
3.1.2. MENSURAÇÃO DOS OVOS.....	27
3.1.2.1. PARÂMETROS ESTIMADOS.....	29

3.1.2.2. TESTES PRELIMINARES:	
HOMOGENEIDADE DE VA	
RIÂNCIAS.....	29
3.1.2.3. TESTES PRELIMINARES:	
AFERIÇÃO DO PESQUI-	
SADOR.....	30
3.1.2.4. ANÁLISE DE VARIÂNCIA.....	32
3.1.2.5. CONTRASTES.....	37
3.1.3. CARACTERÍSTICAS GERAIS DO EXO	
CÓRIO.....	40
3.2. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DOS OVOS,	
SUAS MENSURAÇÕES E FORMAÇÕES EXOCO-	
RIAS.....	51
3.2.1. <i>R.domesticus</i>	52
3.2.2. <i>R.ecuadoriensis</i>	56
3.2.3. <i>R.nasutus</i>	61
3.2.4. <i>R.neglectus</i>	66
3.2.5. <i>R.neivai</i>	73
3.2.6. <i>R.pallescens</i>	77
3.2.7. <i>R.paraensis</i>	88
3.2.8. <i>R.pictipes</i>	93
3.2.9. <i>R.prolixus</i>	99
3.2.10. <i>R.robustus</i>	105
3.3. CHAVE PARA CLASSIFICAÇÃO-MICROSCOPIA	
ÓTICA.....	110
3.4. CHAVE PARA CLASSIFICAÇÃO-MICROSCOPIA	
ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	114

	PÁG
4. CONCLUSÕES	118
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	123
6. ANEXOS.....	129

RESUMO.

O presente trabalho consta do estudo da escultura exocorial de ovos de dez espécies do gênero *Rhodnius* (Heteroptera-Reduviidae) através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia ótica, com vistas à classificação taxionômica. Concomitantemente são apresentados dados sobre os aspectos gerais das cascas e dos ovos, quanto à forma, mensuração e coloração, bem como as modificações que poderão ocorrer quanto à forma e coloração desses ovos durante o desenvolvimento embrionário pós-oviposição. Utilizando as características citadas são elaboradas chaves dicotômicas para a classificação destas espécies, baseadas na utilização de caracteres visíveis pela microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura.

SUMMARY .

Morphological studies about exochorial patterns of *Rhodnius* (Heteroptera - Reduviidae) genus were made. Ten species were studied by scanning and common microscopy, and data were described mainly for systematic purposes. General aspects of eggs and shells such as shape, color patterns, and size measurements are also presented. Data about changes of shape and coloration occurred during egg maturation were recorded and associated to the embryonic development. The characters described were utilized to work out identification keys for these Triatominae eggs, both by optical and scanning electron microscopy.

1. INTRODUÇÃO.

O papel do inseto vetor é sem dúvida, decisivo no controle da tripanossomíase americana, quer pela alta capacidade de domiciliação de determinadas espécies de triatomíneos, quer pelas próprias características da doença, como dificuldade de diagnóstico precoce, cronicidade, ausência de tratamento e imunização adequada ou mesmo pela alta frequência de animais reservatórios domesticados ou domiciliados. Desta maneira novas informações sobre esses insetos, tanto em sua fase adulta, quanto de ninfa ou de ovo, serão sempre importantes elementos para se estabelecer diagnósticos específicos cada vez mais precisos e que conseqüentemente virão auxiliar no esclarecimento do papel que desempenha cada espécie transmissora no relacionamento com os diferentes hospedeiros. Aspectos ecológicos esses, que deverão ser aprofundados com o desenvolvimento das campanhas de controle, quando serão mais necessários o conhecimento dessas espécies em todos os seus estágios biológicos, principalmente porque está comprovado que com o desenvolvimento destas medidas, particularmente nas áreas em vigilância, as populações vetoras tornam-se rarefeitas, e no ambiente domiciliar passam a ser mais frequentes o encontro de ovos ou cascas de ovos do que ninfas ou adultos. Portanto, tornando-se necessário dar maior importância ao registro e identificação específica desses ovos, fato que não ocorre no momento, quando esses casos são registrados apenas como suspeitos de infestação.

O objetivo deste trabalho é o estabelecimento do diagnóstico de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stal, 1859 através das características dos ovos. Embora essas estejam, basicamente situadas na escultura exocorial, acresceu-se a

elas aspectos macroscópicos dos ovos e das cascas.

Quanto à escultura exocorial, embora a subfamília Triatominae seja formada por mais de cem espécies, apenas 19 têm dados referentes a esta formação: gênero *Panstrongylus* (1 espécie: *P. megistus*), gênero *Psammolestes* (1 espécie: *P. coreodes*), gênero *Rhodnius* (2 espécies: *R. prolixus* e *R. neglectus*) e gênero *Triatoma* (15 espécies: *T. brasiliensis*, *T. delponte*, *T. dimidiata*, *T. eratyrusiforme*, *T. guasayana*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. patagonica*, *T. platensis*, *T. protracta*, *T. pseudomaculata*, *T. rubrofasciata*, *T. rubrovaria*, *T. sordida* e *T. vitticeps*).

Há muito tempo Galliard²⁰ (1935) mostrou que as cascas e opérculos dos ovos de triatomíneos apresentam em sua superfície externa uma ornamentação característica e constante que permite distinguir as diferentes espécies uma das outras.

Em anos subsequentes, Beament⁶ (1946) estudando a origem, formação e função das diferentes estruturas dos ovos de *R. prolixus* descreve também as esculturas exocoriais da casca e do opérculo desta espécie.

Posteriormente Abalos & Wygodzinsky¹ (1951) estudando os triatomíneos argentinos preocupam-se também com esse aspecto, descrevem então os ovos e respectivos exocórios de dez espécies desta subfamília, e embora seu estudo tivesse abrangido três gêneros, não foi incluído o gênero *Rhodnius*, cuja distribuição geográfica não alcança aquele país (Lent & Jurberg²⁶, 1969).

A partir daí alguns autores, como Herrer e col.²¹ (1954) e Correa & Spinola¹⁵ (1964), certamente alertados pa

ra a importância dessas estruturas na diferenciação específica, ao fazerem descrições de espécies novas incluíram entre as características convencionais de adultos e ninfas, aspectos relativos aos ovos e seus exocórios.

Entretanto foi somente com Barth & Muth⁵ (1958) e Lucena & Rego²⁸ (1969) que se começou a fazer exclusivamente estudos das características exocoriais de ovos de *Triatoma*, mesmo assim, como outros autores citados, limitaram-se ao estudo aleatório de diferentes gêneros. Barth & Muth⁵ (1958) foram também os únicos autores a estudar quanto a esse aspecto mais de uma espécie de *Rhodnius* (*R. prolixus* e *R. neglectus*) e a apresentar algumas características específicas, contudo não chegaram a estabelecer parâmetros sistemáticos, certamente devido ao pequeno número de espécies trabalhadas.

Quanto aos aspectos macroscópicos dos ovos, os dados mais antigos são sempre referentes a *R. prolixus* (Brumpt^{9,10,11}, 1913, 1927 e 1949; Larrousse²⁵, 1927; Uribe³⁶, 1927; Galliard²⁰, 1935; Beament⁶, 1946) e em poucos trabalhos mais recentes alguns desses aspectos têm sido estendidos a outras espécies. Tal é o caso da presença ou ausência de projeções exocoriais em sete espécies deste gênero (Forattini & Barata¹⁷, 1974), ou da mensuração e coloração de ovos de três espécies de *Rhodnius* (Lent & Valderrama²⁷, 1977).

Para este trabalho deu-se prioridade ao gênero *Rhodnius*, entre outros fatores, porque neste gênero está *R. prolixus*, que ao lado de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* são no momento atual, as espécies epidemiologicamente mais importantes na transmissão da tripanossomíase a-

mericana. Paralelamente esta espécie é a mais eficaz transmissora em extensas áreas da região Neotropical, particularmente no norte e noroeste da América do Sul, certamente devido às suas características de alta capacidade de domiciliação, elevada densidade encontrada nos domicílios, grande suscetibilidade ao *Trypanosoma cruzi* e sua ampla distribuição geográfica. Distribuição essa que se estende desde o sul do México até ao norte do Brasil. Contudo já assinalada bem mais ao sul deste país, quando encontrada por Tavares³⁴ (1971) no Estado de São Paulo cohabitando com *R. neglectus* ninhos de pássaros em casa abandonadas; embora esse encontro tenha sido de maneira isolada e não mais se repetido até o momento.

Outra espécie pertencente a esse gênero e também epidemiologicamente muito importante, é *R. neglectus*, pois tem ampla distribuição no Brasil e mantém todas as características de *R. prolixus*, apenas que está mais restrita ao ambiente natural. Entretanto registros da capacidade em invadir ecótopos artificiais foi verificada em São Paulo e Minas Gerais, através de colonizações em galinheiros experimentais (Forattini e col.^{18,19}, 1971, 1979). Por outro lado, com alguma frequência, tem sido observada a sua colonização no ambiente domiciliar (Barreto e col.⁴, 1968; Forattini e col.¹⁸, 1971).

Outra particularidade em *Rhodnius* que nos fez optar por sua escolha é o fato destas espécies terem ovos que se fixam ao substrato, característica essa provavelmente associada a hábitos ornitófilos primitivos ou atuais e que disso adviriam alguns aspectos morfológicos e/ou ecológicos peculiares a esse grupo, tais como a presença de opérculos

inclinados em relação ao plano sagital do ovo, o que garante durante a eclosão um deslocamento do opérculo livre de obstáculos. E a presença neste gênero e em espécie de outros gêneros que fazem fixação dos ovos, de um tipo de escultura exocorial constante e a cujas estruturas deverão estar relacionado algum fator decisivo à fixação.

Finalmente este trabalho é parte inicial e básica de um projeto mais extenso, e com ele ficam delineados padrões taxionômicos que deverão ser aplicados nos próximos estudos dos outros gêneros de Triatominae. Caberia portanto ao CENTEP*, não só a responsabilidade das futuras pesquisas neste sentido, mas também ser instituído como Centro de Referência para confirmações de diagnóstico e esclarecimento de dúvidas sobre o assunto.

* Centro Brasileiro de Estudos Entomológicos em Epidemiologia (Convênio entre o Ministério da Saúde/Universidade de São Paulo-Faculdade de Saúde Pública).

2. MATERIAL E MÉTODOS.

Praticamente todo o material estudado, com exceção de algumas doações de cascas, foi obtido a partir de colônias mantidas no insetário do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo . Estas foram constituídas por material coletado no campo ou a partir de cepas doadas por diferentes pesquisadores. Os barbeiros destas colônias são alimentados uma vez por mês com sangue de ave e mantidos em estufa em temperatura constante (28°C) e com umidade relativa do ar de 70 a 80%. Desses insetos foram então retirados ovos e cascas para as observações constantes no presente trabalho.

Dez espécies de *Rhodnius* com um total de 32 procedências e/ou amostras foram estudadas, e citadas no Capítulo 3.2, respectivamente em características específicas ou no item material examinado relacionado em cada uma das espécies estudadas. Frequentemente cada procedência passou a ser tomada como uma amostra, entretanto quando para uma espécie havia mais de uma colônia de mesma procedência passou-se a considerar cada uma das procedências como uma distinta amostra, portanto, neste caso, "amostra" não é o número de exemplares analisados. Estes serão fornecidos à medida que cada um dos processos for sendo mencionado.

Nas espécies em que ficou constatado maior variação de caracteres macroscópicos ou microscópicos, o número de exemplares examinados foi gradativamente aumentado, em algumas e para determinadas características foi necessário o exame de todo o material. De qualquer forma, foi possível encontrar mesmo nestas, padrões que pudessem ser utilizados como referências taxionômicas, o que não foi verificado no estudo das estruturas exocoriais do opérculo, motivo pelo qual tive

mos de desprezã-lo no presente trabalho.

2.1. Observações dos ovos e cascas quanto à forma e coloração através da lupa estereoscópica.

Para estas observações utilizou-se lupa estereoscópica com exame à luz natural. Para observações quanto ao aspecto da casca foram estudadas todas as espécies e procedências relacionadas neste trabalho; não tendo sido determinado número fixo de exemplares, todo o material disponível foi examinado. Para observações de ovos embrionados com vistas à mudança de forma e/ou coloração durante a evolução do embrião foram estudadas as seguintes espécies: *R.ecuadoriensis*, *R.nasutus*, *R.neglectus*, *R.neivai*, *R.pictipes*, *R.prolixus* e *R.robustus*; sempre que possível foram tomados 20 ovos recém-postos, mantidos em idênticas condições das colônias e examinados diariamente até a eclosão das ninfas. Pela impossibilidade de aquisição de material vivo de *R.domesticus* e *R.palles-cens* foram destas espécies examinados ovos embrionados mortos em diferentes estágios de evolução. Devido à impossibilidade de obtenção de material embrionado de *R.paraensis* deixamos de descrever esse aspecto.

2.2. Mensurações dos ovos.

Foram medidos os ovos das dez espécies e 32 procedências citados no Capítulo 3.2., e juntamente com esses uma amostra a mais foi estudada. Trata-se de *Rhodnius* "híbrido" resultante do cruzamento de ♂ de *R.prolixus* com ♀ "híbrida" (*R.neglectus* X *R.prolixus*) proveniente da Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia. Entretanto *R.pictipes* e *R.paraensis* não foram incluídos nos cálculos estatísticos por se ter, na ocasião medidas de apenas um exemplar.

Esses ovos foram medidos sempre nas linhas tangente do maior comprimento e diâmetro, utilizando-se micrômetro Mitutoyo fixado pelo arco a um suporte de madeira. Para melhor operação inicialmente os ovos foram colados em pequenas tiras de cartolina (para medir o comprimento foram colados transversalmente e para o diâmetro o foram paralelamente); essas tiras repousando sobre uma ranhura improvisada em um suporte de cortiça foram ajustadas perpendicularmente ao eixo do medidor do micrômetro (Figura 1).

Fig. 1 - Sistema montado para as medições de ovos de *Rhadinus*. a) suporte de madeira com entalhe para manter micrômetro na posição vertical. b) rocha de cortiça com entalhe que permita o movimento da tira de cartolina. c) tira de cartolina onde são colados os ovos.

Para que se tivesse certeza que o eixo do medidor tangenciava os extremos da superfície do ovo (tocando-o sem comprimí-lo) esse sistema foi examinado sob lupa estereoscópica. Passando-se então a fazer as leituras registradas no aparelho, e cujos métodos relacionamos a seguir.

2.2.1. Modelo para análise de variância.

Para maior precisão das medidas de cada ovo, tomou-se duas medidas dos 5 ovos de cada espécie e procedência. Não se considerou "mensuração" como nova variável visto que não são as suas eventuais variações que estão em questão. Ainda se deve ponderar que tendo sido realizadas pelo mesmo investigador as 2 medidas não podem ser consideradas rigorosamente independentes. Assim, a média das 2 observações é suposta como apenas uma mensuração mais precisa do comprimento e do diâmetro de cada ovo. Como se deseja comparar origens apenas dentro de uma mesma espécie, trata-se de um modelo hierárquico. Não se pretende também inferir os resultados para todas as espécies, mas apenas para as estudadas. Desta maneira o modelo hierárquico será do tipo fixo, e os testes serão realizados ao nível de 5%.

- Especificação:

Seguindo o considerado acima, o modelo pode ser especificado (tanto para análise do comprimento como para o diâmetro), segundo Johnson & Leone²⁴ (1967):

$$X_{t,i,j} = A + M_t + S_{t,i} + Z_{t,i,j} \quad \text{onde}$$

A = média geral

M = desvio médio, com relação a A , para t -ésima espécie.

$S_{t,i}$ = desvio médio, com relação a $A + M_t$, para a i -ésima procedência da t -ésima espécie.

$Z_{t,i,j}$ = resíduo para a j -ésima observação, na i -ésima procedência da t -ésima espécie.

$X_{t,i,j}$ = valor observado (comprimento ou diâmetro) na j -ésima observação da i -ésima procedência, t -ésima espécie.

Os índices denotam:

$j = 1, 2, 3, 4, 5$ (número de observações na i -ésima procedência, t -ésima espécie).

$i = 1, 2, \dots, m_t$ (número de procedências na t -ésima espécie).

$t = 1, 2, \dots, k$ (número de espécies).

- Pressupostos:

Será pressuposto como usual em análise de variância:

- a) Esperança matemática de $Z_{t,i} = 0$ para todo t e todo i .
- b) $Z_{t,i}$ são variáveis aleatórias mutuamente independentes, normalmente distribuídas.

- Testes preliminares:

Aferição do pesquisador: com o objetivo de detectar eventuais vícios de mensuração, procedeu-se à avaliação do pesquisador. Para tanto o pesquisador procedeu a 30 mensurações de um mesmo ovo (comprimento e diâmetro). A variabilidade das medidas foi comparada com o erro do instrumento, e a distribuição das medidas com distribuição normal. A 1ª comparação foi realizada segundo técnicas de testes de médias (Dixon & Massey¹⁶, 1957) e a segunda através do teste de Kolmogorof-Smirnov (Siegel³², 1975).

Variâncias: realizou-se também o teste de Cochran para a homogeneidade de variâncias. (Siegel³², 1975).

- Testes:

a) O teste de que $M_1 = M_2 = \dots = M_k = 0$ será realizado pelo teste F através da comparação do quadrado médio entre espécies com o quadrado médio dos resíduos.

b) O teste de que $S_{t,i} = 0$ para todo t e todo i será realizado através da comparação do quadrado médio "entre procedências, dentro de espécies" com o quadrado médio do resíduo.

c) Nos casos aplicáveis, será testado dentro de cada espécie, a igualdade dos $S_{t,i}$. O quadrado médio utilizado para a comparação com o quadrado médio residual será:

$$S^2 = \frac{1}{m_t - 1} \sum_{i=1}^{m_t} n_{t,i} (\bar{x}_{t,i} - \bar{x}_{t..})^2$$

(Johnson & Leone²⁴, 1967)

d) Todos os testes serão realizados ao nível α de 5%.

e) Determinação dos quadrados médios foram realizados segundo Johnson & Leone²⁴ (1967).

2.2.2 Contrastes.

Para as variáveis cujos quocientes de quadrados médios foram significantes ao nível de 5% procedeu-se à realização dos contrastes de Scheffé³⁰ (1953) ao mesmo nível de significância. O procedimento consistiu em ordenar as médias (de espécies ou procedências de uma mesma espécie) e aplicar contrastes do tipo $\{1,1\}$, isto é, comparar cada média com cada uma das outras que lhe são inferiores.

Os valores dos contrastes são comparados com o valor crítico dado por:

$$\theta_c = \left\{ (k-1) F_{k,v,\alpha} s^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) \right\}^{1/2}$$

onde: k = nº total de médias a comparar.

$F_{k,v,\alpha}$ = Percentil 95 da distribuição F com
 k graus de liberdade no numerador
 e $v = 120$ graus no denominador.

s^2 = quadrado médio residual.

n_1 e n_2 = total do nº de observações de ca-
 da uma das médias em comparação.

2.3. Observações do exocório através de microscopia eletrô- nica de varredura (MEV).

Foram estudadas por este processo todas as espê-
 cies e procedências relacionadas no Capítulo 3.2., sempre
 que possível foi analisado o mínimo de 5 ovos ou cascas pa-
 ra cada procedência. Os ovos ou cascas inteiras sem prévia
 preparação foram fixados em pequenos toros de latão com
 1,0 cm de diâmetro por 0,5 cm de altura; essa fixação foi
 feita inicialmente com cola carbônica e posteriormente com
 esmalte de unhas (incolor), que ofereceu melhores resulta-
 dos. Esse material foi então metalizado, revestindo-se pri-
 meiro pelo carbono e depois pelo ouro, em metalizador a vâ-
 cuo "Metalux" modelo ML.444e/77. Após essa metalização as
 amostras foram levadas ao microscópio eletrônico de varredu-
 ra Jeol, modelo JSM-P/15 para observações das estruturas da
 superfície da casca e seleção de áreas representativas, que
 passaram então a ser fotografadas. Para apresentação dessas
 fotografias foram selecionadas sempre que possível três ta-

manhos. O primeiro com aumento de 37,5x, onde é dado o formato geral do ovo e seu tamanho aproximado; o 2º, com aumento de 750 ou 1.125x, e onde pôde ser constatado o conjunto formador do desenho do exocório; finalmente, o 3º com aumento de 2.250x, onde foram dados os detalhes dos elementos formadores desse conjunto.

2.4. Observações do exocório através de microscopia Ótica(MO).

Por este método foi também estudado o exocório de todas as espécies e procedências relacionadas no Capítulo 3.2., e sempre que se dispunha de material, 5 exemplares de cada procedência foram examinados. Este processo pode ser subdividido em duas partes: uma quanto às observações através de transparência de fragmentos planos sem coloração e outra através de cortes histológicos transversais corados.

2.4.1. Observação por transparência de planos.

As cascas de ovos foram colocadas em maceração em solução de álcool 70º, glicerina e fenol, conforme técnica de Lucena & Rego²⁸ (1969). Pequenos fragmentos foram cortados e montados com este mesmo líquido entre lâmina e lamínula, sob lupa estereoscópica e levadas a examinar em microscópio ótico (Oc. 10x, Objs. 10x e 40x).

Embora todo o material de exocório estudado tivessido examinado por esta técnica e em todas as descrições feitas, tenham sido sempre citados tais aspectos, deixamos de apresentar fotos ou desenhos obtidos por este processo . E isso por achar que as ilustrações em fotos por MEV dispensariam tal duplicação, pois estas não só dão idéia real da estrutura, como podem ser frequentemente usadas para interpretação das formações visualizadas por transparência.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.

2.4.2. Observações por transparência de cortes transversais.

Os cortes transversais de cascas de ovos de 10 μ de espessura foram feitos em micrótomo e analisados em microscópio ótico (Oc. 10x, Objs. 10x e 40x), e cujas áreas padrões são neste trabalho apresentadas, para cada uma das espécies estudadas através de desenhos feitos com câmara clara adaptada a microscópio ótico de contraste de fase (Oc. 10x, Objs. 40x 1,5x).

Para esses cortes foi utilizada a seguinte técnica: As cascas de ovos inteiras freqüentemente perfuradas com fino estilete no polo posterior, foram colocadas em naderação em xilol, por duas vezes em distintos recipientes durante duas horas cada. Em seguida, foram passadas em xilol-parafina (toda a parafina usada para este trabalho é composta com um décimo de cera de abelha) durante uma hora em estufa a 60°C, para depois ser passada em parafina durante 30' em estufa a 60°C. Feito isso estas cascas foram emblocadas em parafina, fixadas ao disco, congeladas e levadas ao micrótomo para os cortes. Esses cortes foram então desparafinados passando-se o material por 10' em estufa a 60°C e sucessivamente lavados em 3 banhos de xilol, com passagens em seguida pelo álcool absoluto, 80° e 50° por 5' cada, para finalmente ser lavado em água corrente. Após isso, esses cortes foram submetidos à coloração, primeiro com imersão em hematoxilina Delafield por 20', seguido de lavagem em água corrente por 10' e depois imersão em eosina 1% (Eosin Bluish) por 10'. Então esse material foi submetido à desidratação através da série álcool por 3' cada: álcool 50°, 75°, 95°, duas vezes em álcool absoluto, álcool-xilol e finalmente lavagem em xilol por 3 vezes consecutivas, e então montados em lâmina e laminula com bálsamo do Canadá.

Os resultados obtidos no presente trabalho são relacionados a seguir, e devido ao caráter particular do mesmo, e a fim de se evitar repetições desnecessárias que fariam perder a unidade como revisão taxionômica, foram apresentadas as discussões com a bibliografia existente de maneira concomitante a estes resultados. Estes foram divididos em três partes, na primeira é caracterizado o gênero *Rhodnius* (item 3.1), na segunda as diferentes espécies estudadas (item 3.2) e na terceira são apresentadas chaves de classificação para estas espécies para utilização em microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (itens 3.3 e 3.4). A sequência seguida tanto para as características genéricas quanto para as específicas, foram os aspectos gerais dos ovos e das cascas, as mensurações obtidas e as descrições do exocório. Nas características específicas foi subdividido o assunto em duas seções: aspecto geral do ovo e aspecto geral do exocório. Enquanto que nas características genéricas, para melhor compreensão e devido a complexidade do assunto, foi criado mais uma seção - as mensurações dos ovos, muito embora sejam parte integrante dos aspectos gerais. As discussões bibliográficas estão basicamente concentradas nas características genéricas, ou porque os dados obtidos com *R. prolixus* passaram a ser tomados como características do gênero, ou porque são raras as referências existentes para as outras espécies deste gênero. Para as descrições do exocório são existentes apenas poucos trabalhos relativos a *R. prolixus* (Galliard,²⁰; Beament⁶; Barth & Muth⁵ e Lucena & Rego²⁸) e uma referência a *R. neglectus* (Barth & Muth⁵). Já para os aspectos macroscópicos dos ovos, como coloração, forma, medidas, fixação, etc, são um pouco mais frequentes tais citações (Brumpt^{9,10}; Uribe³⁶; Larrousse²⁵; Galliard²⁰;

Beament^{6,8}; Forattini & Barata¹⁷; Lent & Valderrama²⁷), entretanto são quase sempre dados aleatórios sem preocupação de uma sistematização.

3.1. Generalidades sobre os ovos, suas mensurações e formações exocoriais no gênero *Rhodnius*.

Até a revisão de Lent & Jurberg²⁶ (1969), o gênero *Rhodnius* agrupava dez espécies: *R. brethesi* Matta, 1919; *R. domesticus* Neiva & Pinto, 1923; *R. ecuadoriensis* Lent & León, 1958; *R. nasutus* Stal, 1859; *R. neglectus* Lent, 1954; *R. neivai* Lent, 1953; *R. pallescens* Barber, 1932; *R. pictipes* Stal, 1872; *R. prolixus* Stal, 1859 e *R. robustus* Larrousse, 1927. Posteriormente a essa revisão e até o momento, mais três espécies foram descritas: *R. amazonicus* Almeida, Santos & Sposina², 1973; *R. dalessandroi* Carcavallo & Barreto¹², 1976 e *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles³¹, 1977.

No presente trabalho foram estudadas dez espécies a saber: *R. domesticus* Neiva & Pinto, 1923; *R. ecuadoriensis* Lent & León, 1958; *R. nasutus* Stal, 1859; *R. neglectus* Lent, 1954; *R. neivai* Lent, 1953; *R. pallescens* Barber, 1932; *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977; *R. pictipes* Stal, 1872; *R. prolixus* Stal, 1859 e *R. robustus* Larrousse, 1927. Conforme já citado no Capítulo 2, para observações de ovos embrionados com vistas às alterações durante o desenvolvimento pós-embrionário, não foi estudado *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles 1977, que juntamente com *R. pictipes* Stal, 1872, não foi incluído nos cálculos estatísticos das mensurações dos ovos por se dispor, na ocasião, de apenas um exemplar de cada.

Das dez espécies acima citadas dispusemos de 32 procedências (chamadas "amostras"), cuja relação consta em

"material examinado" em cada espécie apresentada no Capítulo 3.2. e assim distribuídas: *R.domesticus* (1), *R.ecuadoriensis* (1), *R.nasutus* (2), *R.neglectus* (11), *R.neivai* (2) , *R.pallescens* (2), *R.paraensis* (1), *R.pictipes* (3), *R.prolixus* (6) e *R.robustus* (3).

O estudo dessas amostras apresentou acentuada variação, entretanto o caráter de entidade taxionômica mostrou-se válido para todas as espécies, mesmo para *R.paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977, de descrição recente e sem registro de novo encontro até o momento. E para algumas espécies como *R.prolixus* e *R.neglectus* essas características passaram a ser importantes elementos de diferenciação específica. Como é sabido essas espécies tem aspectos morfológicos de adultos e ninfas tão semelhantes que já se chegou a pensar em subespécies de uma única espécie politípica (Carvalho & Barretto¹³, 1976).

Por outro lado não foi possível associar essa variação com a procedência do material estudado, o que parcialmente eliminou a hipótese da existência de raças ou subespécies no presente material. É claro que algumas exceções foram registradas, como diferenças encontradas nas características do cório de duas procedências de *R.pictipes* (amostra 193 - Pará, Brasil e amostra 194 - Yaracun, Venezuela) (Vide item 3.2.8); e diferenças detectadas nas mensurações apresentadas nos testes de contrastes (item 3.1.2.5) encontradas para *R.pallescens* (amostra 07 - Panamá e 08 - Panamá), *R.prolixus* (amostra 147 - Colômbia e 10 - Colômbia) e *R.robustus* (amostra 14 - Lima, Peru; 15 - Lima, Peru e 16 - Madre de Dios, Peru). Entretanto, pelas procedências semelhantes, pela impossibilidade de obtenção de procedências minuciosas, ou pelos débeis caracteres morfológicos contrastados, como

já citado, não se pode inferir que essas variações sejam indicações da presença de raças entre essas espécies.

3.1.1. Características gerais dos ovos e das cascas.

Os ovos das espécies de *Rhodnius* têm formato geral elipsóide, sendo mais acentuadamente alongados em determinadas espécies como *R. pallenscens*, ou menos alongados, com certo aspecto atarracado como *R. neivai* e *R. robustus*. Possuem "achatamento lateral"* evidente, discreto ou ausente, o que poderá dar respectivamente assimetria nítida, pouco acentuada ou mesmo ausente em relação ao eixo longitudinal. (Figs. 2 e 7). Esse achatamento induz inclinação do eixo transversal do opérculo em relação ao plano sagital do ovo e consequentemente ao plano do substrato, já que frequentemente esses ovos são fixados em posição horizontal (Fig.3). Esse caráter é aparentemente constante em todos os ovos de heterópteros hematófagos que se fixam ao substrato e é particularmente acentuado entre os Cimicídeos. De um certo modo, isso seria uma importante peculiaridade ecológica**, pois sendo ausente esta inclinação, o deslocamento do opérculo durante a eclosão poderia ser parcial ou totalmente obstruído pelo cimento da fixação ou mesmo por elementos do substrato. Uma vez que essas ninfas não possuem, como em certos grupos, estruturas rompedoras, consequentemente a saída ocorre pelo simples impulso de dentro para fora provocado pela ninfa. Outras vezes es

* Frequentemente esse achatamento é ausente na ocasião da oviposição e à medida que o embrião começa seu desenvolvimento manifesta-se e acentua-se, provavelmente estando relacionado a certa desidratação do ovo, pois acidentalmente foi observado que ovos recém-postos quando colocados imediatamente sob lâmpadas de 60W apresentam-no após alguns minutos de exposição.

** Forattini, 1978 - informação pessoal.

se achatamento torna-se mais acentuado marcando no cório uma depressão em forma de "chanfradura longitudinal". (Fig. 4), de tal forma que se poderá evidenciar mesmo em corte histológico transversal, como em *R. pallescens* (Fig. 5). Nesta espécie essa formação sobressai ainda mais, pois do mesmo modo que o "colarinho", e o opérculo é mais acentuadamente pigmentada em castanho do que as outras áreas do cório. (Fig. 4).

No polo anterior possuem opérculo, que se desprende na ocasião da eclosão possibilitando a saída da ninfa. Este tem formato de disco delgado e é composto por duas regiões - uma borda plana, mais grossa e frequentemente de coloração mais clara, e uma região central suavemente convexa e quase sempre de coloração mais acentuada do que a borda e a própria casca do ovo (Fig. 6). É do tipo "opérculo verdadeiro" que segundo Southwood³³ (1956) é aquele que: a) é nitidamente separado do restante da parede corial por uma distinta "faixa de vedação"; b) sua estrutura difere do resto do cório, usualmente com "depressões foliculares" mais profundas e com camadas do endocório mais grossas; c) é circundado por um "processo micropilar" situado na "borda corial".

O opérculo se conecta com a "borda corial da casca" através da "faixa de vedação", que na sua junção constitui a chamada "linha de eclosão", ao longo da qual ele se destaca da casca do ovo (Figs. 11 e 12). Nessa "borda corial" está situado o "complexo micropilar" que de uma maneira simplista poderíamos dizer que é formado de dois tipos de pequenos canais, que são as aerópilas (pseudomicropilas de Beament⁷, 1947) e as micropilas, cuja abertura externa situa-se na goteira espermática (Figs. 11 e 12). Muito embora suas funções tenham dado ensejo a grande número de controvérsias (Hinton²², 1961), parece que basicamente as mi-

crópilas seriam responsáveis pela penetração do espermatozôio durante a fecundação, e as aerópilas pelas trocas gasosas do embrião com o meio externo. As aerópilas são formadas de maneira semelhante aos "tubos foliculares" normais e entram em contacto com a superfície externa através de feixes de pequenos "poros aeropilares" (Beament⁷, 1947) (Fig.11). Os orifícios de entrada das micrópilas poderão ser detectados com relativa facilidade através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), como poderemos verificar em foto MEV da borda corial de *R. pictipes* (Fig.9).

Como vimos, o opérculo se conecta com a "borda corial" que realmente é a região superior da casca do ovo macroscopicamente visível. Logo abaixo ela é precedida de um estrangulamento circular evidente, denominado "colo" (Fig.2), e que poderá apresentar-se com aspecto curto e largo, como *R. neivai*, *R. robustus*, etc, ou longo e estreito como em *R. pictipes* e outros (Figs. 8 e 10).

Em algumas espécies poderão haver projeções exocoriais, situadas logo abaixo do colo e recentemente descritas por Forattini & Barata¹⁷ (1974). Projeções essas, pela sua forma, denominadas de "colarinho" e que poderão ser utilizadas como importante caráter taxionômico (Figs. 2b e 7). Além das espécies citadas pelos autores como possuidoras ou não desta formação, ficou evidenciado no material estudado sua presença em *R. paraensis* e sua ausência em *R. ecuadoriensis* e *R. pictipes*.

A coloração dos ovos de *Rhodnius* é tida, há muito tempo, como rosa na ocasião da postura e à medida em que o embrião vai se desenvolvendo, toma tons mais fortes, chegando ao vermelho, e deixando transparecer manchas oculares da nin

fa (Brumpt^{9,10}; Larrousse²⁵; Uribe³⁶; Galliard²⁰; Beament⁶). Essa coloração é dada exclusivamente pelo embrião devido à presença de hematina, um pigmento do grupo da hemoglobina (Wygglessworth³⁷, 1974). A modificação de coloração é correta entretanto, somente para algumas espécies, como *R. prolixus*, que foi até Lent & Valderrama²⁷ (1977) a única espécie de *Rhodnius* estudada neste aspecto por esses autores, e de onde certamente foram extrapoladas tais observações, que passaram a ser encaradas como características de todo o gênero (Southwood³³, 1956; Wygglessworth³⁷, 1974). Na verdade em todo o material estudado as cascas são mais ou menos translúcidas, o que está de acordo com a literatura existente. Porém tanto em relação a coloração do ovo (embrião) quanto a casca, isso não pode ser aplicado como regra geral, pois espécies como *R. pallescens*, *R. pictipes* e *R. paraensis* têm casca sempre de coloração castanho acentuado, e *R. pallescens*, *R. pictipes* e *R. ecuadoriensis** têm embrião de coloração amarelo-pálido, pelo menos quando jovem. Lent & Valderrama (1977) consideram as cascas de ovos de *R. pictipes* como de coloração cinzenta, o que não concordamos (Vide item 3.2.8). Parece haver uma certa associação entre a coloração castanho da casca e ausência e/ou diminuição desse pigmento rosa no embrião para *R. ecuadoriensis* que aparentemente faria exceção a essa regra, pois possui casca em tom castanho bem mais claro ou em raros casos albino, tem entretanto um acentuado anel de pigmentação castanho na casca logo abaixo do colo. Quanto a *R. pallescens* não tendo sido possível o exame de material vivo partimos de observação de ovos recentemente embrionados e mortos. Pudemos assim deduzir por analogia com

* Não foi estudado material embrionado de *R. paraensis*.

R. prolixus e outros, em que embriões (jovens) mortos permanecem por tempo indeterminado com a coloração inicial, que tal fato ocorra também com aquela e outras espécies. Por conseguinte, a coloração amarelo-pálido observada nos embriões (jovens) mortos deve ser a mesma de embriões vivos nessa idade. É preciso ressaltar entretanto, que isso não é constante para os embriões mortos em todas as idades de desenvolvimento. Se embriões com desenvolvimento tardio morrem dentro da casca ou durante a eclosão, ocorre, com algum tempo, mudança da coloração inicial para castanho. Isso pode ser observado em *R. prolixus* e outras espécies de *Rhodnius* possuidoras de pigmentação vermelha. Certamente verifica-se aí o mesmo processo de oxidação da quitina ocorrente em ninfas e adultos recém-eclodidos. Esse fato tem certa aplicação prática, pois poderá dar falsa idéia de coloração castanho para ovos com embriões mortos nesta fase. Portanto os fenômenos aqui relacionados seriam amplo campo aberto à investigação, não só quanto à interpretação, mas ainda sobre a observação e descrição, pois tais dados são insuficientes.

Com exceção das espécies já citadas, no material estudado e conforme acima referido, as cascas são de coloração esbranquiçadas e parcialmente translúcidas (Galliard²⁰ e Beament⁶), podendo tomar entretanto diferentes tonalidades, tais como branco nívoo, amarelo-limão ou salmão claro. Essa variação poderá ocorrer entre espécies diferentes ou em uma mesma espécie entre amostras diferentes ou não. Voltaremos ao assunto juntamente com as outras características, quando do estudo de cada espécie isoladamente (itens 3.2.1/3.2.10).

Os ovos são postos isoladamente ou em pequenos gru-

fig. 2

fig. 4

fig. 3

fig. 5

Fig. 2 - Ovos de *Rhodnius* com assimetria acentuada (30x). A-ovos sem colarinho; B-ovos com colarinho. Fig. 3 - Fixação de ovos de *Rhodnius* ao substrato (30x), mostrando a inclinação do eixo do opérculo (a-b) em relação ao plano do substrato (c-d). Fig. 4 - Ovo de *Rhodnius pallescens* (30x). Fig. 5 - Corte transversal do ovo de *Rhodnius pallescens* mostrando depressão provocada pela chanfradura longitudinal. al-achatamento lateral. bc-borda corial da casca. bo-borda opercular. ch-chanfradura longitudinal. cl-colarinho. co-colo. op-opérculo.

Fig.6 - Opérculo de ovos de *Rhodnius* (75x). Fig.7 - Ovos de *Rhodnius* possuidores de colarinho e achatamento lateral (37,5x). Fig.8 - Ovos de *Rhodnius* possuidores de colo curto e largo (150x). Fig.9 - Borda corial da casca de *R. pictipes* (375x): a - goteira espermática. b - orifício externo das micrópilas. c - orifício externo das aerópilas. Fig. 10 - Ovos de *Rhodnius* possuidores de colo longo e estreito (150x).

fig. 11

fig. 12

fig. 13

Fig. 11 - Representação esquemática de corte longitudinal do aparelho opercular em *Rhodnius* (baseado in Beament⁷, 1947). Fig. 12 - Representação esquemática da borda corial da casca em *Rhodnius*, mostrando posições da micrópila e aerópila (segundo Beament⁷, 1947). Fig. 13 - Representação esquemática da casca do ovo de *Rhodnius* (baseado in Beament⁷, 1947). am-camada ambarina. ap-aerópila. bc-borda corial da casca. bo-borda opercular. co-colo. cp-camada cerosa primária. cr-cório. dll-demarcação das linhas limitantes. en-endocório. enm-endocório mole. enr-endocório rijo. ep-camada externa polifenólica. ex-exocório. exm-exocório mole. exr-exocório rijo. fl-funil. fv-faixa de vedação. ge-gotreira espermática. lp-camada interna polifenólica. le-linha de eclosão. ll-linhas limitantes. mc-micrópila. op-opérculo. pa-poros aeropilares. tf-tubos foliculares.

pos e, em todo o material disponível, eles sempre que se fixam ao substrato, fato esse há muito conhecido para *R. prolixus*, através das citações de Brumpt⁹ (1913); Larrousse²⁵ (1927) e Uribe³⁶ (1927). Podemos verificar que algumas espécies como *R. pallescens*, fixam-se ao substrato mais fortemente e outras como *R. neglectus* mais fracamente, podendo ser destacados com maior facilidade. Aparentemente essa fixação estaria ligada às características ecológicas, pois neste gênero a maioria das espécies são ornitófilas. Utilizando copas de palmeiras e de árvores como ecótopos, redundaria em perda acentuada de ovos, caso não ocorresse esta particularidade. Segundo Galliard²⁰ (1935) a fixação é devida à secreção eliminada pelas fêmeas durante a oviposição e produzida pela glândula acessória, situada na parte dorsal da vagina e muito desenvolvida em *Rhodnius*, da qual voltaremos a tratar quando focalizarmos as estruturas do exocório responsáveis pela fixação ao substrato.

3.1.2 Mensuração dos ovos.

Medidas de ovos de *Rhodnius* foram estabelecidas já há algum tempo por Brumpt⁹ (1913); Uribe³⁶ (1927); Galliard²⁰ (1935) e Beament^{6,8} (1946, 1949) sempre baseadas em observações de uma única espécie - *R. prolixus*, e mais recentemente por Lent & Valderrama²⁷ (1977) para esta espécie; *R. pictipes* e *R. neivai*, entretanto em nenhum dos casos foi citada a metodologia utilizada. Brumpt⁹ dá para ovos desta espécie apenas uma medida - a de comprimento, que no caso é igual a 2,000 milímetros. Uribe³⁶ cita apenas o comprimento que para ele é de 2,500 mm. Beament^{6,8} cita que as medidas máximas encontradas para comprimento e diâmetro foram 2,500 mm e 0,700 mm, respectivamente. Galliard²⁰ encontra para

comprimento uma variação de 1,700 a 1,800 mm e para diâmetro de 0,820 a 0,860mm, portanto bastante discordante dos outros autores, particularmente em referência ao comprimento. Lent & Valderrama²⁷ encontraram para *R.pictipes* um comprimento igual a 1,650 mm e diâmetro 0,820 mm e para *R.neivai* 1,650 mm e 0,920 mm, respectivamente. As medidas por nós encontradas tanto para comprimento quanto para diâmetro, estão mais próximas dos valores de Galliard²⁰ e de Lent & Valderrama²⁷ do que dos outros autores. No presente trabalho foi encontrado para *R.prolixus* um comprimento médio de 1,782 mm e diâmetro médio de 0,880 mm, e tendo-se registrado como valores máximos, respectivamente, 1,933 mm e 0,958mm. Em todas as espécies estudadas e amostras aferidas não foi obtido em nenhuma ocasião valores em torno de 2,500 mm para comprimento, conforme os valores obtidos por Uribe³⁶ e Beament^{6,8}. Mesmo em *R.palleszens*, onde os ovos são razoavelmente grandes, o valor máximo encontrado para o comprimento foi de 2,051 mm (vide Anexo I). Para diâmetro, as médias em todas as espécies estão acentuadamente acima das encontradas por Beament^{6,8}, mesmo em valores absolutos o diâmetro mínimo encontrado foi de 0,745 para *R.palleszens* (vide Anexo II), portanto acima do valor referido por estes autores. É claro que variações dessa natureza deverão ocorrer devido, tanto a fatores naturais como artificiais, tais como isolamento de cepas, manutenção em colônias, alimentação, etc. De qualquer forma é necessário que se determine sempre a metodologia a ser utilizada para que em futuras variações observadas possam ser estabelecidas estas diferenças e pesquisadas as prováveis causas.

Neste trabalho, conforme ficou especificado no Ca

pítulo 2 (Material e Métodos) procedeu-se não só às medidas usuais de comprimento e diâmetro, como também à aferição do medidor e os testes estatísticos indicados, conforme veremos a seguir.

3.1.2.1 Parâmetros estimados.

Para cada espécie e procedência calculou-se a média, variância e desvio padrão o que consta dos Anexos I e II. Nos mesmos foram apresentados os parâmetros para cada espécie e todas as procedências.

3.1.2.2 Testes preliminares; Homogeneidade de variâncias

A aplicação de teste de Cochran (Dixon & Massey¹⁶, 1957) foi realizada ao nível de 5%. O valor crítico no caso é $C_c = 0,1377$ e os valores observados das variâncias S^2 conduziram a:

$$\text{Cob.} = \frac{S_1^2 \text{ máximo}}{\sum S_i^2} = \frac{0,013}{0,114} = 0,114 \text{ para comprimento}$$

e

$$\text{Cob.} = \frac{0,004}{0,034} = 0,1176 \text{ para o diâmetro}$$

aceitando-se a homogeneidade em ambos os casos.

3.1.2.3. Testes preliminares: Aferição do pesquisador.

Normalidade das distribuições.

As distribuições acumuladas das medidas de diâmetro e comprimento, em função de k (múltiplos dos desvios padrão) encontram-se na Tabela 1. A aplicação do teste de Kolmogorof-Smirnov (Siegel³², 1975) conduziu a aceitação da normalidade em ambos os casos, não se evidenciando portanto, nenhuma tendência de vício nas medições.

Os valores dos parâmetros obtidos nas 30 mensurações foram os que constam da tabela abaixo.

Tabela 2. Parâmetros das distribuições obtidas a partir das 30 mensurações de *R. pictipes*.

PARÂMETROS \ MEDIDA	DIÂMETRO	COMPRIMENTO
Média (mm)	0,862	1,770
Variância (mm ²)	0,000056	0,000098
Desvio padrão (mm)	0,007	0,010
Coefficiente variação (100%)	0,87	0,55

Tabela 1. Distribuições acumuladas das medidas de diâmetro e comprimento, da distribuição normal padronizada e desvios entre as distribuições.

	Distribuições Acumuladas			Desvios em módulo	
	(1) Diâmetro	(2) Comprimento	(3) Normal	Diâmetro	Comprimento
κ	$F_1(\mu_1 + \kappa\sigma_1)$	$F_2(\mu_2 + \kappa\sigma_2)$	$F(\kappa)$	$ F - F_1 $	$ F - F_2 $
- 2	-	0,0333	0,0228	0,0228	0,0105
- 1,5	0,0333	0,0333	0,0668	0,0335	0,0335
- 1	0,1000	0,3000	0,1587	0,0587	0,1413
- 0,5	0,3333	0,4000	0,3085	0,0248	0,0915
0	0,6667	0,4667	0,5000	0,1667	0,0333
0,5	0,7667	0,6000	0,6915	0,0752	0,0915
1	0,9334	0,8333	0,8413	0,0921	0,0080
1,5	0,9334	0,9334	0,9332	0,0002	0,0001
2	0,9334	0,9667	0,9772	0,0438	0,0105
2,5	0,9667	1,0000	0,9938	0,0271	0,0062
3	0,9667	1,0000	0,9987	0,0320	0,0013
3,5	1,0000	1,0000	1,0000	-	-
Desvios máximos observados				0,1667	0,1413
Valor crítico do desvio máximo a 5%: 0,24					

Com os valores das médias e desvios-padrões, calculou-se, fixado o erro de 1ª espécie em 5%, qual seria a probabilidade de aceitar como verdadeiras as médias observadas, quando a média verdadeira fosse uma divisão do aparelho (0,001 mm) a mais (ou menos) do que a observada. Utilizando a tabela da página 425 de Dixon & Massey¹⁶ (1957) obteve-se que estas probabilidades seriam aproximadamente: menos de 1% para diâmetro e 5% para comprimento. Estas probabilidades cairiam para praticamente zero se fossem considerados erros de duas divisões do aparelho. Concluiu-se assim pela boa qualidade das medidas.

3.1.2.4 Análises de variância.

Nas tabelas 3 e 4 constam as análises de variâncias para as variáveis diâmetro e comprimento, respectivamente. Verifica-se que em ambos os casos, rejeita-se a igualdade de médias tanto para espécies como para procedências.

Para verificar que procedências, dentro de cada espécie originaram a desigualdade citada, procedeu-se à análise de variância para as diferentes procedências segundo cada espécie, o que consta das Tabelas 5 e 6. Verifica-se que ao nível de 5%, para a variável diâmetro, a desigualdade de médias segundo a procedência ocorre apenas na espécie *R. pallescens*. Já para a variável comprimento tal desigualdade deve-se às diferentes procedências de *R. robustus* e *R. prolixus*.

Tabela 3. Análise de variância para a variável - Diâmetro.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	G.L.	Razão de Quadrado Médio	F _{crítico}
Entre espécies	0,145	0,0182	8	16,54*	2,02
Entre procedências (Dentro de espécies)	0,097	0,0046	21	4,18*	1,65
Resíduo	0,134	0,0011	120		
T O T A L	0,376	0,0025	149		

* Significantes ao nível de 5%.

Tabela 4. Análise de variância para a variável - Comprimento.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	G.L.	Razão de Quadrado Médio	F _{crítico}
Entre espécies	1,334	0,1668	8	45,08 [*]	2,02
Entre procedências (Dentro de espécies)	0,275	0,0131	21	3,54 [*]	1,65
Resíduo	0,445	0,0037	120		
T O T A L	2,054	0,0138	149		

* Significantes ao nível de 5%.

Tabela 5. Análise de variância para diferentes procedências dentro de cada espécie - Diâmetro.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	G.L.	Razão de Quadrado Médio	F _{crítico}
<i>R. pallescens</i>	0,065	0,0650	1	59,10*	3,84
<i>R. ecuadoriensis</i>	0,001	0,0010	1	0,91	3,84
<i>R. nasutus</i>	0,001	0,0010	1	0,91	3,84
<i>R. robustus</i>	0,003	0,0015	2	1,36	3,00
<i>R. prolixus</i>	0,016	0,0023	7	2,09**	2,09
<i>R. neglectus</i>	0,011	0,0012	9	1,09	1,88
Resíduo	0,134	0,0011	120		
T O T A L	0,231	0,0016	141		

* Significantes ao nível de 5%.

** O valor calculado de $\frac{0,016}{7} \times \frac{120}{0,134} = 2,05$ portanto não significante. O valor 2,09 resulta da divisão de 0,0023 por 0,0011.

Tabela 6. Análise de variância para procedência dentro de cada espécie - Comprimento.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	G.L.	Razão de Quadrado Médio	F _{crítico}
<i>R.palleszens</i>	0,009	0,0090	1	2,43	3,84
<i>R.ecuadoriensis</i>	0,003	0,0030	1	0,81	3,84
<i>R.nasutus</i>	0,010	0,0100	1	2,70	3,84
<i>R.robustus</i>	0,081	0,0405	2	10,95*	3,00
<i>R.prolíxus</i>	0,119	0,0170	7	4,59*	2,01
<i>R.neglectus</i>	0,053	0,0059	9	1,59	1,88
Resíduo	0,445	0,0037	120		
T O T A L	0,720	0,0051	141		

* Significantes ao nível de 5%.

3.1.2.5. Contrastes.

Conforme explicitado no Capítulo 2 (Material e Métodos), foram realizados contrastes de Scheffé³⁰ (1953) de cada média com as demais (para comprimento e diâmetro) a fim de verificar quais médias eram diferentes de cada uma das demais ao nível de 5%. Os valores observados e os valores críticos para as comparações encontram-se nos Anexos III, IV e V.

Procedência - Para a variável diâmetro apenas as procedências de *R. pallescens* diferiram significativamente, não sendo necessário no caso realizações de contrastes por se tratar de apenas duas procedências diferentes.

Já para o comprimento, houve diferenças significativas dentre as procedências de *R. robustus* e *R. prolixus*. Na primeira espécie (*R. robustus*) a aplicação dos contrastes indicou:

- a) Procedência 16 não difere da procedência 14
- b) Procedência 16 difere da procedência 15
- c) Procedência 14 difere da procedência 15

Para *R. prolixus* o único contraste significativo ocorreu na procedência 147, significativamente maior que a procedência 10.

Contraste entre espécies - Diâmetro: Conforme o Anexo IV foram encontrados vários contrastes significativos, isto é, há várias diferenças significativas entre as médias das diferentes espécies. Para facilidade de apreciação, ordenou-se as espécies em ordem decrescente de seus diâmetros médios e no Quadro I indica-se as diferenças significativas.

Quadro I - RESULTADOS DOS CONTRASTES ENTRE MÉDIAS DOS DIÂMETROS NAS VÁRIAS ESPÉCIES.

Espécies em ordem decrescente de diâmetro médio	R.neivai	R.robustus	R.pallescens	"Híbrido"	R.prolixus	R.neglectus	R.ecuadoriensis	R.domesticus	R.nasutus
R.neivai					*	*	*	*	*
R.robustus					*	*	*	*	*
R.pallescens					*	*	*	*	*
"Híbrido"									
R.prolixus	Ø	Ø	Ø						*
R.neglectus	Ø	Ø	Ø						*
R.ecuadoriensis	Ø	Ø	Ø						
R.domesticus	Ø	Ø	Ø						
R.nasutus	Ø	Ø	Ø		Ø	Ø			

* O diâmetro médio da espécie citada na linha é significantemente maior do que o da espécie citada na coluna.

Ø O diâmetro médio da espécie citada na linha é significantemente menor do que o da espécie citada na coluna.

Quadro II - RESULTADOS DOS CONTRASTES ENTRE MÉDIAS DE COMPRIMENTOS DAS VÁRIAS ESPÉCIES.

Espécies em ordem decrescente de comprimento médio	<i>R.pallescens</i>	<i>R.prolixus</i>	<i>R.ecuadoriensis</i>	<i>R.neivai</i>	"Híbrido"	<i>R.neglectus</i>	<i>R.nasutus</i>	<i>R.robustus</i>	<i>R.domesticus</i>
<i>R.pallescens</i>		*	*	*	*	*	*	*	*
<i>R.prolixus</i>	Ø					*	*	*	*
<i>R.ecuadoriensis</i>	Ø					*		*	*
<i>R.neivai</i>	Ø								
"Híbrido"	Ø								
<i>R.neglectus</i>	Ø	Ø	Ø						*
<i>R.nasutus</i>	Ø	Ø							
<i>R.robustus</i>	Ø	Ø	Ø						
<i>R.domesticus</i>	Ø	Ø	Ø			Ø			

* O comprimento médio da espécie citada na linha é significativamente maior do que o da espécie citada na coluna.

Ø O comprimento médio da espécie citada na linha é significativamente menor do que o da espécie citada na coluna.

Verifica-se resumidamente que as espécies *R. neivai*, *R. robustus* e *R. pallescens* não diferiram entre si, e tem diâmetros significativamente maiores que as espécies *R. prolixus*, *R. neglectus*, *R. ecuadoriensis*, *R. domesticus* e *R. nasutus*. Também é verificado que o "Híbrido" ♂ *R. prolixus* X ♀ híbrida (*R. neglectus* X *R. prolixus*) não se diferenciou de nenhuma outra espécie.

Contrastes entre espécies - Comprimento: Procedimento análogo ao citado para o diâmetro conduziu aos resultados do Anexo V e ao Quadro II.

No caso presente sobressai a espécie *R. pallescens* maior que todos os demais. Em seguida *R. prolixus* e *R. ecuadoriensis* com comportamentos semelhantes. Finalmente, as espécies *R. neivai* e "Híbrido" que só são diferentes (menores), de *R. pallescens*, mas não se diferenciam significativamente de nenhuma outra.

3.1.3 Características Gerais do Exocório

A casca dos ovos em Insecta é conhecida como cório sendo basicamente formada por duas camadas, uma externa ou exocório e uma interna ou endocório. Embora Cobben¹⁴ (1968) não aconselhe o uso dessa terminologia devido a controvérsias suscitadas na análise dessas membranas, para efeitos práticos e para os fins a que nos propusemos, frequentemente teremos que empregar tal nomenclatura.

Por outro lado Beament^{6,7} (1946,1947), estudando o cório dos ovos de *R. prolixus* estabeleceu subdivisões para essas camadas e, como algumas vezes, particularmente em relação aos cortes histológicos estudados, teremos que fazer men-

ção às estruturas aí existentes, usaremos sua conceituação. Esse autor subdivide o exocório em duas e o endocório em cinco sub-camadas. As duas camadas do exocório, são o exocório rijo - que é formado por uma fina e resistente membrana de corionlna e que faz o revestimento externo do cório e o exocório molle - situado logo abaixo, e que é formado por uma espessa camada, responsável pela escultura do exocório. Logo após temos as camadas do endocório, que de fora para dentro são: o endocório mole - uma espessa camada formada por material proteico, seguida logo abaixo pelo endocório rijo - um conjunto de quatro camadas de fina espessura que faz o revestimento interno de toda a casca, e que na verdade é a região mais altamente especializada do cório, e que são no mesmo sentido as seguintes: ambarina, externa polifenólica, interna polifenólica e cerosa primária (Fig. 13). No material estudado e com a metodologia empregada nos cortes histológicos é possível visualizar por microscopia ótica, uma região externa larga que não se deixa corar pelos corantes convencionais, contornada superiormente por uma linha corada que delimita os desenhos dessa estrutura, provavelmente correspondendo ao exocório mole e ao exocório rijo, respectivamente. Estruturas essas seguidas logo abaixo por uma faixa larga, frequentemente correspondendo a cerca de metade da espessura do cório, que se deixa corar difusamente e quase sempre sem um limite nítido com a parte superior (exocório) e inferiormente delimitada por uma estreita faixa dupla corada mais intensamente, certamente correspondendo, respectivamente, ao endocório mole e ao endocório rijo (Fig. 19).

Como já foi citado anteriormente a superfície do exocório apresenta esculturas e embora em *Rhodnius* não se en -

contra a mesma heterogeneidade de caracteres observada em outros gêneros de Triatominae, foi possível detectar elementos suficientes para caracterização taxionômica específica, não obstante algumas espécies apresentem características muito semelhantes, como as encontradas entre *R. neglectus* e *R. natus* e entre *R. prolixus* e *R. robustus*, e possam apresentar variações exocoriais entre diferentes áreas da superfície do ovo, muito acentuada por exemplo entre o opérculo e a casca.

Galliard²⁰ (1935), Beament⁶ (1946) e Lucena & Rego²⁸ (1969) descreveram o exocório de *R. prolixus*, e Barth & Muth⁵ (1958) o de *R. prolixus* e *R. neglectus*, todos com exceção dos últimos, deram sempre características genéricas, isto é, descreveram estruturas, agora verificadas, constantes a todas as espécies do gênero *Rhodnius*, e que a seguir é dada sua redescrição.

Basicamente neste gênero essas esculturas são desenhos de áreas hexagonais com uma depressão central e que com pequeno aumento têm aspecto geral alveolado, lembrando "favos de colmeia", particularmente acentuado quando a depressão é mais profunda, como no caso de *R. prolixus*. Esta depressão embora muito evidente em microscopia eletrônica de varredura (MEV) não é de fácil observação em microscopia ótica (MO), já tendo sido inclusive descrita por Lucena & Rego²⁸ (1969) como formações ponteagudas. De fato, sem o auxílio de MEV não é fácil a interpretação da sucessão de planos que nos fornece a MO, nesta devido ao baixo poder de resolução é totalmente perdida a noção de profundidade e conseqüentemente a interpretação é difícil. Vê-se nas Figs. 14-17 os diferentes aspectos em planos subsequentes do exocório de *Rhodnius* observados em MO e comparados com a Fig. 18 de foto em MEV. O fundo dessa

depressão dá continuidade a uma estrutura tubuliforme que penetra na casca em direção ao endocôrio e que são os chamados "tubos foliculares" (Beament⁶, 1946) ou "tubos na extremidade da cavidade" (Barth & Muth⁵, 1958), e obviamente são visíveis em corte ou por transparência, onde poderão apresentar-se longos ou curtos, finos ou grossos e com inclinação e dilatação apical ou não (Figs. 13 e 19).

Ao conjunto formado pelo hexágono, área periférica, depressão e tubo, pela semelhança, particularmente em corte, chamaremos de "funil". E preferimos usar sempre que possível, características relacionadas a esse conjunto, que nos parece dar uma idéia mais real do que algumas características particulares como fizeram Barth & Muth⁵ (1958), considerando para diferenciação entre *R. prolixus* e *R. neglectus* o que eles chamaram de respectivamente áreas periféricas estreitas e áreas periféricas largas. Na verdade as primeiras têm consequentemente o diâmetro da depressão mais largo e portanto maior profundidade e são exatamente o que chamamos de "funis profundos" (Figs. 20 e 21). As segundas têm consequentemente o diâmetro da depressão mais estreito e portanto menor profundidade e são o que chamamos de "funis rasos" (Figs. 22 e 23). Aspectos esses que voltaremos ao assunto quando tratarmos dessas espécies isoladamente (Capítulo 3.2). Esses funis têm suas bordas superiores contornadas pelas chamadas linhas limitantes (Barth & Muth⁵, 1958) (Fig. 13). Estas poderão apresentar-se proeminentes ou planas, revestidas ou não por granulações, porém nunca em sulcos, como as descreve Lucena & Rego²⁸ (1969) e faz crer os desenhos de corte de Barth & Muth⁵ (1958)*. Por transparência poderão ser evidentes ou

(*) página 207, figura 20.

não, ter maior ou menor refringência, e parecer que se prolon-
gam no côrio. Entretanto com a metodologia utilizada nos cor-
tes isso não pôde ser confirmado, tendo-se apresentado sem -
pre como superfície plana ou proeminente, sem nenhuma demar-
cação de sulcos (Figs. 19, 21 e 23)

Freqüentemente todo o tegumento é revestido em maior ou menor intensidade por minúsculas pontuações claras a que chamamos de "granulações"* e já citadas por Barth & Muth⁵ (1958) como numerosos pontos brancos sobre a superfí -
cie (Fig. 18). Essas granulações facilmente identificáveis em MEV, apresentam-se esféricas ou irregulares, graúdas ou miúdas, de distribuição uniforme sobre o tegumento, com maior ou menor concentração no fundo do funil ou em torno das LL, quando poderão revesti-las totalmente dando-lhes certo aspecto rugoso. Entretanto, por transparência nem sempre são de fácil visualização, particularmente quando miúdas e revestindo uniformemente a superfície, o que lhes dará aspecto de leve rugosidade e que poderão passar despercebidas (Fig. 14).

As estruturas componentes do exocôrio teriam sua formação relacionada à forma e função das células do epitêlio folicular. Assim as áreas hexagonais representariam exatamente a rêplica da face apical do epitélio, as LL seriam os sulcos mais ou menos profundos e estreitos dos limites celulares, e os outros componentes do relevo (linhas, pontos, mas sas compactas) representariam irregularidades na composição do protoplasma (Barth & Muth⁵, 1958).

(*) Pelo aspecto essas granulações assemelham-se à deposição de material lipídico, entretanto cascas colocadas em maceração em solventes, como acetona, éter, xilol e álcool, por 24, 48 e 72 horas, não sofreram nenhuma modificação em sua estrutura morfológica. Assim como material tratado pelo sistema de ultrassom não sofreu nenhuma alteração.

Figs. 14 a 17 - Fotos em microscopia ótica (M.O.) mostrando diferentes aspectos em planos subseqüentes da superfície exocorial de *Rhodnius*. Fig.18 - Foto em microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície exocorial de *Rhodnius*. Fig.19 - Foto M.O. de corte histológico do cório de *Rhodnius*.

Fig. 20 - *Rhodnius prolixus* - ilustração das áreas periféricas estreitas de Barth & Muth⁵ (1956) correspondentes aos nossos funis profundos. a) esquema do conjunto segundo aqueles autores; b) detalhe desse conjunto mostrando as áreas periféricas estreitas; c) corte transversal mostrando o esquema de um funil profundo (compare com Fig. 22). Fig. 21 - Corte histológico do cório de *Rhodnius prolixus* (370x), mostrando os funis profundos. Fig. 22 - *Rhodnius neglectus* - ilustração das áreas periféricas largas de Barth & Muth⁵ (1956) correspondentes aos nossos funis rasos. a) esquema do conjunto segundo aqueles autores; b) detalhe desse conjunto mostrando as áreas periféricas largas; c) corte transversal mostrando o esquema de um funil raso (compare com a Fig. 20). Fig. 23 - Corte histológico do cório de *Rhodnius neglectus* (370x), mostrando os funis rasos. dll-demarcação das linhas limitantes. enm-endocório mole. enr-endocório rijo. exm-exocório mole. exr-exocório rijo. fl-funil. tf-tubos foliares.

A função dessa escultura exocorial ainda não está bem esclarecida. Pelos trabalhos de Galliard²⁰ (1935), poderemos verificar que está relacionada ao acúmulo de substância produzida pela glândula acessória, muito desenvolvida em fêmeas de *Rhodnius* e cuja secreção seria destinada à fixação dos ovos ao substrato, nesse caso os ovos teriam "casca fosca e rugosa", por outro lado, fêmeas com glândulas acessórias reduzidas e cujos ovos são livres, como em *Triatoma*, teriam ovos com "cascas lisas e brilhantes". Pick²⁹ (1962) acha que a escultura do exocório teria papel mais importante sobre a deposição no substrato do que a secreção dessa glândula, pois isso poderia ser constatado tanto nos ovos que se fixam, como nos livres; estes devido à presença de delgados canalículos permaneceriam aderentes ao substrato, devido à força capilar exercida sobre superfícies úmidas ou molhadas.

Não nos propusemos estudar tal aspecto, mas no desenvolvimento das observações foi possível deduzir que pelo menos duas funções estariam a ele relacionadas: - a fixação ao substrato e a respiração do embrião.

Quanto à fixação ao substrato de fato, parece haver uma certa associação entre esta e a estrutura infundibuliforme dos hexágonos, pois todas as espécies atualmente conhecidas como tendo ovos aderentes ao substrato apresentam sempre uma estrutura exocorial semelhante, embora pertencentes a grupos genéricos distintos. Pelo que nos foi possível observar, espécies que fazem fixação dos ovos constante e/ou vigorosamente, como as do gênero *Rhodnius* e *Psammolestes*, ou as que o fazem ocasional e/ou fracamente como *T. lecticularia*

Fig.24 - Superfície exocorial de *Psammolestes tertius* (750x).
 Fig.25 - Superfície exocorial de *Triatoma lecticularia* (750x).
 Fig.26 - Superfície exocorial de *T.protracta*(750x).
 Fig.27 - Superfície exocorial de *T.platensis* (750x).

e *T. protracta*, apresentam sempre tal estrutura* (Figs. 24, 25 e 26). Aparentemente a única exceção seria *T. platensis*, que esporadicamente tem seus ovos fixados ao substrato e não apresenta a estrutura típica deste grupo. Lucena & Rego²⁸ (1969) baseados em desenhos de Abalos & Wygodzinsky¹ (1951), acham que *T. platensis* tenha as mesmas estruturas exocoriais e associam isso com o fato desta espécie ser também habitante de ninhos de pássaros. Examinamos esse material e como poderemos verificar em fotografia feita em microscopia eletrônica de varredura (Fig. 27) não há formação característica dos funis, apresentando entretanto uma arquitetura complexa e estruturas profundas, semelhantes aos tubos foliculares, como poderemos verificar em desenhos de cortes (Fig. 28).

Fig. 28 - Corte histológico do cório de *Triatoma platensis* (370x).

* *Triatoma delpantei* Romãna & Abalos, 1947 foi a única espécie da qual não dispusemos de material, mas pela descrição do exocório (Abalos & Wygodzinsky¹, 1951) parece estar neste grupo.

Quanto à respiração do embrião o papel das aerópilas tem sido aceito pela maioria dos autores (Hinton²³; Tuft³⁵; Wigglessworth & Beament³⁸), entretanto ficou também demonstrado em experimentos com *R. prolixus* que trocas gasosas poderão ser efetuadas, embora em pequena escala através da casca (Tuft³⁵). Certamente essas trocas só poderão ser realizadas através dos tubos foliculares, pois como já vimos, são as únicas estruturas que penetram profundamente no cório. Por outro lado, as aerópilas e os tubos foliculares são formados de maneira similar (Beament⁷) e guardam entre si estreita semelhança morfológica. O que nos leva a acreditar em um relacionamento íntimo entre essas estruturas e a respiração do embrião. Se bem que as aerópilas em *Rhodnius* segundo Beament⁷, terminam na superfície externa em inúmeros e finos canais aeropilares, em outros grupos como *Nepidae* (Hemiptera), elas terminam em um número reduzido de canais e de diâmetro acentuadamente maior (Hinton²²), portanto com uma estrutura bem mais próxima dos citados tubos foliculares de *Rhodnius*. E em grupos mais afastados como *Galleria mellonella* (Pyralidae - Lepidoptera) terminam na superfície em um único orifício e seu canal atravessa o cório atingindo as camadas internas (Barbier & Chauvin³). Em *R. pictipes* e outras espécies, ficou constatado através de microscopia eletrônica de varredura a presença de orifícios situados na borda corial da casca, acima da goteira espermática e portanto fora da posição das micrópilas (Fig. 9, letra c). Acreditamos que se trate de orifícios de entrada das aerópilas ou quando muito das curtas aerópilas (curtas pseudomicrópilas de Beament⁷), que aqui terminariam diretamente na superfície e não em material pro-

teico poroso formado por células especializadas (F e H) conforme descrição deste autor.

3.2 Características específicas dos ovos, suas mensurações e formações exocoriais.

Apresentaremos a seguir as descrições dos ovos, das cascas, das medidas obtidas e dos exocórios, bem como o material examinado de cada uma das dez espécies estudadas e que são em ordem alfabética as seguintes: *R.domesticus* Neiva & Pinto, 1923; *R.ecuadoriensis* Lent & León, 1958; *R.nasutus* Stal, 1859; *R.neglectus* Lent, 1954; *R.neivai* Lent, 1953; *R.pallescens* Barber, 1932; *R.paraensis* Sherlock, Guitton & Milles, 1977; *R.pictipes* Stal, 1872; *R.prolixus* Stal, 1859 e *R.robustus* Larrousse, 1927. Deixaram portanto de serem incluídas no presente trabalho as descrições dos ovos de *R.brethesi* Matta, 1919; *R.amazonicus* Almeida, Santos & Sposina, 1973 e de *R.dallessandroi* Carcavallo & Barreto, 1976, por impossibilidade total de aquisição de material. Embora *R.brethesi* seja há muito conhecida, é uma espécie silvestre relativamente rara e de difícil colonização em laboratório. Quanto às outras sendo de descrição recente não se tem registro posterior de encontro de novos exemplares e do material original da descrição todo ele estava morto, uma fêmea no caso de *R.amazonicus* e dois machos, uma fêmea e uma ninfa de 5º estágio no caso de *R.dallessandroi*.

3.2.1. *R.domesticus* Neiva & Pinto, 1923

Material examinado:

Estação Experimental de Pariquera-Açú, Pariquera-Açú, São Paulo, Brasil. Exemplares: adultos e ninfas capturados em ninho de roedores em bromélias, árvore nº 3, área I, coletados por Ernesto Xavier Rabello, em junho de 1974. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob número RCT 141, iniciada em junho de 1974 e naturalmente extinta em setembro de 1977. Amostra nº 17.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados, com cascas pouco translúcidas frequentemente em tom salmão claro ou raramente amarelo-pálido e discreto brilho sedoso. Quando recém-postos com embrião provavelmente de coloração rosa claro, isso porque não tendo sido possível o exame de material vivo, foi constatado que embriões mortos (jovens) possuem essa coloração, e por conseguinte ovos embrionados maduros tomariam coloração vermelha.

Opérculo de coloração castanho-pálido, em tom levemente mais forte do que *R.prolixus* e evidentemente mais claro do que *R.neglectus*, e como esses, com bordas translúcidas e esbranquiçadas.

Não possuem colarinho, conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), têm colo aparentemente estreito, apresentam achatamento lateral, possuem evidente inclinação do opérculo em relação ao achatamento e não tem chanfradura longitudinal (Fig.29).

Ovos alongados, relativamente pequenos, tendo em

R. domesticus:- Fig.29 - Aspecto geral do ovo (37,5x).
 Fig.30 - Aspecto da superfície exocorial (750x). Fig.31
 Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

média $1,556 \pm 0,018 \text{ mm}^*$ de comprimento por $0,850 \pm 0,036 \text{ mm}^*$ de diâmetro. Sendo significativamente menor em comprimento do que *R.pallesens*, *R.prolixus*, *R.ecuadoriensis* e *R.neglectus*, não apresentando diferença significativa com as outras espécies. Assim como é significativamente menor em diâmetro do que *R.neivai*, *R.robustus* e *R.pallesens*, não apresentando diferença significativa com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

O aspecto geral do exocório é uniforme, frequentemente possuem funis rasos, em cortes histológicos suas bordas apresentam-se arredondadas, entretanto culminadas por pequenas proeminências bizeladas relativas ao traçado das linhas limitantes (LL) (Fig.32), caráter esse pouco observado em outras espécies e que para os ovos albinos servirá como importante característica diferencial com *R.ecuadoriensis*.

As linhas limitantes em microscopia eletrônica de varredura (MEV) embora evidentes não o são tanto quanto em *R.prolixus* ou *R.pictipes*, apresentam-se aqui proeminentes, estreitas, lisas e retilíneas (Fig. 30). Em microscopia ótica (MO) são de difícil visualização. fazendo exceção a área peri-opercular, onde embora possam ser observadas, não o são tão facilmente, aí elas apresentam-se retilíneas e pouco refringentes e devido à presença de granulações poderão parecer largas e rugosas.

As granulações são facilmente evidenciáveis em MEV, onde são irregulares quanto a tamanho, forma e distri

(*) A notação usada em todas as espécies estudadas, de $X \pm a$, indica simplesmente o valor médio das medidas (X) e o desvio padrão (a). Não se intenciona com esta notação qualquer referência a intervalos de confiança ou de erros para a média.

buição, frequentemente esparsas e podendo estar ou não recobrindo as linhas limitantes (Fig.31) sem entretanto lhes conferir aspecto rugoso, característico em *R. prolixus* e *R. robustus*. Em MO não são facilmente observáveis, com exceção da área peri-opercular, onde podem ser confirmadas essas características.

Os tubos foliculares são longos, retos ou encurvados, estreitos na base e acentuada dilatação palmatiforme, lembrando escamas alares de dípteros, por isso em corte poderão apresentar-se desta maneira ou estreitos (Fig.32).

Endocório mole de largura aproximadamente a metade do cório e endocório riço visível como uma dupla membrana que se cora mais intensamente (Fig.32).

Fig. 32 - Corte histológico do cório de *Rhodnius domesticus* (370x).

3.2.2. *R. ecuadoriensis* Lent & León, 1958.

Material examinado:

Distrito de Cascas, Contumazá, Departamento de Cajamarca, Peru. Coletado em "Caserios". Leg. Dra. Arlita C. de Pinho, do Departamento de Biologia Geral, Faculdade de Filosofia da Universidade Federal de Minas Gerais, obtido através do Dr. Cezar Cuba Cuba, de material de colônia do insetário do Instituto Nacional de Endemias Rurais, Belo Horizonte, Minas Gerais. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob RCT 159, iniciada em julho de 1975 e atualmente em produção. Amostra nº 20.

Aspecto geral do ovo:

Os ovos são de coloração castanho muito claro, com uma certa gradação de tons e leve brilho áureo, com um acentuado anel de pigmentação castanho mais escuro logo abaixo do colo e que poderá ser confundido com o colarinho, particularmente com pequenos aumentos. Foi observado em alguns casos, ovos totalmente brancos em tom níveo, portanto sem esse anel. Em todos os casos entretanto, o embrião jovem apresenta-se amarelo-pálido. Notando-se nesta espécie mais do que em outras, a evolução do embrião a partir de um duplo filamento rosa, situado mediana e longitudinalmente e que vai se expandindo lateralmente até tomar praticamente todo o corpo do embrião, e fazendo com que o ovo mude de coloração, primeiro para rosa claro e depois para rosa escuro, quando se tornam visíveis as manchas oculares de coloração vermelho púrpura da ninfa.

O opérculo é de coloração castanho no mesmo tom do anel já citado e portanto em tom mais escuro do que o cor-

R. ecuadoriensis:- Fig.33 - Aspecto geral do ovo (37,5x).
 Fig.34 - Aspecto da superfície exocorial (1.125x) . Figs.35
 e 36 - Detalhes da superfície exocorial (2.250x).

po do ovo, e com bordas translúcidas e esbranquiçadas ou totalmente branco para os casos albinos já citados.

Não possuem colarinho, têm colo aparentemente estreito, têm frequentemente achatamento lateral, em alguns casos evidente inclinação do opérculo em relação ao achatamento e não possuem chanfradura longitudinal (Fig. 33).

Ovos acentuadamente alongados, tendo em média $1,766 \pm 0,089$ mm de comprimento por $0,865 \pm 0,025$ mm de diâmetro. Sendo significativamente maior em comprimento do que *R.neglectus*, *R.robustus* e *R.domesticus*; significativamente menor do que *R.palleszens*, e não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Assim como é significativamente menor em diâmetro do que *R.neivai*, *R.robustus* e *R.palleszens* e não apresentando diferenças significativas com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

Apresentam certa constância de caracteres dentro da amostra, tendo inclusive o exocório se evidenciado com mesmas características tanto no grupo de ovos com pigmentação castanho, quanto naqueles totalmente brancos. O aspecto geral é uniforme, possuem funis rasos e em microscopia ótica, por transparência, são apenas evidentes os pequenos orifícios centrais de entrada dos tubos; em corte esses orifícios tem abertura ampla e os funis têm bordas arredondadas culminados por proeminências amplas onde estariam situadas as linhas limitantes (Fig. 37), fator esse que os diferencia dos ovos albinos de *R.domesticus*, com os quais mantêm estreitas semelhanças.

As linhas limitantes em microscopia eletrônica de

varredura não tem nítida delimitação, a área onde estão situadas é suavemente proeminente e tornam porisso o aspecto de largas, retilíneas e levemente rugosas (Figs.34,35 e 36). Por transparência são pouco refringentes e consequentemente pouco evidentes, entretanto devido ao revestimento de granulações tomam aspecto largo e rugoso, muitas vezes parecendo formar uma moldura em torno dos funis, cujos ângulos de junção são suavemente arredondados.

As granulações que revestem o tegumento são em MEV, miúdas, esparsas, raramente aglutinadas, frequentemente mais distribuídas em torno das linhas limitantes (Fig.35) ; outras vezes apresentam-se aglutinadas formando pequenos grupos (Fig.36). Por transparência são de difícil visualização, visíveis mais facilmente quando concentradas sobre as linhas limitantes, irregulares, pouco translúcidas e com leve tom esverdeado.

Os tubos por transparência são pouco perceptíveis, têm pequena dilatação apical e encurvamento discreto ou mesmo ausente, em corte são curtos e largos, alcançando entretanto o endocório (Fig.37). Em alguns casos foi notado em corte, ou em fotos MEV a obstrução desses tubos por "esferas", como no caso de *R.palleszens* (Fig.36).

O endocório mole é razoavelmente largo, isto é , ligeiramente mais largo do que a metade da largura do cório, e o endocório rijo é visível como uma dupla membrana que se cora mais intensamente (Fig.37).

Quando os cortes histológicos estão situados no polo superior do ovo é visível uma faixa larga e irregular de pigmentação castanho, situada na parte inferior do exocó

rio mole, correspondendo portanto ao já citado anel nesta á
rea (Fig.37).

Fig. 37 - Corte histológico do cório de *Rhodnius ecuadonensis* (370x)

3.2.3. *R. nasutus* Stal, 1859

Material examinado.

Lagoa de Pajuçara, Fortaleza, Ceará, Brasil. Leg. Dr. José Jurberg, Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 111, iniciada em julho de 1973 e atualmente em produção. Amostra nº 01.

Jorge, município de Itapagé, Ceará, Brasil. Material coletado em galinheiro, em novembro de 1975. Cascas de ovos doadas pelo Dr. Joaquim Alencar da Universidade Federal do Ceará. Não há colônia. Amostra nº 174.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados com cascas pouco translúcidas, em tom branco nêveo ou amarelo-limão e discreto brilho sedoso. Quando recém-postos apresentam embrião com variação de coloração entre um amarelo-pálido a um rosa típico. À medida que evoluem acentuam-se essas colorações, os amarelo-pálidos a castanho-pálidos e os rosas a vermelhos; em ambos os casos tornam-se visíveis as manchas oculares das ninfas. Essas quando recém-eclodidas tomam coloração respectivamente castanho-pálido e vermelho intenso, sendo que as últimas passando o tempo necessário à oxidação da quitina tomam coloração castanho mais forte do que as primeiras. Entretanto é interessante frisar que nem todos os ovos com embriões amarelo-pálidos evoluem para coloração castanho-pálido; no material examinado cerca de 50% evoluiu para rosa e posteriormente vermelho.

Opérculo de coloração escura, castanho bronze com

R. nasutus:- Fig. 38 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Figs. 39 e 40 - Aspectos da superfície exochorial (750x). Fig. 41 - Detalhe da superfície exochorial (2.250x).

bordas translúcidas e esbranquiçadas, muito semelhante a *R. neglectus*, todavia com o corpo visivelmente mais translúcido do que naquela espécie.

Possuem colarinho conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), colo aparentemente normal, evidente achatamento lateral, nítida inclinação do opérculo em relação a esse achatamento e não possuem chanfradura longitudinal (Fig.38).

Ovos alongados tendo em média $1,663 \pm 0,032$ mm de comprimento por $0,828 \pm 0,037$ mm de diâmetro. Significativamente menor em comprimento do que *R.pallesens* e *R.prolixus*, não apresentando diferença significativa com as outras espécies. Assim como é significativamente menor em diâmetro do que *R.neivai*, *R.robustus*, *R.pallesens*, *R.prolixus* e *R.neglectus*, não apresentando diferença significativa com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

Apresentam acentuada variação de caracteres, dentro de uma mesma amostra ou entre amostras diferentes. Frequentemente em um mesmo espécimen também não ocorre uniformidade, particularmente em referência às características das delimitações dos hexágonos (LL) e das granulações, por isso dificilmente são encontradas áreas com aspecto geral uniforme, a regra geral é a irregularidade e uma certa aparência "suja". Os "funis" fazendo exceção, quase que constantemente são muito rasos, não sendo observável a característica de "favos de colmeia" encontrada na maioria das espécies. Por transparência e com pequeno aumento (objetiva 10x), essas depressões são praticamente imperceptíveis sendo visíveis apenas os orifícios centrais de entrada dos tubos, fato que

poderá ser confirmado em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Fig.39). Em corte essas estruturas são também confirmadas e as bordas desses funis apresentam-se visivelmente arredondadas, sem nenhuma evidência de proeminência das linhas limitantes (LL) (Fig.42). Essa característica constitui a mais importante diferenciação entre esta espécie e *R. neglectus*, cujas formações exocoriais mantêm estreita semelhança.

Por microscopia eletrônica de varredura as linhas limitantes apresentam-se praticamente ausentes devido ao intenso revestimento de granulações sobre elas (Fig.39). Revestimento esse que algumas vezes forma pela concentração, verdadeiras áreas delimitantes (Fig.41). Ainda em outros casos essas linhas limitantes são formadas por áreas lisas, largas e irregulares em consequência da ausência e/ou aglutinação de granulações, dando idéia de, devido a atrito, terem sido despojados de tais elementos (Fig.40). Por transparência esses aspectos mais ou menos são mantidos, essas formações são pouco evidentes, tanto que com pequeno aumento (objetiva 10x) são totalmente imperceptíveis. Com aumento maior poderão ser visualizados debilmente, apresentando-se lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes, aparentemente poderão ainda se mostrar rugosas devido ao acúmulo de granulações sobre elas, caráter esse entretanto que tenderá desaparecer na medida em que o foco for dado em profundidade.

As granulações que revestem o tegumento são de tamanho irregular, com predomínio de graúdas, com distribuição também irregular podendo estar ou não mais concentradas sobre as linhas limitantes, frequentemente aglutinadas for-

mando grumos, ou ainda poderão estar esparsas, quase ausentes (Figs. 39, 40 e 41).

Os tubos foliculares são médios ou longos com acentuada dilatação apical (Fig.42). O endocório mole é de aproximadamente a metade da largura do cório, e o endocório rijo é visível como uma dupla membrana que se cora mais intensamente.

Fig. 42 - Corte histológico do cório de *Rhodnius nasutus* (370x).

3.2.4. *R. neglectus* Lent, 1954

Materia! examinado:

Estrada Pitangueiras, Bebedouro, município de Pitangueiras, São Paulo, Brasil. Clone obtido a partir de um casal capturado em cópula, em copa de palmeira "macaúba". Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 20, iniciada em março de 1969 e atualmente em produção. Amostra nº 02.

Fazenda Bonsucesso, município de Monte Alto, São Paulo, Brasil. Clone obtido de uma fêmea capturada em ninho de pássaro em teto de uma casa. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 48, iniciada em fevereiro de 1972 e naturalmente extinta. Amostra nº 04.

Fazenda Campo Doce, município de Sales de Oliveira, São Paulo, Brasil. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 68, iniciada em setembro de 1972 e juntada ao material da RCT 23, e atualmente em produção. Amostra nº 05.

Bairro João Pedro, município de Guaíra, São Paulo, Brasil. Adultos e ninfas capturados em casas e anexos. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 23, iniciada em março de 1969, juntada aos RCTs 68 e 121, e atualmente em produção. Amostra nº 03.

Fazenda Barcelona, município de Guaíra, São Paulo, Brasil. Adultos e ninfas capturados em copa de palmeira "macaúba" na área III. Colônia do Departamento de Epidemiologia

gia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 190, iniciada em setembro de 1976 e atualmente em produção. Amostra nº 137.

Fazenda Rosário, município de Guaíra, São Paulo, Brasil. Adultos e ninfas capturados em copa de palmeira "macaúba". Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 234, iniciada em agosto de 1977 e atualmente em produção. Amostra nº 168.

Fazenda Brejão, município de Guaíra, São Paulo, Brasil. Adultos e ninfas capturados em galinheiro experimental nº 3, área I. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 233, iniciada em agosto de 1977 e atualmente em produção. Amostra nº 169.

Fazenda Três Barras, município de Frutal, Minas Gerais, Brasil. Adultos e ninfas capturados em galinheiro experimental nº 2, área I. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 241, iniciada em setembro de 1977 e atualmente em produção. Amostra nº 180.

Fazenda Buriti, município de Frutal, Minas Gerais, Brasil. Adultos e ninfas capturados em copa de palmeira "macaúba". Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 235, iniciada em agosto de 1977 e atualmente em produção. Amostra nº 176.

Fazenda São Mateus, município de Frutal, Minas Gerais, Brasil. Adultos e ninfas capturados em galinheiro experimental nº 1, área I. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 206, iniciada em dezembro de 1976 e atualmente em produção. Amostra nº 146.

Fazenda Serradão, município de Frutal, Minas Gerais, Brasil. Adultos e ninfas capturados em copa de palmeira "macaúba" na área II. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 245, iniciada em outubro de 1977 e atualmente em produção. Amostra nº 181.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados com cascas pouco translúcidas, frequentemente com leve tom amarelo-limão, raramente salmão-claro e discreto brilho sedoso. Quando recém-postos com embrião frequentemente de coloração rosa-claro, entretanto, nestas condições foram também observados raros embriões de coloração amarelo-pálido, estes à medida que evoluíam tomavam coloração rosa e ao término do desenvolvimento embrionário estavam praticamente iguais aos primeiros, isto é, de coloração vermelha e com evidentes manchas oculares das ninfas.

Opérculo evidenciando-se pela coloração escura, castanho-cobre, com mesmo brilho sedoso do corpo do ovo e bordas translúcidas e esbranquiçadas. Possuem colarinho, conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974) colo normal, evidente achatamento lateral, nítida inclinação do opérculo em relação ao achatamento e não possuem chanfradura (Fig.43).

Ovos alongados, tendo em média $1,673 \pm 0,057$ mm

R. neglectus:- Fig.43 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Figs. 44 e 45 - Aspecto da superfície exocorial (1.125x). Fig.46- Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

de comprimento por $0,875 \pm 0,015$ mm de diâmetro. Significativamente maior em comprimento do que *R.domesticus* e menor do que *R.palleszens*, *R.prolixus* e *R.ecuadoriensis*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Assim como é significativamente maior em diâmetro do que *R.nasutus* e menor do que *R.neivai*, *R.robustus* e *R.palleszens*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

Barth & Muth⁵ (1958) é a única referência existente para descrição do exocório desta espécie, naquele trabalho são estabelecidas diferenças com *R.prolixus*, espécie que em relação às características dos ovos está consideravelmente afastada de *R.neglectus*, tanto em relação aos aspectos macroscópicos quanto exocoriais.

O exocório nesta espécie apresenta acentuada variação de caracteres dentro de uma mesma amostra e entre amostras diferentes, assim as descrições referem-se ao padrão mais ocorrente em cada estrutura. Frequentemente seu aspecto geral no mesmo espécimen é uniforme, possuindo funis médios ou rasos, por isso em microscopia ótica (MO) o fundo desses funis é de diâmetro pequeno, evidente e com menor aumento (objetiva 10x) lembram pequenas "poças". Certamente esse foi o mesmo caráter que fez com que Barth & Muth⁵ (1958) a considere como possuidora de áreas periféricas largas, portanto ao contrário de *R.prolixus* que teria áreas periféricas estreitas. De fato os funis tendo depressões rasas deixam evidentes, em MO, praticamente a pequena área central e consequentemente aumentando a visualização das superfícies laterais, o que

lhes daria então esse aspecto, e conforme já citado no capítulo 3.1.3... Em corte esse funis têm bordas ponteagudas, onde no ápice estariam situadas as linhas limitantes (LL) embora com fraca evidência de demarcação; de qualquer forma essa é uma característica importante na diferenciação com *R.nasutus*, espécie com a qual guarda estreitas semelhanças (Fig.47).

As linhas limitantes são em microscopia eletrônica de varredura fracamente salientes, retilíneas, estreitas e frequentemente evidenciáveis pelo espaço dado devido a ausência de granulações (Figs.45 e 46), ou em certos casos de difícil visualização devido ao intenso revestimento de granulações nessa área (Fig.44). Em microscopia ótica poderão apresentar-se na maioria das vezes evidentes e em raros casos ausentes, quando visíveis são lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes, algumas vezes poderão parecer rugosas devido ao acúmulo de granulações sobre elas, caráter esse que tenderá a desaparecer na medida em que o foco for dado em profundidade.

As granulações que revestem o tegumento são miúdas, abundantes, esféricas, com distribuição uniforme, muito evidentes em microscopia eletrônica de varredura (Fig.46) e de difícil visualização em microscopia ótica, onde têm coloração clara, distribuição uniforme, dando aspecto levemente rugoso ao tegumento e fazendo lembrar rugosidade de "poros de casca de laranja".

Os tubos são frequentemente longos, quando observados por transparência e com pequeno aumento tomam o aspecto característico de pequenas cerdas ou pelos. Em corte são finos e frequentemente com pequena curvatura e dilatação api

cal. Neste, o endocório mole é razoavelmente estreito, isto é, tomando menos que a metade da espessura do cório (Fig. 47) e o endocório riço é visível como uma dupla membrana corada mais intensamente.

Fig. 47 - Corte histológico do cório de *Rhodnius neglectus* (370x).

3.2.5. *R. neivai* Lent, 1953

Material examinado:

Camacaro, C. Parapara, Estado de Lara, Venezuela. Leg. Dr. José Torrealba, Universidade de Los Andes, Mérida, Venezuela. Cepa de colônia a partir do material original da descrição. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 144, iniciada em julho de 1974, naturalmente extinta em janeiro de 1978. Amostra nº 18.

Camacaro, C. Parapara, Estado de Lara, Venezuela. Leg. Dr. Hélio Espinola, Organização Panamericana de Saúde, Aragua, Venezuela. Cepa de colônia a partir do material original da descrição. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 297, iniciada em agosto de 1978 e atualmente em produção. Amostra nº 222.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados com cascas pouco translúcidas, frequentemente em tom salmão claro ou amarelo-pálido e discreto brilho sedoso. Quando recém-postos com embrião de coloração muito pálida, em tom bem mais claro do que *R. neglectus* e *R. prolixus*, e com o desenvolvimento toma tons mais fortes, chegando a um rosa mais escuro e com o aparecimento de manchas oculares da ninfa. Lent & Valderrama²⁷ (1977) os consideram como rosados na ocasião da oviposição, posteriormente vermelhos, e brancos após a eclosão.

Opérculo de coloração castanho muito pálido, em tom semelhante ou pouco mais fraco que *R. prolixus*, e como esse, com bordas translúcidas e esbranquiçadas.

R. neivai: - Fig.48 - Aspecto geral do ovo (37,5x).
 Fig.49 - Aspecto da superfície exocorial (1.125x).
 Fig.50 - Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

Possuem colarinho conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), têm colo aparentemente largo, frequentemente é evidente o achatamento lateral, possuem discreta inclinação do opérculo em relação ao achatamento e não possuem chanfradura longitudinal (Fig.48).

Ovos de aspecto atarracado tendo em média $1,705 \pm 0,043$ mm de comprimento por $0,979 \pm 0,039$ mm de diâmetro. Significativamente menor em comprimento do que *R.pallesens* e não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Assim como é significativamente maior em diâmetro do que *R.domesticus*, *R.prolixus*, *R.neglectus*, *R.ecuadoriensis* e *R.nasutus*, e não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Lent & Valderrama²⁷ (1977) registraram para esta espécie 1,650 mm de comprimento por 0,920 mm de diâmetro, embora não tenham citado o desvio padrão em contrado, essas medidas estão relativamente próximas de nossos dados.

Aspecto geral do exocório:

O aspecto geral é uniforme, guardando essa uniformidade tanto em um mesmo espécimen quanto em amostras diferentes. Frequentemente possuem funis profundos e estreitos, em corte entretanto, as bordas desses funis apresentam-se arredondadas, e não pontiagudas como em *R.prolixus*, não se evidenciando em nenhuma circunstância as proeminências relativas ao traçado das linhas limitantes (LL) (Fig.51).

As linhas limitantes em microscopia de varredura (MEV) são pouco evidentes, quando muito a concentração de granulações delimita o seu traçado (Fig.49); em microscopia ótica (MO) são também praticamente ausentes, devido ao adensamento de granulações já citado, tomam aspecto rugoso, lar

go, irregular e sem refringência que se mantém mesmo quando observados em profundidade.

As granulações são graúdas, abundantes e com distribuição uniforme sobre o tegumento, salvo no fundo dos funis onde são mais escassas, algumas vezes se adensam formando grumos, particularmente sobre as linhas limitantes; guardando as devidas proporções são de fácil observação tanto em microscopia eletrônica de varredura quanto em microscopia ótica (Fig.50).

Os tubos são frequentemente longos, largos, retilíneos e com expansão apical (Fig.51).

O endocório mole é estreito, de largura menor do que a metade do cório, e o endocório rijo é visualizado como uma dupla membrana que se cora mais intensamente (Fig. 51).

Fig. 51 - Corte histológico do cório de *Rhodnius neivai* (370x).

3.2.6. *R. pallescens* Barber, 1932.

Material examinado:

Panamá. Leg. Dr. E. Osorno Mesa, Laboratório do Instituto Nacional para Programas Especiales de Salud (INPES), Bogotá, Colômbia. Colônia do Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 97, iniciada em janeiro de 1973 e naturalmente extinta em novembro de 1974. Amostra nº 07

Panamá. Leg. Dr. José Jurberg, Instituto Oswaldo Cruz, Mangueiras, Rio de Janeiro, Brasil. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 81, iniciada em dezembro de 1972 e naturalmente extinta em 1975. Amostra nº 08.

Aspecto geral do ovo:

Ovos de coloração castanho com leve brilho bronzeado. Com opérculo, "colarinho" e "chanfradura longitudinal" de tom acentuadamente mais escuro. Foram observados em raríssimos casos ovos de um castanho muito pálido e discreto brilho bronzeado. sem as citadas áreas de pigmentação mais intensa.

Cascas pouco translúcidas, certamente menos translúcidas do que as espécies de coloração esbranquiçada, entretanto o suficiente para deixar a coloração do embrião reforçar os tons desta. Embora não tendo sido possível o exame de material vivo, pudemos constatar em material morto, que os embriões jovens são de coloração amarelo-pálido e em briões maduros de coloração levemente avermelhado.

Opérculo como foi citado é de coloração castanho

R. pallesceus:- Figs.52 e 53 - Aspectos gerais do ovo(37,5x).
Figs. 54 e 55 - Aspectos da superfície exocorial (750x).

R. pallescens:- Fig.56-Aspecto da superfície exocorial (750x).
 Figs. 57 e 58 - Detalhes da superfície exocorial evidenciando respectivamente a presença de esfera e esporo de fungo (2.250x). Figs.59 e 60 - Cortes histológicos mostrando a presença de esferas (750x).

forte, com bordas translúcidas e esbranquiçadas, contornadas por um delgado anel de coloração castanho mais escuro; para os casos "albinos" são de coloração castanho muito pálido.

Possuem colarinho conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), entretanto com expansões acentuadamente menos salientes que nas outras espécies possuidoras desta formação, contudo muito evidente pela coloração mais escura. Têm colo aparentemente estreito, opérculo ligeiramente inclinado, possuem achatamento lateral, acentuado por uma depressão alongada, mediana, e de coloração castanho escuro e que a chamamos de chanfradura longitudinal (Fig.52 e 53). Essa formação apenas encontrada frequentemente nesta espécie e ocasionalmente em *R. pictipes*, poderá marcar profundamente o cório, o que será facilmente detectado em corte histológico transversal (Fig.5).

Ovos acentuadamente alongados, relativamente grandes, tendo em média $1,981 \pm 0,075$ mm de comprimento por $0,938 \pm 0,101$ mm de diâmetro. Sendo significativamente maior em comprimento do que todas as outras espécies estudadas. Assim como significativamente maior em diâmetro do que *R. prolixus*, *R. neglectus*, *R. ecuadoriensis*, *R. domesticus* e *R. nasutus*, e não apresentando diferenças significativas com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

Possuem certa uniformidade de caracteres entre as diferentes amostras estudadas. Os funis são profundos, em corte poder-se-á verificar que são estreitos, têm bordas arredondadas sem nenhuma demarcação de proeminência das linhas limitantes (LL) (Fig.61). Provavelmente pelo fato de

não terem bordas bizeladas, o sentido de profundidade não é marcante em microscopia de varredura (MEV) e ainda menos acentuado por transparência .

Em microscopia eletrônica de varredura não há formação típica das linhas limitantes, as áreas destas podem apresentar-se intensamente revestidas de granulações, ou simplesmente formando faixas lisas, largas e irregulares devido ao escasseamento dessas granulações (respectivamente Figs. 54 e 55). Em microscopia ótica (MO) são também de difícil visualização, podendo ser identificadas mais facilmente em certas áreas, como as pigmentadas, onde se apresentam como linhas claras, retilíneas, estreitas e sem refringência.

As granulações por microscopia eletrônica de varredura podem apresentar-se miúdas, abundantes e revestindo uniformemente o tegumento (Fig. 54) ou então com um maior ou menor escasseamento na área das linhas limitantes, fato esse que poderá expandir-se tomar o corpo dos funis e dar aspecto glabro para determinadas áreas (Figs. 55 e 56). Em microscopia ótica são de difícil visualização, sendo observáveis com menor dificuldade também nas áreas pigmentadas, como "colarinho" e "chanfradura"; ainda assim nestas áreas há dificuldade de identificação devido à homogeneidade de distribuição.

Os tubos são longos, ora largos, ora estreitos, frequentemente retilíneos e com dilatação apical, entretanto alguns podem apresentar suave inclinação. Por transparência e com pequeno aumento (objetiva 10x) em muitas áreas eles tomam o aspecto geral de aglomerados de cerdas.

Em corte histológico o exocório mole, que pela me-

todologia utilizada não se deixa corar, apresenta na porção basal e limítrofe com o endocório mole, uma faixa de pigmentos muito reduzidos, não refringentes e de coloração castanha, muito evidente na região da "chanfradura" e menos em outras áreas (Fig.61). Provavelmente esse pigmento é o responsável pela coloração castanha da casca do ovo e das áreas mais escuras, como "chanfradura", "colarinho" e opérculo. Essa formação foi constatada também em *R.pictipes*, entretanto não foi possível sua confirmação em *R.paraensis*, espécie que, como *R.pallesens*, tem ovos de coloração castanho típico.

O endocório mole é estreito, de largura menor do que a metade do cório. Em algumas amostras nessa região foi constatado através de corte histológico, a presença de outro pigmento, diferindo do já citado, maior do que aquele, refringente e corado mais intensamente pelo carmin e ocupando praticamente toda essa área, com exceção de uma estreita faixa superior limítrofe com o exocório mole. Para essa formação, que só localizamos nesta espécie, não foi possível encontrarmos nenhuma explicação. O endocório rijo é como nas outras espécies do gênero, formado por uma dupla membrana que se deixa corar mais intensamente (Fig.61).

Esta espécie apresenta além das estruturas constantes para o gênero, outras formações que pela constância apresentada, achamos relevante citá-las. Uma dessas formações é a presença de pequenas esferas situadas no fundo do funil e parcialmente obstruindo a entrada dos tubos. E que poderiam em uma primeira observação serem confundidas com esporos de fungos, já que frequentemente o material trabalhado está contaminado por este organismo, e as dimensões

destes elementos são semelhantes. Entretanto pelo aspecto morfológico (compare respectivamente as Figs. 57 e 58) e pela regularidade ou irregularidade da distribuição respectivamente, das esferas e dos fungos, logo se poderá desprestar tal hipótese (Fig.56). Por microscopia eletrônica de varredura há indicação de que essas esferas sejam formadas pelo mesmo material do exocório rijo, ou que pelo menos, revestidas por esse material, uma vez que possuem em sua superfície granulações semelhantes às já descritas para o exocório (Figs 54 e 57). Por transparência e sem coloração elas apresentam-se como pontos refringentes e em cortes histológicos, quer por microscopia eletrônica de varredura quer por microscopia ótica, poderá ser confirmada sua presença e a obstrução da entrada dos tubos (Figs. 59 e 61). Por outro lado acreditamos que estejam fracamente aderidas à superfície do exocório por uma de suas faces, pois através de cortes histológicos, embora em raras oportunidades, nos pareceu não haver solução de continuidade entre o exocório mole e corpo dessas esferas (Figs. 60 e 61). Um outro elemento que reforçaria este fato é que foram observadas esferas deslocadas de sua posição normal, algumas vezes dentro dos tubos foliulares, outras vezes, raramente, sobre o tegumento, dando indicação de terem sido naturalmente desprendidos de sua localização inicial. Entretanto ovos submetidos ao tratamento por ultrassom durante uma hora não apresentaram alteração nesta estrutura. Pelo que foi dado observar e acima exposto supomos que o papel dessa formação esteja ligado à regulação de trocas gasosas e/ou hídricas; de qualquer forma, seriam necessárias melhores investigações sobre o assunto.

Outras formações constantemente observadas nesta espécie e ausentes em todas as outras estudadas, são o que convencionamos chamar "filamentos radiais"^{*}. Esses filamentos apenas constatados por transparência de fragmentos de casca sem prévio tratamento e não detectados nem por microscopia eletrônica de varredura e nem por cortes histológicos corados, apresentam-se como linhas segmentadas, muito finas, de comprimento variável, coloração castanho escuro, originando-se na borda do orifício central da entrada dos tubos foliculares e irradiando-se em todas as direções (Fig. 62). Concomitantemente com esta formação foi verificada a presença de pequenos grânulos de forma e tamanho variável, de mesma coloração e irregularmente distribuídos no cório; parecendo que nas áreas onde esses filamentos são mais discretos esses grânulos são mais abundantes e o contrário é verdadeiro (Fig. 62). As áreas intensamente atingidas por esses elementos tomam o aspecto geral de "zonas imantadas revestidas por limalhas de ferro" e observadas com menor aumento, a coloração castanha do cório torna-se mais forte com uma certa tonalidade plúmbea. Beament⁶ (1946) descreveu em *R. prolixus* a presença do que ele chamou de canais aeropilares ("pore-canals"), e que pela descrição dada e desenhos apresentados tem estrutura muito semelhante a estas formações, entretanto ele só pôde observar tais canais após prévio tratamento por solução saturada de brometo de potássio e posterior passagem em ausência de luz pelo nitrato de prata a 5%. Porém pela metodologia trabalhada, em todas as

* Em *R. pictipes* foi constatada semelhante formação discretamente.

outras espécies estudadas, inclusive *R. prolixus*, não foi possível constatar esta formação, enquanto que nesta espécie sem nenhum tratamento adequado ficou detectada tal estrutura. A explicação desse fato fugiria ao escopo deste trabalho, bem como, o estudo da função, o desenvolvimento e a frequência com que pode apresentar-se nas diferentes espécies é ainda um campo aberto à investigação* .

E finalmente uma outra formação encontrada apenas nesta espécie e somente constatada por transparência é o que chamaremos de "ranhuras". Essas "ranhuras" são depressões retilíneas, finas, refringentes, incolores, que correm em sentido uni ou multidirecional, quase sempre fazendo ligação entre diferentes orifícios dos tubos foliculares, e lembrando no aspecto geral à "ranhuras em lâminas de vidro" (Fig. 63). Observados por transparência estariam aparentemente situadas na superfície, mas examinando exaustivamente todo o material por microscopia eletrônica de varredura e por cortes histológicos corados, nada pudemos encontrar que indicasse a presença dessas ranhuras. Galliard²⁰ (1935) cita a presença em *R. prolixus* de estruturas semelhantes e Beament⁶ (1946), chamando-as de "linhas de Galliard", não encontrou nenhuma função para tais elementos, achando que elas poderiam ser consideradas como resultado da ação do álcool absoluto e admitindo então, que Galliard²⁰ as teria confundido com os canais aeropi

* Mesmo porque pelo fato deste material ter sido originário de duas distintas colônias, que não obstante todos os esforços envidados extinguiu-se natural, rápida e progressivamente, poderia-nos levar a supor na ação de um agente patogênico, talvez um vírus ou um fungo adaptado a esse material. Coincidentemente ou não, o fato de ovos não eclodidos (portanto com embrião morto precocemente) apresentam mais intensamente essa formação e ovos eclodidos (portanto com ninfas mortas tardiamente) apresentam-na discretamente, viria a reforçar tal hipótese.

lares. Entretanto nós não tratamos nosso material com álcool absoluto e se os nossos "filamentos radiais" anteriormente citados são os mesmos "canais aeropilares" de Beament⁶ e se estas "ranhuras" são as "linhas de Galliard", Galliard²⁰ não estava errado. Pois seria impossível a mesma estrutura apresentar-se em material sem tratamento especial, de maneira tão diferente. A não ser que de fato a ação de um outro agente que não o álcool, tenha desencadeado a formação dessas "ranhuras", quando então, Beament⁶ estará com a razão quanto à ação de um agente extrínseco. De qualquer forma esse é mais um campo aberto à investigação.

fig. 61

fig. 62

fig. 63

R. pallescens: Fig. 61 - Corte histológico do cório (370x). a) Área pigmentada em castanho; b) Área com pigmentação corada pelo carmin e grânulos refringentes. Fig. 62 - Representação esquemática da distribuição dos "grânulos e filamentos radiais". Fig. 63 - Representação esquemática da distribuição das "ranhuras".

3.2.7. *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977

Material examinado:

Utinga, Belém, Pará, Brasil. Ninfas coletadas em ninho de *Didelphis marsupialis* localizado em árvores. Doação de cascas de ovos de colônia procedente deste material por Dr. Italo Sherlock, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia. Sem colônia no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Amostra nº 177.

Aspecto geral do ovo:

Ovos totalmente de coloração castanho homogêneo, sem o brilho característico encontrado nas espécies com esta coloração, tem contorno levemente irregular e certo aspecto de "mal formado" (Fig. 64). Cascas mais translúcidas que em outros *Rhodnius* e aparentando ser formada por material mais mole que as outras espécies. Não tendo sido examinado material embrionado, desconhecemos a coloração do embrião.

Opérculo desconhecido por não dispormos de material para a descrição.

Possuem colarinho com expansões bastante acentuadas quase atingindo a borda corial e praticamente encobrimdo o colo, o qual é de dimensões aparentemente normais. Possuem acentuado achatamento lateral, entretanto não apresentam chanfradura longitudinal, e tem abertura opercular discretamente inclinada em relação a esse achatamento (Fig. 64).

Ovos alongados, tendo em média $1,612 \pm 0,007$ mm de comprimento por $0,752 \pm 0,002$ mm de diâmetro. Não sendo pos

R. paraensis:- Fig.64 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Fig.65 - Aspecto da superfície exocorial (225x). Fig.66 - Aspecto da superfície exocorial (750x). Fig.67 - Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

sível afirmar que é significativamente maior ou menor do que as outras espécies por não terem sido realizados testes de variância e contraste, pelo motivo de dispormos de apenas um único exemplar, do qual foram obtidas as medidas acima relacionadas.

Aspecto geral do exocôrio:

O exocôrio nesta espécie é caracterizado por certa irregularidade quase que constante em todos os caracteres estudados, além desta irregularidade tem um certo aspecto "sujo" que é mais acentuado quando observado em pequenos aumentos (Fig. 65), entretanto com aumentos maiores é possível estabelecer áreas com características padrões para o exocôrio. Assim os funis embora muito irregulares quanto ao tamanho são freqüentemente muito rasos e em cortes histológicos poderemos verificar que têm bordas acentuadamente arredondadas, quase planas e sempre com nítida proeminência biselada relativa à conformação das linhas limitantes (LL). (Fig. 68). Essa proeminência das LL dá aos funis em microscopia de varredura (MEV) um certo aspecto de profundidade, (Fig. 66) que não é real conforme vimos no desenho acima.

As LL são muito evidentes tanto em MEV quanto em MO, são proeminentes, largas, lisas, retilíneas e por transparência são muito refrigerantes.

As granulações são também evidentes tanto em MEV quanto em MO, são nesta espécie como em *R. pictipes*, muito características miúdas, de distribuição muito irregular, freqüentemente abundantes, aglutinadas cujos grumos formam desenhos "mapeiformes" (Fig. 67), entretanto poderão também apresentar-se com distribuição rarefeitas.

Os tubos foliculares são também muito irregulares quanto ao tamanho e quanto à forma, podendo apresentar-se por transparência, de comprimento curto, médio ou longo, e embora freqüentemente sejam muito grossos, os poderemos encontrar também muito finos, podendo apresentar ou não acentuada dilatação apical, sendo que nos casos mais extremos chegam a tomar aspecto de "cogumelos"; características essas que poderão ser confirmadas por corte histológico. (Figs. 68 e 69). Conseqüentemente os orifícios centrais da entrada dos tubos foliculares são também muito irregulares, alguns muito grandes e outros muito pequenos, não guardando uma associação direta ou inversa com a dimensão também irregular dos hexágonos e isso pode ser constatado tanto em MO quanto em MEV. (Fig. 65).

A largura total do cório é também acentuadamente irregular, caráter esse apenas observado nesta espécie (Fig. 69). Não foi observado no exocório mole como nas outras espécies de coloração castanha a presença de pigmentos nesta cor. O endocório mole é sempre largo, de largura igual ou superior à metade do cório, e o endocório rijo é formado como nas outras espécies por duas finas e estreitas membranas que se coram mais intensamente, neste caso, entretanto, nem sempre de fácil visualização (Fig. 68 e 69).

fig. 68

fig. 69

R. paraensis: Fig. 68 - Corte histológico do cório (370x). Fig. 69 - Corte histológico do cório (250x), mostrando a irregularidade frequentemente observada no comprimento, largura e distribuição dos tubos foliculares e funis, e da espessura do cório.

3.2.8. *R. pictipes* Stal, 1872

Material examinado:

Bairro do Coqueiro, Belém, Pará, Brasil. Uma fêmea coletada em domicílio em setembro de 1974. Leg. Dr. Habib Fraha Neto do Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará. Foi feita tentativa de colônia a partir de ovos férteis no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, tomando registro nº RCT 152, entretanto com resultados negativos. Amostra nº 19.

Jacundá, Pará, Brasil. Exemplares adultos coletados em entrecascas de folhas de palmeira babaçú, coletado por Noé Von-Atzingen em janeiro de 1978. Leg. Dr. Oswaldo Pinto Serra, do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo. Colônia no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 289, iniciada em junho de 1978 e atualmente em produção. Amostra nº 193.

Peñas de Taria, município de Veroes, Estado de Yaracum, Venezuela. Exemplares adultos coletados por Abel Hernandez em agosto de 1977. Cascas de ovos doadas pela Dra. Edelmira Mora Silveira do Instituto de Malariologia, Maracay, Aragua, Venezuela. Sem colônia no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Amostra nº 194.

Aspecto geral do ovo:

Ovos de coloração castanho-bronze, dependendo da incidência da luz tomam tonalidades douradas, de tom semelhante a *R. pallescens* mas ao contrário daquele, tem colora

R. pictipes:- Fig.70 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Fig.71 - Aspecto da borda corial da casca e do colo (150x). Fig.72 - Aspecto da superfície exocorial (1.125x). Fig.73 - Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

ção totalmente homogênea. Lent & Valderrama²⁷ (1977) os consideram de coloração cinzenta, provavelmente devido ao leve brilho metálico de que esses ovos são possuidores. Comparando as diferentes nuances de coloração dessa espécie, de *R.pallescens*, *R.paraensis* e *R.ecuadoriensis* e examinando-os sob lupa estereoscópica, poder-se-á constatar que se trata de castanho e não cinza. A borda corial e a região do colarinho dependendo da incidência de luz poderão tomar aparentemente coloração bronze um pouco mais intensa. Não foram observados ovos albinos em nenhuma das amostras estudadas.

Cascas como em *R.pallescens*, pouco translúcidas, embriões jovens de coloração amarelo-pálido e embriões maduros de cor de rosa forte, o que dá coloração aos ovos embrionados, respectivamente recentes de coloração castanho-bronze e maduros de coloração castanho-cobre.

Opérculo de mesma coloração do corpo, ou do ovo seja castanho-bronze, com bordas mais translúcidas e ligeiramente esbranquiçadas.

Tem borda corial da casca com desenhos hexagonais nitidamente delineados, ao contrário de todas as outras espécies estudadas que, ou não os possuem, ou os tem muito mal delineados (Fig.71).

Não possuem colarinho, tem colo acentuadamente estreito e longo, opérculo ligeiramente inclinado em relação ao achatamento, possuem achatamento lateral, e como *R.pallescens*, poderão apresentar chanfradura longitudinal, só que não o apresentam com a mesma frequência e a área dessa formação não é pigmentada como naquela espécie, o

que torna essa chanfradura menos evidente (Fig.70).

Ovos alongados, tendo em média $1,770 \pm 0,010$ mm de comprimento por $0,862 \pm 0,007$ mm de diâmetro. Não sendo possível afirmar que é significativamente maior ou menor do que as outras espécies por não terem sido realizados testes de variância e contraste, pelo motivo de dispormos na ocasião de apenas um único exemplar, do qual foram obtidas as medidas acima relacionadas. Lent & Valderrama²⁷ (1977) registram para esta espécie 1,650 mm de comprimento por 0,820 mm de diâmetro, embora não tenham citado o desvio padrão encontrado, essas medidas estão relativamente próximas de nossos dados.

Aspecto geral do exocório.

Possuem acentuada uniformidade de caracteres dentro de um mesmo espécimen e de uma mesma amostra. Por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por microscopia ótica (MO) em transparência plana de fragmentos de casca essa uniformidade se manteve constante, entretanto através de cortes histológicos corados foi possível estabelecer dois distintos grupos, um de material procedente do Pará, onde os funis são muito rasos, os tubos médios e o endocório largo, outro procedente da Venezuela com funis médios, tubos muito longos e endocório estreito. (Vide respectivamente Figs. 74 e 75).

O aspecto geral dos hexágonos é uniforme e "limpo", e como já vimos, os funis podem ser rasos ou médios; em ambos os casos entretanto têm bordas arredondadas e é nitidamente visível a proeminência relativa à formação das linhas limitantes (LL) (Figs. 74 e 75).

As linhas limitantes são muito evidentes em microscopia eletrônica de varredura, são proeminentes, largas, lisas e retilíneas (Figs. 72 e 73). Características essas que poderão ser confirmadas em microscopia ótica, onde além das citadas elas se mostram intensamente refringentes.

As granulações são nesta espécie, como em *R. paraensis*, muito características, de fácil visualização, tanto em microscopia eletrônica de varredura quanto em microscopia ótica, onde elas apresentam-se miúdas, abundantes, ausentes sobre as linhas limitantes, escasseamento progressivo no fundo dos funis e aglutinadas cujos grumos formam desenhos "mapeiformes" (Fig. 73).

Os tubos observados por transparência em visão plana são longos e finos, com dilatação apical e frequente aparecimento de uma acentuada curvatura em forma de "coto-velo". Em cortes histológicos não foi possível constatar essa formação, e como já citamos, eles podem apresentar-se médios (amostra 193) ou longos (amostra 194), finos, retos e frequentemente com pequena dilatação apical (Fig. 74 e 75).

Como em *R. pallescens* foi constatada nesta espécie, através de cortes histológicos, o aparecimento de pigmento castanho, formando faixa estreita e irregular na região basal do exocório mole (Figs. 74 e 75). Como naquela espécie provavelmente esse pigmento é o responsável pela coloração castanha da casca.

O endocório mole pode ser largo (amostra 193) ou estreito (amostra 194) e o endocório rijo pode ser visuali

zado como uma dupla membrana que se cora mais intensamente (Figs. 74 e 75).

Foi constatada também nesta espécie, em alguns poucos casos, a presença discreta de pequenos grânulos de coloração castanho escuro, muito semelhantes aos grânulos e filamentos radiais descritos para *R. pallescens*, não tendo sido entretanto observada nesta, a presença de filamentos radiais. E do mesmo modo que em *R. pallescens* apenas visualizado por transparência de fragmentos, não sendo possível sua confirmação nem por cortes histológicos nem por microscopia eletrônica de varredura.

fig. 74

fig. 75

R. pictipes: Fig. 74 - Corte histológico do cório (370x) da amostra 193, procedente do Pará, Brasil .
 Fig. 75 - Corte histológico do cório (370x) da amostra 194, procedente de Yaracun, Venezuela.

3.2.9. *R. prolixus* Stal, 1859^c

Material examinado:

Colômbia. Leg. Dr. Antonio D'Alessandro, Universi
dad de Valle Calli, Calli, Colômbia. Colônia do Departament
to de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Uni-
versidade de São Paulo, sob nº RCT 45, iniciada em outubro
de 1971 e atualmente em produção. Amostra nº 10.

Colômbia. (*R. prolixus* de olhos vermelhos). Leg. Dr.
Osorno Mesa, Instituto Nacional para Programas Especiales
de Salud (INPES), Bogotá, Colômbia. Colônia do Departament
to de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Uni-
versidade de São Paulo, sob nº RCT 98, iniciada em janeiro
de 1973 e atualmente em produção. Amostra nº 13.

Colômbia. Leg. Dr. Alberto Morales, Instituto Na-
cional de la Salud, Bogotá, Colômbia. Colônia do Departa-
mento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da U-
niversidade de São Paulo, sob nº RCT 200, iniciada em de-
zembro de 1976 e atualmente em produção. Amostra nº 147.

Colômbia. (*R. prolixus* de olhos vermelhos). Leg. Dr.
Alberto Morales, Instituto Nacional de La Salud, Bogotá ,
Colômbia. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Fa-
culdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob
nº RCT 201, iniciada em dezembro de 1976 e atualmente em
produção. Amostra nº 148.

Costa Rica. Leg. Dr. Rodrigo Zeledon, Universidad
de Costa Rica, EL Salvador, Costa Rica. Colônia do Departam
ento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da U-
niversidade de São Paulo, sob nº RCT 123, iniciada em agost
to de 1973 e atualmente em produção. Amostra nº 11.

Venezuela. Leg. Dr. José Torrealba, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 145, iniciada em julho de 1974 e atualmente em produção. Amostra nº 102.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados, com cascas pouco translúcidas e frequentemente em tom branco nêveo ou raramente amarelado-limão e discreto brilho sedoso. Quando recém-postos são de coloração rosa claro e à medida que se desenvolvem tornam-se avermelhados e com manchas oculares da ninfa evidentes; tendo sido encontrados entretanto, raros ovos embrionados maduros de coloração rosa-alaranjado. Essas observações estão mais ou menos de acordo com os dados de Galliard²⁰ (1935) e Beament⁶ (1946) para a coloração dos ovos e a transparência das cascas e com esses autores, Brumpt^{9,10} 1913,1927, Larrousse²⁵ (1927) e Uribe³⁶ (1927) para mudança de coloração durante a evolução do embrião.

Opérculo de coloração salmão claro, sempre em tom mais forte do que a casca, de qualquer maneira visivelmente de tonalidade mais clara que de *R. neglectus*, com mesmo brilho sedoso do corpo do ovo e bordas translúcidas e esbranquiçadas.

Não possuem colarinho conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), têm colo normal, frequentemente com discreto achatamento lateral, inclinação do opérculo pouco acentuada e não possuem chanfradura longitudinal (Fig.76).

Ovos alongados tendo em média $1,782 \pm 0,067$ mm

R. prolixus:- Fig.76 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Figs.77, 78 e 79 - Aspectos da superfície exocorial (750x). Fig. 80 - Presença de grânulos no vértice dos hexágonos (1.125x).Fig. 81 - Detalhe da superfície exocorial (2.250x).

de comprimento por $0,880 \pm 0,044$ mm de diâmetro. Significativamente maior em comprimento do que *R.neglectus*, *R.nasutus*, *R.robustus* e *R.domesticus*; e significativamente menor do que *R.pallesens*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Assim como é significativamente maior em diâmetro do que *R.nasutus* e significativamente menor do que *R.neivai*, *R.robustus* e *R.pallesens*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. As medidas encontradas no presente trabalho, estão mais ou menos concordantes com os dados de Galliard²⁰ (1935) e discordantes de Brumpt⁹ (1913), Uribe³⁶ (1927) e Beament⁶ (1946), conforme já foi citado e comentado no Capítulo 3.1.2.

Aspecto geral do exocório:

Galliard²⁰ (1935), Beament⁶ (1946) e Lucena & Rego²⁸ (1969) descrevem o exocório de *R.prolixus*, basicamente dentro de características genéricas, sendo referidas no Capítulo 3.1.3. quando tratamos destas características. Já Barth & Muth⁵ (1958) citando estas, chegam às características específicas, estabelecendo diferenças entre esta espécie e *R.neglectus*, respectivamente pela presença de áreas periféricas estreitas e áreas periféricas largas, conforme também mencionadas em capítulos anteriores quando tratamos das características gerais (3.1.3.) e das de *R.neglectus* (3.2.4.)

O exocório desta espécie apresenta certa constância de caracteres dentro ou entre distintas amostras, salvo algumas exceções citadas oportunamente. Frequentemente o aspecto geral do exocório em um mesmo espécimen é uniforme, possui funis profundos, regulares, com bordas sa-

lientes, o que lhe confere aspecto característico e já ci tado de "favos de colmeia", particularmente acentuado com pequenos aumentos. Através de cortes histológicos essas características são confirmadas e acentuadas pela conformação das bordas dos funis, que são ponteagudas, frequen["]temente culminadas por proeminência relativa ao traçado das linhas limitantes (LL) (Fig.82), caráter esse diferencial com *R.robustus*, espécie com a qual mantém estreita semelhança.

As linhas limitantes são evidentes em microscopia eletrônica de varredura (MEV) onde são proeminentes, largas, frequen["]temente rugosas e retilíneas (Figs.78 e 81), entretanto poderão apresentar-se aparentemente ausentes quando abundantes granulações as revestem (Fig.77). Por transparência esses aspectos poderão ser confirmados e em referência ao último tomam conformação de largas faixas irregulares, sem refringência e com certo aspecto "sujo", entretanto à medida que a focalização é dada mais profundamente, perdem esse caráter e são visualizadas como retilíneas, lisas e refringentes. Em corte histológico poderão ser visualizadas como proeminências acima da borda dos funis (Fig.82). Foi constatado através de microscopia eletrônica de varredura em raros exemplares, um tipo de linhas limitantes em forma de faixas largas, proeminentes e com configuração de "molduras" e encontrada também em *R.robustus* (Fig.79). Talvez essa estrutura esteja relacionada a algumas formações encontradas em microscopia ótica, onde essas linhas limitantes são de mesmo modo largas e como que formadas por pequenos fragmentos transversais, lembrando "bandas de cromossomos politênicos" e que são

mais evidentes na área pré- opércular.

As granulações são frequentemente graúdas , irregulares, abundantes, com distribuição mais acentuada na borda dos funis (Fig.81), diferindo portanto de *R.neglectus* onde são mais miúdas esféricas e com distribuição mais ou menos uniforme. Em microscopia ótica são evidentes , pouco translúcidas, ligeiramente escurecidas, e com leve tom esverdeado. Além dessas constatou-se com certa frequência a presença de um grânulo maior e proeminente nos vértices desses hexágonos (Fig.80) podendo ser confirmado por transparência e tomando o mesmo aspecto descrito para as granulações.

Os tubos são geralmente curtos, algumas vezes mesmo pouco perceptíveis, entretanto alcançando o endocório , têm largura irregular, são retilíneos ou encurvados e frequentemente com evidente dilatação apical (Fig.82).

Endocório mole de largura irregular, frequentemente um pouco menor do que a metade do cório e endocório ri- jo visível como uma dupla membrana corada mais intensamente (Fig.82).

Fig. 82 - Corte histológico do cório de *Rhodnius prolixus* (370x).

3.2.10: *R. robustus* Larrousse, 1927

Material examinado:

Lima, Peru. Leg. Dr. José Jurberg, Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 78, iniciada em de zembro de 1972 e atualmente em produção. Amostra nº 14.

Lima, Peru. Leg. Dr. Octavio E. Souza, Gorgas Memorial Laboratory, Canal Zone, Panamá. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 122, iniciada em agosto de 1973 e atualmente em produção. Amostra nº 15.

Madre de Dios, Peru. Leg. Dr. Rodrigo Zeledon, Universidade de Costa Rica, El Salvador, Costa Rica. Colônia do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob nº RCT 113, iniciada em agosto de 1973 e atualmente em produção. Amostra nº 16.

Aspecto geral do ovo:

Ovos esbranquiçados, com cascas pouco translúcidas, em tom branco níveo ou salmão claro e discreto brilho áu-reo. Quando recém-postos o embrião tem coloração rosa claro e à medida em que evolui toma coloração mais escura, chegando ao vermelho e com gradativo aparecimento de manchas oculares da ninfa.

Opérculo quanto à coloração muito semelhante ao de *R. proluxus* entretanto com discreto brilho áu-reo e como naquela espécie com bordas translúcidas e esbranquiçadas.

R. robustus:- Fig.83 - Aspecto geral do ovo (37,5x). Fig.84 - Aspecto da superfície exocorial (750x). Fig.85 - Detalhe da superfície exocorial (2.250x). Fig.86 - Linhas limitantes em forma de "moldura" (2.250x).

Não possuem colarinho, conforme já citado por Forattini & Barata¹⁷ (1974), têm colo aparentemente curto e largo, corpo discretamente achatado em uma das faces, têm inclinação do opérculo em relação ao achatamento, discreta ou mesmo ausente e não possuem chanfradura longitudinal (Fig. 83).

Ovo de aspecto atarracado, tendo em média $1,606 \pm 0,100$ mm de comprimento por $0,932 \pm 0,028$ mm de diâmetro. Significativamente menor em comprimento do que *R.pallescentis*, *R.prolixus* e *R.ecuadoriensis*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies. Assim como é significativamente maior em diâmetro do que *R.prolixus*, *R.neglectus*, *R.ecuadoriensis*, *R.domesticus* e *R.nasutus*; não apresentando diferenças significativas com as outras espécies.

Aspecto geral do exocório:

Apresentam certa constância de caracteres entre diferentes amostras estudadas e mais acentuada em um mesmo espécimen. O aspecto geral é uniforme, os funis são profundos, regulares, com bordas salientes e com o citado aspecto de "favos de colmeia". Entretanto poderá ser constatado através de cortes histológicos que frequentemente esses funis têm bordas arredondadas, não sendo aí delineada a proeminência relativa ao traçado das linhas limitantes (LL), caráter esse diferencial com *R.prolixus*, espécie com a qual mantém estreitas semelhanças (Fig.87).

As linhas limitantes são evidentes tanto em microscopia ótica (MO) quanto em microscopia de varredura (MEV). Nesta elas apresentam-se proeminentes, largas, retilíneas e frequentemente de aspecto rugoso ou raramente liso quando

respectivamente estiverem ou não recobertas por granulações (Figs. 84 e 85); em microscopia ótica além desses aspectos elas apresentam-se acentuadamente refringentes. Em alguns casos, na região periopercular, ficou constatado através de microscopia eletrônica de varredura a presença de linhas limitantes com aspecto de "molduras", bem como através de microscopia ótica o aspecto de "bandas de cromossomos politénicos", tal como foi citado para *R. prolixus* (Fig. 86).

As granulações são facilmente evidenciáveis tanto em microscopia eletrônica de varredura quanto em microscopia ótica; frequentemente são graúdas, irregulares, abundantes, mais concentradas na zona periférica dos funis, podendo estar revestindo as linhas limitantes o que lhes dará certo aspecto rugoso e com escasseamento e/ou diminuição progressiva na zona central (Fig. 84 e 85).

Os tubos quando observados por transparência dos fragmentos planos são aparentemente médios ou longos, entretanto quando examinados em cortes histológicos são acentuadamente longos e finos, em ambos os casos poderão apresentar-se com inclinação e dilatação apical muito discretas (Fig. 87). Essa seria outra característica diferencial com *R. prolixus*, pois naquela espécie frequentemente os tubos são curtos e com dilatação apical mais acentuada.

Endocório mole por observação através de cortes histológicos é razoavelmente estreito, ou seja, tem cerca de um terço ou menos, da largura do cório. E o endocório rijo é visível como dupla membrana que se cora mais intensamente.

Embora não tenhamos nos proposto a estabelecer medidas de largura do cório (exocório + endocório), é evidente

e interessante frisar, que esta espécie apresenta largura de pelo menos uma vez e meia à encontrada nas outras espécies.

Fig. 87 - Corte histológico do coração de *Rhodnius robustus* (370x).

3.3. Chave para classificação de ovos (cascas e opérculos)
de 10 espécies do Gênero *Rhodnius* baseada em caracte-
rísticas das cascas e para utilização em microscopia ô
tica.

- 1 - Ovos com cascas de tonalidade branca ou esbran-
quiçada..... 2
 - Ovos com cascas de tonalidade castanha..... 8
- 2 - Ovos com colarinho (Fig. 2b)..... 3
 - Ovos sem colarinho (Fig. 2a)..... 5
- 3 - Opérculo de coloração castanho escuro . Linhas
limitantes (LL) lisas, estreitas, retilíneas e
pouco refringentes..... 4
 - Opérculo de coloração castanho pálido . Linhas
limitantes pouco evidentes, rugosas , largas ,
irregulares e sem refringência . Granulações
graúdas, abundantes e revestindo uniformemente
o tegumento, inclusive as linhas limitantes.....
.....neivai
- 4 - Funis muito rasos, em corte histológico tem bor-
das arredondadas, sem nenhuma evidência de de-
marcação das linhas limitantes (Fig.42). Estas
são debilmente evidenciáveis e não salientes .
Granulações irregulares com predomínio de graú-
das e distribuição também irregular sobre o te-
gumento.....nasutus
 - Funis em corte histológico com bordas levemente
ponteagudas, com fraca evidência de demarcação
das linhas limitantes (Fig.47). As linhas limi-

tantes são frequ^{ntemente} evidenciáveis, lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes. Granulações miúdas com distribuição uniforme sobre o tegumento.....*neglectus*

- 5 - Funis profundos, com aspecto característico de "favos de colmeia". As linhas limitantes são re^{fringentes} e de fácil visualização. Granulações de fácil observação, frequ^{ntemente} graúdas, abundantes e mais concentradas na área das linhas limitantes..... 6
- Funis rasos, sem o aspecto nítido de "favos de colmeia". As linhas limitantes são pouco refrin^{gentes} e consequentemente não são de fácil visualização. Granulações de difícil observação, miúdas ou irregulares. Ovos alongados e colo aparentemente estreito..... 7
- 6 - Funis com bordas ponteagudas e culminadas por proeminência do traçado das linhas limitantes. Tubos foliculares frequ^{ntemente} curtos, com lar^{gura} irregular, retilíneos ou encurvados e com dilatação apical (Fig.82). Ovos alongados e com colo aparentemente normal (Fig.76).....*prolixus*
- Funis com bordas arredondadas e lisas, isto é, sem proeminência do traçado das linhas limitantes. Tubos foliculares longos e finos, com discretas encurvaturas e dilatação apical (Fig.87). Ovos atarracados e com colo aparentemente largo (Fig. 83).....*robustus*

- 7 - Bordas dos funis, em corte histológico, arredondadas, culminadas por pequenas proeminências bizeladas relativas aos traçados das linhas limitantes (Fig.32). Granulações irregulares e com distribuição também irregular. Tubos foliculares em corte, longos e com acentuada dilatação apical (Fig.32).....*domesticus*
- Bordas dos funis, em corte histológico, arredondadas, culminadas por largas proeminências abauladas relativas ao traçado das linhas limitantes (Fig.37). Granulações miúdas, esparsas e frequentemente mais concentradas na área das linhas limitantes. Tubos foliculares em corte, curtos, largos e com discreta dilatação apical (Fig.37).....*ecuadoriensis*
(ovos "albinos")
- 8 - Ovos apresentando cascas com áreas do opérculo, colarinho e/ou da chanfradura longitudinal mais fortemente pigmentadas..... 9
- Ovos apresentando cascas com coloração homogênea nestas áreas.....10
- 9 - Ovos de coloração castanho-pálido e leve brilho dourado. Ausência de colarinho e de chanfradura longitudinal. Opérculo e anel situado na área do colarinho com pigmentação em castanho mais escuro.....*ecuadoriensis*
- Ovos de coloração castanho bronzeado. Presença de colarinho embora com expansões discretas (Fig. 4). Opérculo, colarinho e chanfradura longitudinal com pigmentação castanho escuro.....*pallens*

- 10 - Ovos com colarinho..... 11
- Ovos sem colarinho, coloração castanho bronze com leve brilho áureo e colo estreito. Exócório com aspecto uniforme e limpo mesmo quando observado através de lupa estereoscópica. Linhas limitantes de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....*pictipes*
- 11 - Ovos com coloração castanho muito pálido e discreto brilho bronzeado. Colarinho com expansões discretas. Ovos alongados e de conformação bem definida. Exócório com aspecto uniforme e "limpo", mesmo quando observado através de lupa estereoscópica. Linhas limitantes de difícil visualização, quando visíveis são estreitas, lisas, retilíneas e sem refringência..... *pallenscens* (ovos "albinos")
- Ovos com coloração castanho mais forte e sem brilho. Colarinho com expansões acentuadas, praticamente encobrindo o colo. Ovos atarracados e de conformação mal definida. Exócório com aspecto irregular e "sujo" (Fig.65), mesmo quando observado através de lupa esteresocópica. Linhas limitantes de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....*paraensis*

3.4. Chave para classificação de ovos (cascas) de 10 espécies do Gênero *Rhodnius* baseada em características exocoriais e para utilização em microscopia eletrônica de varredura.

- 1 - Ovos com colarinho (Fig. 2b)..... 2
 - Ovos sem colarinho (Fig. 2a)..... 6
- 2 - Ausência de chanfradura longitudinal. Colarinho com expansões evidentes (Figs.2b, 38 e 48)..... 3
 - Presença de chanfradura longitudinal (Figs.4 e 53). Colarinho com expansões discretas (Figs. 4 e 52). Linhas limitantes ausentes (Fig.54) ou com traçado delineado por ausência de granulações (Fig.55). Granulações miúdas, com distribuição abundante e uniforme (Fig.54) ou escassa e irregular (Fig.55 e 56). Presença frequente de esferas situadas no fundo dos funis (Figs.54 e 59).....*pallescens*
- 3 - Granulações com distribuição regular ou irregular, porém quando aglutinadas não formando desenhos "mapeiformes"(Figs.41, 44 e 50)..... 4
 - Granulações com distribuição muito característica, aglutinadas formando desenhos "mapeiformes" (Figs. 66 e 67). Linhas limitantes muito evidentes, proeminentes, largas, lisas e retilíneas (Figs. 66 e 67).....*paraensis*

- 4 - Funis mais ou menos profundos, com aspecto característico de "favos de colmeia"..... 5
- Funis rasos, sem o aspecto característico de "favos de colmeia" (Figs. 39 e 40). Linhas limitantes ausentes (Fig. 39), com traçado delineado pela concentração de granulações (Fig.41) ou pela ausência dessas formações (Fig.40). Granulações de tamanho e distribuição irregular, freqüentemente formando grumos (Figs. 39 a 41).....*nasutus*
- 5 - Linhas limitantes presentes ou ausentes (Figs. 44 e 45). Quando presentes são fracamente salientes, estreitas, levemente rugosas, retilíneas, evidenciáveis pela ausência de granulações (Fig.46). Granulações miúdas, abundantes, esféricas, com distribuição uniforme (Figs. 44, 45 e 46).....*neglectus*
- Linhas limitantes pouco evidenciáveis, delineadas pela concentração de granulações (Figs. 49 e 50). Granulações graúdas, abundantes, com distribuição uniforme, entretanto mais escassas no fundo dos funis e freqüentemente podendo formar pequenos grumos, particularmente sobre as linhas limitantes (Figs. 49 e 50).....*neivai*
- 6 - Granulações com distribuição regular ou irregular, porém quando aglutinadas não formando desenhos "mapeiformes" (Figs. 36 e 81)..... 7
- Granulações com distribuição muito característica, aglutinadas formando desenhos "mapeiformes" (Figs. 72 e 73). Linhas limitantes muito evidentes, proeminentes, largas, lisas e retilíneas (Figs. 72 e 73).....*pictipes*

- 7 - Linhas limitantes com delimitação pouco ou muito evidentes (Figs. 30 e 84)..... 8
- Linhas limitantes sem delimitação evidente, com área suavemente proeminente e aparentemente largas, retilíneas e levemente rugosas (Figs. 34, 35 e 36). Granulações miúdas, esparsas, raramente aglutinadas e freqüentemente mais distribuídas em torno das linhas limitantes (Figs. 35 e 36).....*ecuadoriensis*
- 8 - Granulações graúdas, irregulares, abundantes, com maior concentração em torno das linhas limitantes (Figs. 81 e 85). Linhas limitantes evidentes, proeminentes, largas, freqüentemente rugosas e retilíneas (Figs. 78, 81 e 84).....*prolixus robustus*
- Granulações irregulares quanto a tamanho, forma e distribuição, freqüentemente esparsas, podendo estar ou não recobrando as linhas limitantes, sem entretanto lhes conferir aspecto rugoso (Figs. 30 e 31). Linhas limitantes pouco evidentes, embora proeminentes, estreitas, lisas e retilíneas (Figs. 30 e 31).....*domesticus*

4. CONCLUSÕES.

1 - É estabelecido o diagnóstico diferencial através da utilização da escultura exocorial e dos aspectos macroscópicos dos ovos de dez espécies do gênero *Rhodnius* (Hemiptera - Triatominae): *R.domesticus* Neiva & Pinto, 1923; *R.ecuadoriensis* Lent & León, 1958; *R.nasutus* Stal, 1859; *R.neglectus* Lent, 1954; *R.neivai* Lent, 1953; *R.pallescens* Barber, 1932; *R.paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977; *R.pictipes* Stal, 1872; *R.prolixus* Stal, 1859; e *R.robustus* Larrousse, 1927. São determinadas as características genéricas e específicas das esculturas exocoriais, bem como dos aspectos dos ovos e das cascas, quanto à coloração, forma e mensuração, e às variações ocorrentes durante o desenvolvimento embrionário pós-oviposição quanto à forma e coloração. São apresentadas duas chaves para classificação desses ovos, uma para utilização em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e outra para microscopia ótica (MO). Para diagnóstico dessas espécies é utilizada informação dada pela MEV, e tais dados representam importante potencial para a pesquisa, particularmente no que se refere ao estudo de aspectos filogenéticos. Entretanto é possível o emprego de tais informações também nas atividades dos serviços de identificação de barbeiros, uma vez que os diagnósticos foram feitos concomitantemente por aquele equipamento e pela MO, e para isso é apresentado também uma chave de classificação baseada apenas nestes aspectos.

2 - Destas espécies apenas duas, *R.prolixus* e *R.neglectus* possuíam dados anteriores referente ao estudo da escultura exocorial e para os aspectos macroscópicos dos ovos, com exceção de *R.prolixus* são raros os dados para outras espécies. Mostra-se no presente trabalho que características anteriormente usadas como gerais para *Rhodnius*, não

passam de características específicas de uma ou de um pequeno grupo de espécies. Da mesma forma outras tidas como específicas são simplesmente genéricas, ou seja, comuns a todas ou a algumas espécies.

3 - Pela análise das presentes características concluiu-se que todas as espécies estudadas são entidades taxionômicas válidas, inclusive *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977, de descrição recente e sem registro de novo encontro até o momento.

4 - Não foram encontrados dados suficientes para o estabelecimento de raças entre as espécies estudadas, pois as variações encontradas entre as diferentes procedências, permaneceram constantes também dentro de uma mesma amostra, e as que não o foram, pelas razões expostas no texto, não nos permitiram inferir tal presença.

5 - O estudo dessas formações mostra que existe acentuada diferença entre *R. prolixus* e *R. neglectus* e que essas características poderão ser utilizadas como importante elemento de diferenciação específica, uma vez que essas espécies são morfologicamente muito semelhantes em suas fases ninfais e de adultos. Por outro lado algumas espécies apresentaram semelhanças acentuadas nas características exocoriais e macroscópicas dos ovos, tal é o caso de *R. neglectus* com *R. nasutus* e de *R. prolixus* com *R. robustus*.

6 - Alguns aspectos relacionados aos ovos e ao cório surgiram com o desenvolvimento do presente estudo e, por fugirem ao escopo geral, são abordados não mais do que superficialmente, muito embora não tenhamos deixado de ressaltar a importância de futuras investigações nestes campos :

a) a fixação ao substrato como importante característica ecológica relacionada ao hábito, primitivo ou atual, dessas espécies serem habitantes de ninhos de aves; b) a inclinação do eixo transversal do opérculo em relação ao plano sagital do ovo, como fator de sobrevivência a um maior número de ninfas; c) o papel da escultura exocorial na fixação ao substrato e na respiração do embrião; d) o papel do complexo micropilar na fecundação do ovo e na respiração do embrião; e) a presença sem prévio tratamento de certas estruturas no cório de *R. pallens* e *R. pictipes* como "pontos e linhas de irradiação", "ranhuras", "esferas", etc, o que certamente transforma essas espécies em excelente matéria prima para esse tipo de investigação.

7 - Ressalta-se a necessidade dos serviços de controle encarregados da Profilaxia da Doença de Chagas, darem maior importância a um registro adequado de ovos e/ou cascas de ovos encontrados no domicílio ou no peridomicílio, particularmente nas áreas em vigilância. Diante disso sugerimos: a) que seja discutido e reformulado o conceito de "casas com vestígios" - aquelas que atualmente, durante o serviço de captura, são encontrados ovos ou exúrias de barbeiros, e não mais que anotado o número conjunto desse encontro; b) que no registro de coleta de "Triatomíneos" sejam incluídos espaços para anotações sobre ovos ou cascas de ovos quanto a identificação específica, número de exemplares capturados e tipo de ecótopo, tal como é feito para o registro de ninfas e adultos; c) que o pessoal de campo e laboratório sejam readestrados nesta técnica.

8 - Finalmente este trabalho abre perspectivas para novos estudos, não só no campo da sistemática - quando outros grupos deverão ser investigados, mas também em outros campos da biologia e ecologia, cujas informações poderão vir auxiliar a Saúde Pública no controle da tripanossomíase americana.

5. REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS.

1. ABALOS, J.W. & WYGODZINSKY, P. - Las Triatominae argentinas. Tucuman. Universidad Nacional de Tucuman, Instituto Medicina Regional. (Publicacion, 601).
2. ALMEIDA de, F.B.; SANTOS, E.I. & SPOSINA, G. - Triatomíneos da Amazônia III. Acta amazon., 3:43-46, 1973.
3. BARBIER, R. & CHAUVIN, G. - Ultrastructure et rôle des aéropyles et des enveloppes de l'oeuf de *Galleria mellonella*. J. Insect Physiol., 20:809-820, 1974.
4. BARRETTO, M.P.; SIQUEIRA, A.F.; FERRIOLLI Filho, F. & CARVALHEIRO, J.R. - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Tripanosoma cruzi*. XXIII - Observações sobre criadouros do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em biótopos artificiais (Hemiptera, Reduviidae). Rev. Inst. Med. trop. S.Paulo, 10:163-170, 1968.
5. BARTH, R. & MUTH, H. - Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). VIII - Observações sobre a superfície dos ovos das espécies mais importantes. Mem. Inst. Osw. Cruz, 56:197-208, 1958.
6. BEAMENT, J.W.L. - The formation and structure of the chorion of the egg in an hemipteran, *Rhodnius prolixus*. Quart. J. micr. Sci., 87:393-439, 1946.
7. BEAMENT, J.W.L. - The formation and structure of the micropylar complex in the egg-shell of *Rhodnius prolixus* Stal (Heteroptera, Reduviidae). J. exp. Biol., 23:213-233, 1947.

8. BEAMENT, J.W.L. - The penetration of insect egg-shells,
I: Penetration of the chorion of *Rhodnius prolixus*
Stal. Bull. ent. Res., 39:359-383, 1949.
9. BRUMPT, E. - Précis de parasitologie. 2ème ed. Paris,
Masson, 1913.
10. BRUMPT, E. - Précis de parasitologie. 4ème ed. Paris,
Masson, 1927.
11. BRUMPT, E. - Précis de parasitologie. 6ème ed. Paris,
Masson, 1949. v.2.
12. CARCAVALLO, R. & BARRETO, P. - Una nueva especie de *Rhod-*
nus Stal (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) de Co-
lombia. Bol. Direcc. Malar. Saneam. Amb., 16:176-183,
1976.
13. CARVALHEIRO, J.R. & BARRETTO, M.P. - Estudos sobre reser-
vatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*.
LX - Tentativas de cruzamento de *Rhodnius prolixus*
Stal, 1859 com *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemipte-
ra, Reduviidae). Rev. Inst. Med. trop. S.Paulo, 18:
17-23, 1976.
14. COBBEN, R.H. - Evolutionary trends in Heteroptera.
Part.I - Eggs, architecture of the shell, gross
embriology and eclosion. Wageningen, Centre for
Agricultural Publishing and Documentation, 1968.
15. CORRÊA, R.R. & SPINOLA, H.N. - Descrição de *Triatoma*
pseudomaculata, nova espécie de triatômíneo de Sobral,
Ceará (Hemiptera, Reduviidae). Arg. Hig., S.Paulo,
29:115-127, 1964.

16. DIXON, W.J. & MASSEY, F.J. - Introduction to statistical analysis. 2nd. ed., New York, Mc Graw-Hill, 1957.
17. FORATTINI, O.P. & BARATA, J.M.S. - Nota sobre a diferenciação de ovos de *Rhodnius neglectus* e *R. prolixus*. Rev. Saúde públ., S.Paulo, 8:447-50, 1974.
18. FORATTINI, O.P.; ROCHA E SILVA, E.O.; FERREIRA, O.A.; RABELLO, E.X. & PATTOLI, D.G.B. - Aspectos ecológicos da tripanossomose americana. III - Dispersão local de triatomíneos, com especial referência ao *Triatoma sordida*. Rev. Saúde públ., S.Paulo, 5:193-205, 1971.
19. FORATTINI, O.P.; FERREIRA, O.A.; ROCHA E SILVA, E.O. & RABELLO, E.X. - Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. XIV - Persistência e potencial de domiciliação de populações triatomínicas silvestres em região de intensa atividade agropecuária. Rev. Saúde públ., S.Paulo, 13, 1979 (em publicação).
20. GALLIARD, R. - Recherches sur les réduvidés hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. IV - Organes génitaux femelles. Ann. Parasit. hum. comp., 13: 497-527, 1935.
21. HERRER, A.; LENT, H. & WYGODZINSKY, P. - Contribución al conocimiento del genero *Belminus* Stal, 1859, (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera). An. Inst. Med. region., Tucuman, 4:85-106, 1954.
22. HINTON, H.E. - The structure and function of the egg-shell in the *Nepidae* (Hemiptera). J. Insect Physiol., 7: 224-257, 1961.

23. HINTON, H.E. - Respiratory systems of insect egg-shells. Sci. Progr., London, 100:96-113, 1962.
24. JOHNSON, N.L. & LEONE, F.C. - Statistics and experimental design. New York, John Wiley, 1967. v.2.
25. LARROUSSE, F. - Etude biologique et systématique du genre *Rhodnius* Stal, (Hémiptères, Reduviidae). Ann. Parasitol. hum. comp., 5:63-88, 1927.
26. LENT, H. & JURBERG, J. - O gênero *Rhodnius* Stal, 1859, com um estudo sobre a genitália das espécies (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Rev. bras. Biol., 29:487-560, 1969.
27. LENT, H. & VALDERRAMA, A. - Observações em laboratório sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859; *R. pictipes* Stal, 1872 e *R. neivai* Lent, 1953. Rev. bras. Biol., 37:325-344, 1977.
28. LUCENA, T.D. & REGO, A.M. - Microestrutura do exôcorio de ovos de triatomíneos do nordeste do Brasil. Rev. Inst. Med. trop. S.Paulo, 11:87-93, 1969.
29. PICK, F. - Sur le mode de deposition des oeufs par *Triatoma megista* et par *Rhodnius prolixus*. Ann. Parasitol. hum. comp., 37:338-347, 1962.
30. SCHEFFÉ, H. - A method for judging all contrasts in the analysis of variance. Biometrika, 40:87-104, 1953.
31. SHERLOCK, I.A. ; GUITTON, N. & MILES, M. - *Rhodnius paraensis* espécie nova do Estado do Pará, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Acta amazon., 7:71-74, 1977.

32. SIEGEL, S. - Estatística não paramétrica. São Paulo, Mc Graw-Hill do Brasil, 1975.
33. SOUTHWOOD, T.R.E. - The structure of the eggs of the terrestrial heteroptera and its relationship to the classification of the group. Trans. roy. ent. Soc. London, 108:163-221, 1956.
34. TAVARES, O. - Nota sobre a presença de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, no Estado de São Paulo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Rev. Soc. bras. Med. trop., 5:321-2, 1971.
35. TUFT, P.H. - The structure of the insect egg-shell in relation to the respiration of the embryo. J. exp. Biol., 26:327-334, 1950.
36. URIBE, C. - On the biology and life history of *Rhodnius prolixus* Stal. J. Parasit., 13:129-136, 1927.
37. WIGGLESWORTH, V.B. - The principles of insect physiology. 7th. ed., London, Chapman and Hall, 1974.
38. WIGGLESWORTH, V.B. & BEAMENT, J.W.L. - The respiratory mechanisms of some insect eggs. Quart. J. micr. Sci., 91:429-452, 1950.

6. ANEXOS.

ANEXO III

Comparação de procedências pelos contrastes de Scheffé para *R.prolixus* e *R.robustus*.

R.prolixus - Valor crítico do contraste: 0,1471

Procedências comparadas			Contrastes observados
147	e	(9) ou (11)	0,0270
		148	0,0500
		192	0,0630
		102	0,1260
		12	0,1380
		10	0,1560*
(9) ou (11)	e	148	0,0230
		192	0,0360
		102	0,0990
		12	0,1110
		10	0,1290
148	e	192	0,0130
		102	0,0760
		12	0,0880
		10	0,1060
192	e	102	0,0630
		12	0,0750
		10	0,0930
102	e	12	0,0120
		10	0,0300
12	e	10	0,0180

R.robustus - Valor crítico do contraste: 0,0953

Procedências comparadas			Contrastes observados
16	e	14	0,0800
16	e	15	0,1780*
14	e	15	0,0980*

* Significante ao nível de 5%.

ANEXO IV

Comparação do diâmetro dos ovos das espécies pelos contrastes de Scheffé.

Espécies comparadas			Contraste observado	Valor crítico do contraste
R. neival	e	R. robustus	0,0470	0,0688
		R. pallescens	0,0510	0,0730
		"híbrido"	0,0840	0,0843
		R. prolixus	0,0990*	0,0632
		R. neglectus	0,1040*	0,0625
		R. ecuadoriensis	0,1140*	0,0730
		R. domesticus	0,1290*	0,0843
		R. nasutus	0,1510*	0,0730
R. robustus	e	R. pallescens	0,0040	0,0544
		"híbrido"	0,0370	0,0688
		R. prolixus	0,0520*	0,0404
		R. neglectus	0,0570*	0,0393
		R. ecuadoriensis	0,0670*	0,0544
		R. domesticus	0,0820*	0,0688
		R. nasutus	0,1040*	0,0544
R. pallescens	e	"híbrido"	0,0330	0,0730
		R. prolixus	0,0480*	0,0471
		R. neglectus	0,0530*	0,0462
		R. ecuadoriensis	0,0630*	0,0596
		R. domesticus	0,0780*	0,0730
		R. nasutus	0,1000*	0,0596
"híbrido"	e	R. prolixus	0,0150	0,0632
		R. neglectus	0,0200	0,0625
		R. ecuadoriensis	0,0300	0,0730
		R. domesticus	0,0450	0,0843
		R. nasutus	0,0670	0,0730
R. prolixus	e	R. neglectus	0,0050	0,0283
		R. ecuadoriensis	0,0150	0,0471
		R. domesticus	0,0300	0,0632
		R. nasutus	0,0520*	0,0471
R. neglectus	e	R. ecuadoriensis	0,0100	0,0462
		R. domesticus	0,0250	0,0625
		R. nasutus	0,0470*	0,0462
R. ecuadoriensis	e	R. domesticus	0,0150	0,0730
		R. nasutus	0,0370	0,0596
R. domesticus	e	R. nasutus	0,0220	0,0730

* Significante ao nível de 5%.

ANEXO V

Comparação do comprimento dos ovos das espécies pelos contrastes de Scheffé.

Espécies comparadas		Contraste observado	Valor crítico do contraste
<i>R. pallescens</i>	e <i>R. prolixus</i>	0,1990*	0,0805
	<i>R. ecuadoriensis</i>	0,2150*	0,1094
	<i>R. neivai</i>	0,2760*	0,1339
	"híbrido"	0,2860*	0,1339
	<i>R. neglectus</i>	0,3080*	0,0847
	<i>R. nasutus</i>	0,3180*	0,1094
	<i>R. robustus</i>	0,3750*	0,0998
	<i>R. domesticus</i>	0,4250*	0,1339
<i>R. prolixus</i>	e <i>R. ecuadoriensis</i>	0,0160	0,0865
	<i>R. neivai</i>	0,0770	0,1160
	"híbrido"	0,0870	0,1160
	<i>R. neglectus</i>	0,1090*	0,0519
	<i>R. nasutus</i>	0,1190*	0,0865
	<i>R. robustus</i>	0,1760*	0,0740
	<i>R. domesticus</i>	0,2260*	0,1160
<i>R. ecuadoriensis</i>	e <i>R. neivai</i>	0,0610	0,1339
	"híbrido"	0,0710	0,1339
	<i>R. neglectus</i>	0,0930*	0,0847
	<i>R. nasutus</i>	0,1030*	0,1094
	<i>R. robustus</i>	0,1600*	0,0998
	<i>R. domesticus</i>	0,2100*	0,1339
<i>R. neivai</i>	e "híbrido"	0,0100	0,1547
	<i>R. neglectus</i>	0,0320	0,1147
	<i>R. nasutus</i>	0,0420	0,1339
	<i>R. robustus</i>	0,0990	0,1263
	<i>R. domesticus</i>	0,1490	0,1547
"híbrido"	e <i>R. neglectus</i>	0,0220	0,1147
	<i>R. nasutus</i>	0,0320	0,1339
	<i>R. robustus</i>	0,0890	0,1263
	<i>R. domesticus</i>	0,1390	0,1547
<i>R. neglectus</i>	e <i>R. nasutus</i>	0,0100	0,0847
	<i>R. robustus</i>	0,0670	0,0720
	<i>R. domesticus</i>	0,1170*	0,1147
<i>R. nasutus</i>	e <i>R. robustus</i>	0,0570	0,0998
	<i>R. domesticus</i>	0,1070	0,1339
<i>R. robustus</i>	e <i>R. domesticus</i>	0,0500	0,1263

* Significante ao nível de 5%.