

Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae).

VIII parte: Observações sôbre a superfície dos ovos das espécies mais importantes .(*)

Rudolf Barth e Hans Muth

Em continuação aos estudos sôbre os Triatomíneos, publicados nas sete comunicações anteriores, passamos a apresentar, neste trabalho, alguns resultados das observações feitas na superfície dos ovos de várias espécies que são de interêsse médico como transmissores da doença de Chagas. As estruturas superficiais dos ovos são tão significantes para cada espécie, que podem ser usadas como um dos meios para classificação. A caracterização do relêvo, que segue a baixo, serve, com absoluta certeza, para distinguir as espécies e, mesmo, constatar a presença de uma espécie, caso em que forem encontrados sômente ovos ou mesmo apenas cascas de ovos num certo habitat. Além disto, resultam do estudo da formação do cório, ainda algumas observações de interêsse histológico.

Southwood (1956, com indicação da bibliografia mais recente sôbre os ovos de Heterópteros) descreveu os ovos de um grande número de espécies de Heteroptera terrestres, indicando — a respeito aos Triatomíneos — sômente os trabalhos de Beament (1946 — 1949), de Tuft (1950) e de Abalos e Wygodzinsky (1951). Nesta última publicação (pags. 41 e 42), os autores apresentam uma chave para a classificação dos ovos de 11 espécies argentinos, dos quais três (*P. megistus*, *Triatoma infestans* e *Tr. sordida*) também ocorrem no Brasil e foram incluídas em nosso estudo.

Tivemos, à disposição, ovos de sete espécies que, do ponto de vista médico-sanitário, representam as mais importantes do Brasil. Trata-se dos seguintes Triatomíneos: *Panstrongylus megistus* (Burm., 1835), *Triatoma infestans* (Klug, 1834); *Tr. sordida* (Stal, 1859); *Tr. brasiliensis* Neiva, 1911; *Tr. vitticeps* Stal, 1859; *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 e

(*) Trabalho realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Recebido para publicação 23-10-57.

Rh. neglectus Lent, 1953. Não queremos deixar de agradecer aos dois colegas Dr. Hermann Lent, do Instituto Oswaldo Cruz, e Dr. Rostan Rohan Soares, do Departamento Nacional de Endemias Rurais, pela gentileza de fornecer-nos material das suas criações de Triatomíneos.

Técnicas usadas: Para incluir a casca do ovo em parafina, colocamos o material em vermelho de congo (em álcool a 96%), passando-o, depois de 10 minutos, para terpinol. Após 30 minutos substituímos êste por benzol, deixando as cascas neste líquido durante 1 hora, mudando-o duas vêzes. É aconselhável usar parafina com látex ou cêra de abelha, pois a parafina pura não adere suficientemente ao cório. Para infiltração com esta parafina basta uma hora (60.º). Os cortes de 2 μ foram feitos com o micrótomo de precisão do tipo Jung-Heidelberg. Para as observações diretas da superfície usamos, além da lupa estereoscópica, o microscópio de luz incidente (sistema Ultropak-Leitz) que possui um dispositivo para uso de luz polarizada. No exame da superfície em luz transparente, obtivemos bons resultados com o aparelho de contraste de fases que aumenta, consideravelmente, o contraste das estruturas. Na prática, para classificar a espécie do ovo, é suficiente uma lupa estereoscópica com aumento de aproximadamente, cem vêzes, sendo aconselhável neste caso, trabalhar com luz incidente rasa a fim de aumentar as sombras do relêvo.

A. Formação do cório.

O epitélio folicular do óvulo é um tecido glandular que, durante o crescimento da célula germinativa, exerce uma função alimentar e, no fim desta fase, passa a produzir uma substância semelhante à quitina e que representa o cório.

A função alimentar do epitélio folicular é reduzida e, provavelmente, restringe-se ao transporte de água com pouca substância orgânica. A nutrição do óvulo se verifica pela extensão alimentar (fig. 7, PA) que liga o óvulo à massa nutritiva, situada no interior do germário (GE).

A função principal do epitélio folicular é a formação do cório. No fim da fase do crescimento do óvulo, as células epiteliais começam a crescer, tanto a respeito do volume do seu protoplasma, quanto a dos núcleos (compare os epitélios nas figuras 1 e 2). Em vez de transportar líquidos da hemolinfa para o interior do óvulo, as células começam a produzir, ativamente, substâncias quitinosas, que encontramos em forma de grânulos de presecção (fig. 3, PS) na parte basal e, em forma de vacúolos (VA), na zona apical. Êstes líquidos, contidos nos vacúolos, passam pela face apical da célula, solidificando-se e originando as lamelas do cório. Esta substância apresenta as mesmas reações conhecidas na quitina da cutícula de revestimento ectodérmico do corpo. O cório mesmo contém ainda outras substâncias como proteínas, pigmentos e lipóides, pois pelo tratamento com clorofórmio e dióxido de

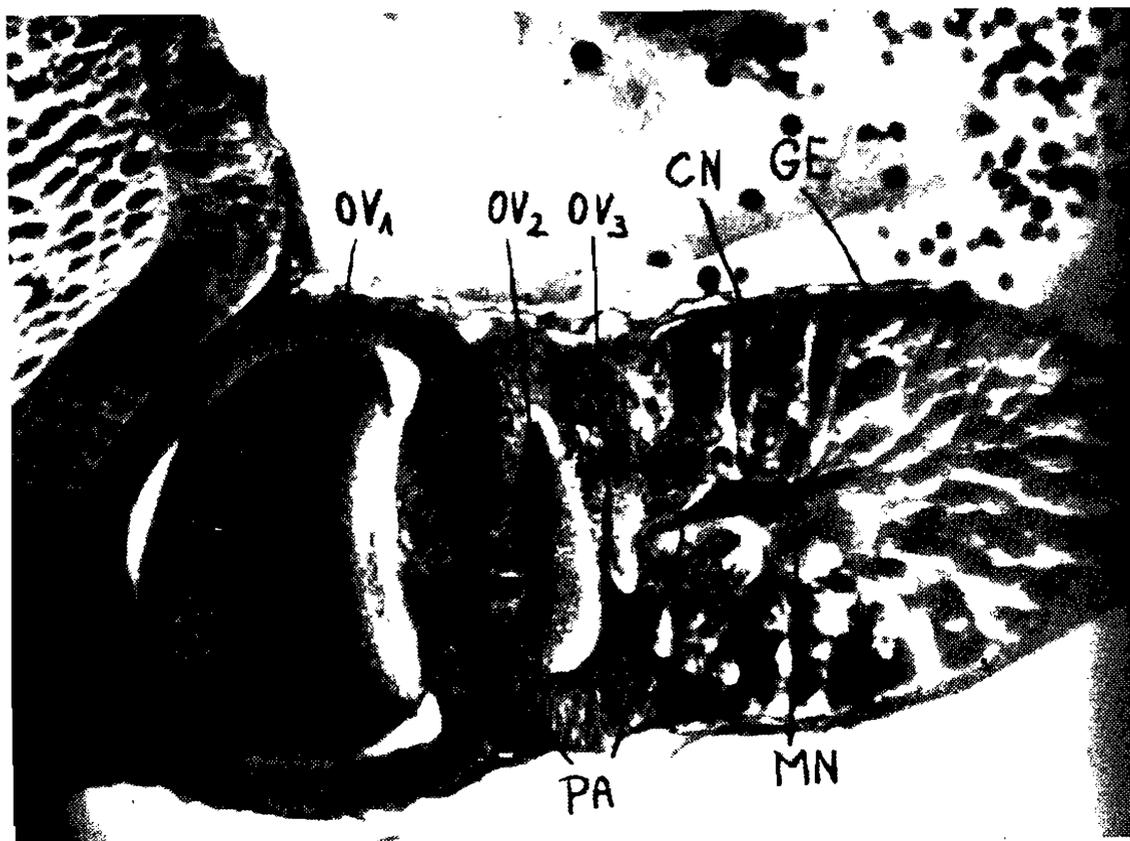


Fig. 1 — Corte longitudinal pelo germário de um ovario de *Triatoma vitticeps* com 3 óvulos, células nutritivas, massa nutritiva e extensão alimentar.

CN — células nutritivas; GE — germário; MN — massa nutritiva; OV 1-3 — óvulos; PA — extensão alimentar.

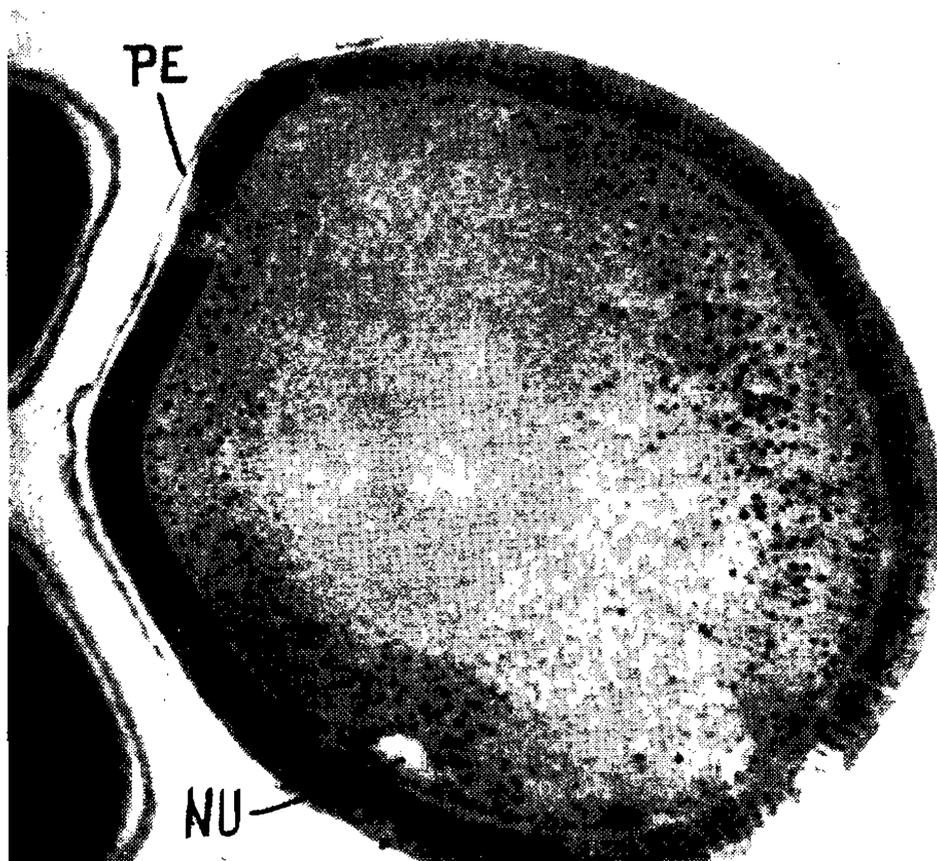


Fig. 2 — *Triatoma vitticeps*. Óvulo em fase de crescimento. NU — núcleo; PE — peritoneo

cloro conseguimos amolecê-lo igualmente como na preparação de cutícula, a fim de cortá-lo no micrótomo. Destas observações concluimos que, assim, como durante a formação da cutícula do corpo, também durante a formação do cório, ocorre uma transformação nas partes protoplasmáticas da zona apical da célula folicular. Aparentemente, existe um certo ritmo alternante entre a secreção e a transformação citada, pois encontramos regiões do epitélio, onde em tôdas as células não existe nenhum vacúolo, enquanto que em outras os vacúolos se acumulam na face apical (fig. 3, VA) como estivessem prontos para

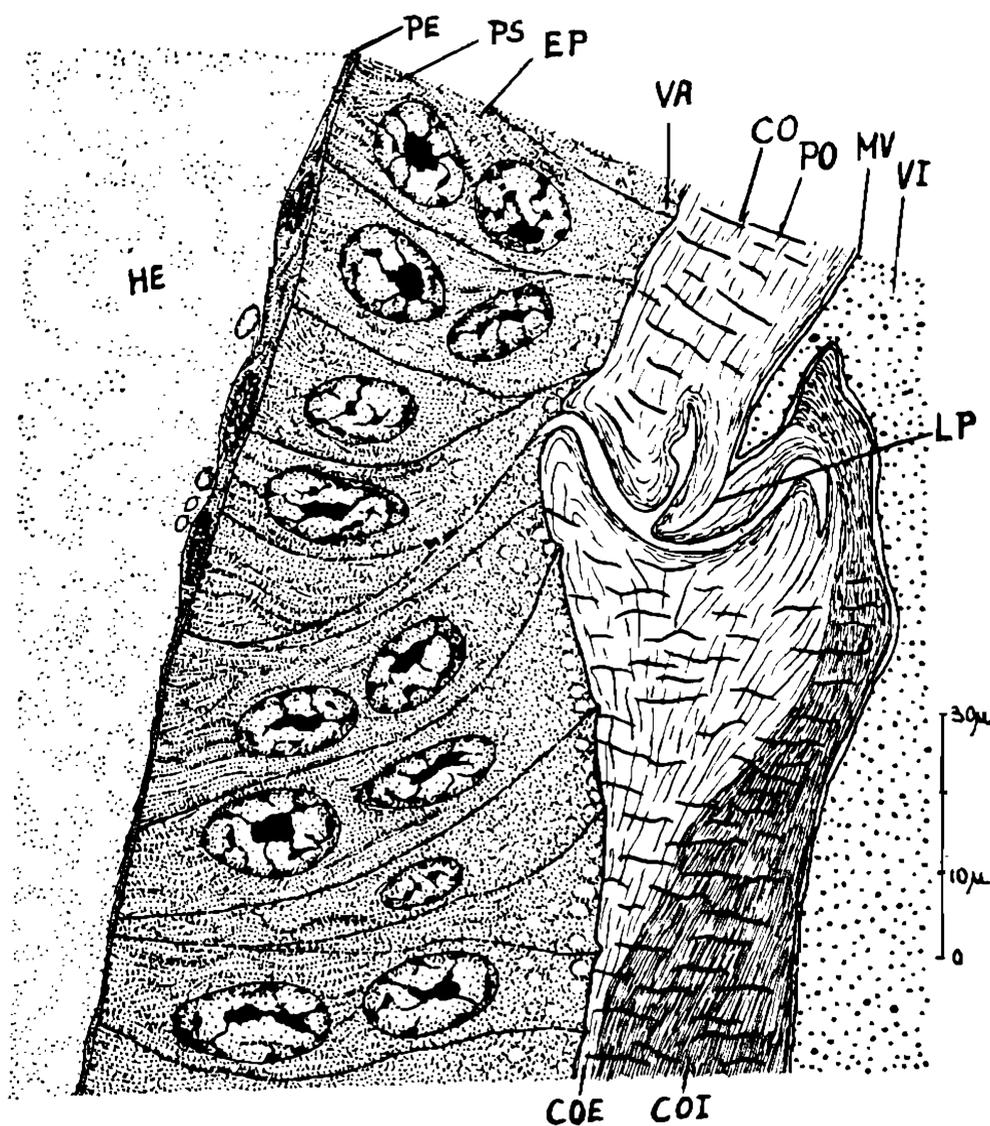


Fig. 3 — *Triatoma vitticeps*. Parte de um corte longitudinal de um ovo no interior do folículo, fim da formação do cório, demonstrando a articulação do opérculo com a linha determinada para o rompimento durante a eclosão.

CO — cório; COE — exocório; COI — endocório; EP — epitélio; HE — hemolinfa; LP — linha determinada; MV — membrana vitelínica; PE — peritônio; PO — pseudóporos; VA — vacúolos; VI — vitelino.

serem expulsos todos em um só momento. Formam-se, também, canais protoplasmáticos verticais, correspondendo aos pseudóporos da cutícula (Fig. 3, PO). O cório compõe-se de duas camadas: a interna (endocório) (fig. 3, COI) é a mais espessa e constitui-se de numerosas lamelas muito finas, enquanto que a externa (exocório) (fig. 3, COE) é mais estreita e demonstra uma disposição de lamelas com maior dis-

tância entre si. A primeira zona possui grande afinidade pelo vermelho de congo, e a segunda não se tingem com este corante. Concluimos disto que o endocório é menos impregnado por incrustação e que o exocório contém menos substâncias quitinosas, mas muito material de infiltração.

As células epiteliais são sempre binucleadas. Em folículos novos, elas são pequenas, formando um epitélio alto de várias camadas (fig. 4, EP) que, por sua vez, é perfurado pelos processos alimentares (figs. 2

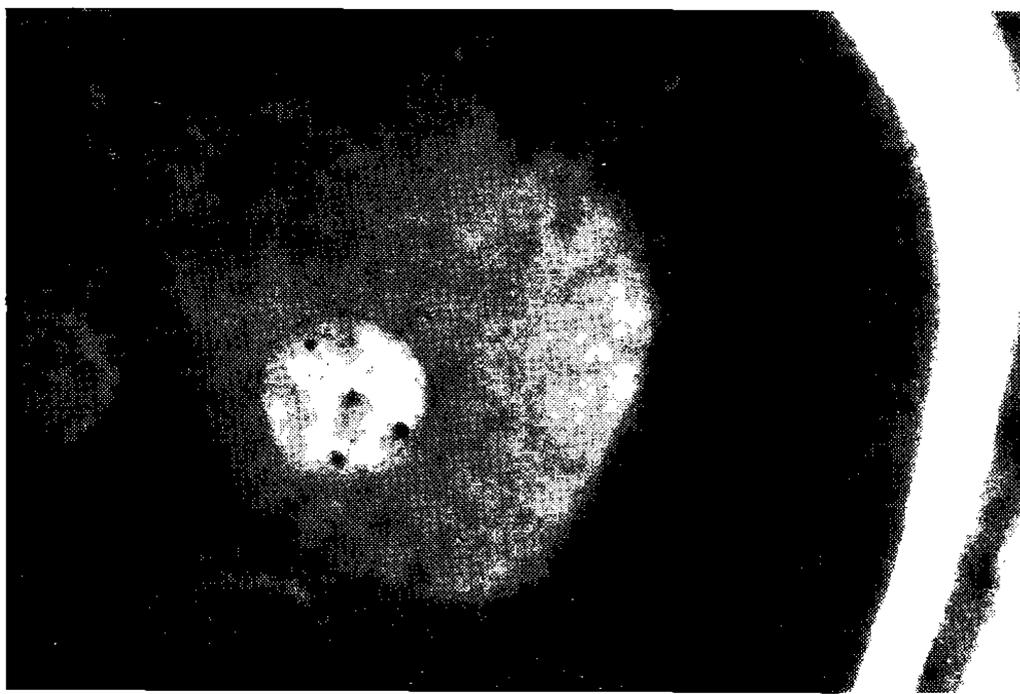


Fig. 4 — *Triatoma vitticeps*. Corte transversal de um folículo novo com epitélio alto e duas extensões alimentares de outros óvulos passando através do epitélio para a massa nutritiva.

4, EP) que, por sua vez, é perfurado pelas extensões alimentares (figs. 2 transportar substâncias da massa nutritiva para os óvulos (fig. 1, MN). O crescimento do óvulo é tão acelerado, que as células epiteliais, apesar do seu aumento contínuo, não podem acompanhar a dilatação e começam a deslocar-se no sentido vertical, formando, finalmente, um epitélio simples (compare as figuras 2, 4 e 5). A estrutura da célula durante a fase de crescimento e de dilatação transforma-se também; nos óvulos novos (figs. 4 e 5) elas são altas e muito estreitas; no fim da fase de dilatação elas formam um epitélio de células cúbicas (fig. 2); no início da formação do cório crescem no sentido vertical e no fim desta fase apresentam-se como células cilíndricas com os núcleos situados um em cima do outro (fig. 1).

O relêvo da superfície do cório está relacionado à forma e função das células do epitélio folicular. A superfície dos ovos de todas as espécies de Triatomíneos examinados é caracterizada pela amostra de áreas hexagonais (às vezes encontram-se pentágonos ou heptágonos), que representam exatamente a réplica da face apical do epitélio. As linhas,

que limitam as áreas (linhas limitantes), representam sulcos mais ou menos profundos e estreitos, que correspondem aos limites celulares, pois, nestes lugares, a quantidade de secreções e de material do protoplasma, transformado em componentes do cório, é muito menor do que

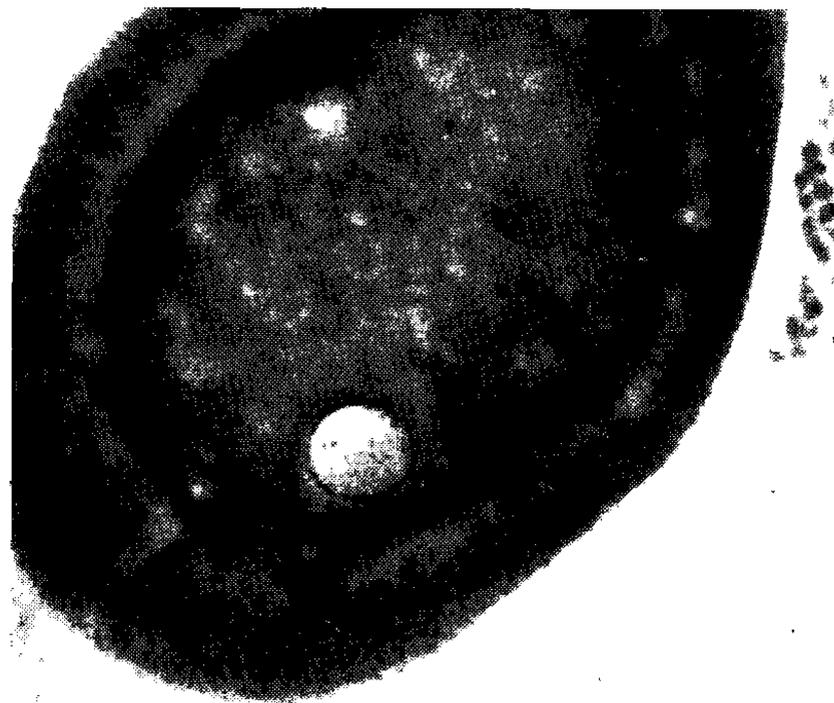


Fig. 5 — *Triatoma vitticeps*. Corte transversal de um folículo no início da fase de crescimento com epitélio no estado de dilatação.

na face apical da célula. As outras estruturas nas áreas hexagonais representam irregularidades na composição do protoplasma, e que permitem, em certos pontos da superfície, a formação de partes mais salientes. Estas irregularidades se repetem com uma certa constância sempre no mesmo sentido nas células de todos os indivíduos de uma determinada espécie. São, em geral, feixes de fibrilas protoplasmáticas que orientam o transporte das substâncias através da célula, acumulando estas numa região, enquanto que uma outra recebe menos material.

Em virtude desta irregularidade na distribuição do material solidificado, sobre a face apical das células epiteliais, encontramos, em geral, os componentes do relêvo (linhas, pontos, massas compactas) em cor prateada ou branca, pois estas partes são cortadas por estreitos sulcos, e perfuradas por canais verticais e pequenas fendas. O ar, contido nestas cavidades, reflete, totalmente, a luz.

Chamamos aqui a atenção à inserção do opérculo, apresentada na figura 3. O opérculo, que no momento da eclosão é deslocado mecânicamente pela larva, insere-se num profundo sulco circular, por intermédio de uma parte estreita do exocório, formando um ângulo. Neste, observa-se uma linha predeterminada (LP) que é o lugar do rompimento.

B. Estruturas da superfície do cório.

Passamos, em seguida, a apresentar a descrição das amostras superficiais dos ovos das espécies examinadas. As observações foram feitas em cascas vazias e secas.

1. *Panstrongylus megistus* (fig. 6 e 7):

Superfície da casca completamente lisa, sem estruturas; com aumento maior nota-se uma ligeira granulação que representa as entradas

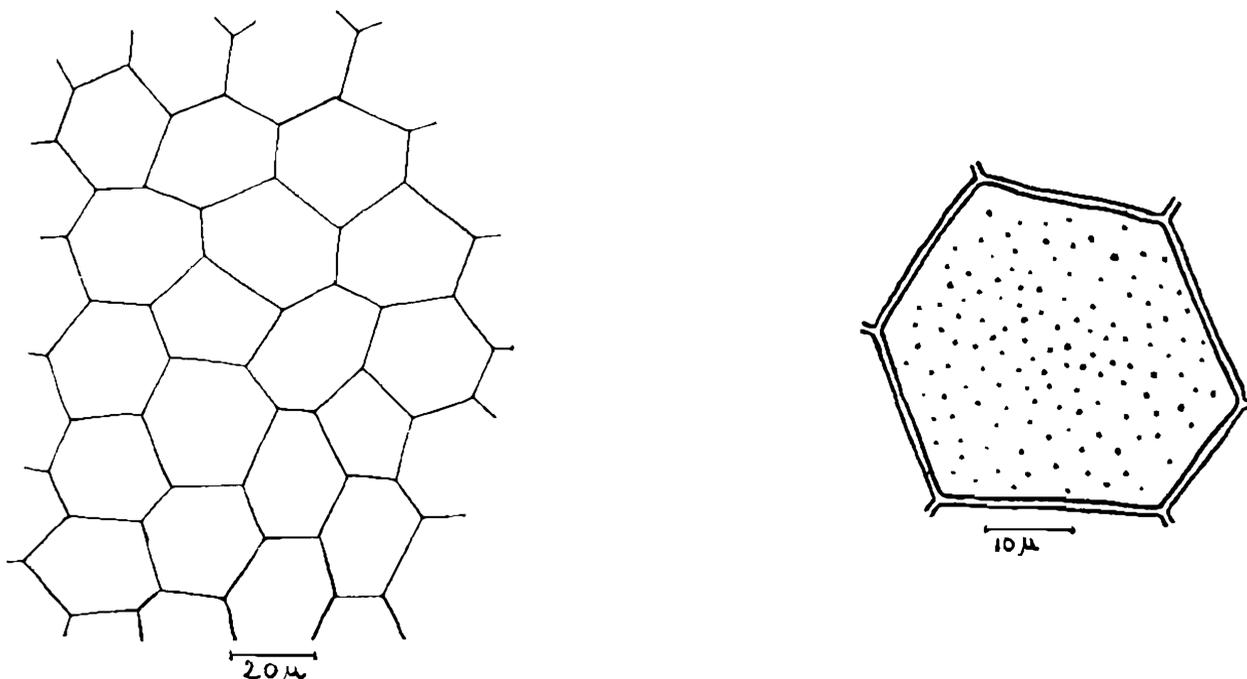


Fig. 6 — *Panstrongylus megistus*. Esquema da superfície do ovo.

Fig. 7 — *Panstrongylus megistus*. Esquema de uma área hexagonal.

dos pseudóporos. Em visão oblíqua, a superfície é ligeiramente ondulada. Linhas limitantes hialinas.

Diâmetro médio dos hexágonos: 24 μ .

2. *Triatoma vitticeps* (figs. 8 e 9):

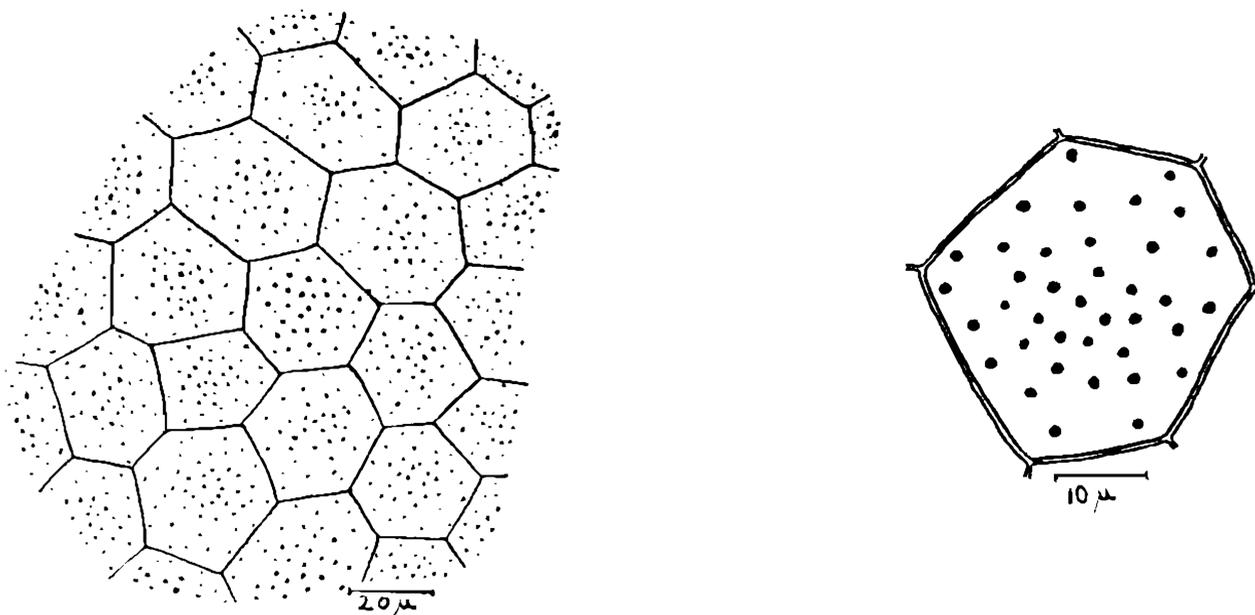


Fig. 8 — *Triatoma vitticeps*. Esquema da superfície do ovo.

Fig. 9 — *Triatoma vitticeps*. Esquema de uma área hexagonal.

Superfície da casca tendo 35 a 45 pequenos pontos brancos, que se acumulam mais na parte central da área do hexágono. Linhas limitantes hialinas.

Diâmetro médio dos hexágonos: 28,5 μ .

3. *Triatoma brasiliensis* (figs. 10 e 11):

Superfície da casca tendo uma amostra irregular de pequenas linhas brancas curvadas e separadas, uma das outras, e nunca formando figuras fechadas na área hexagonal. Linhas limitantes hialinas.

Diâmetro médio dos hexágonos: 27 μ .

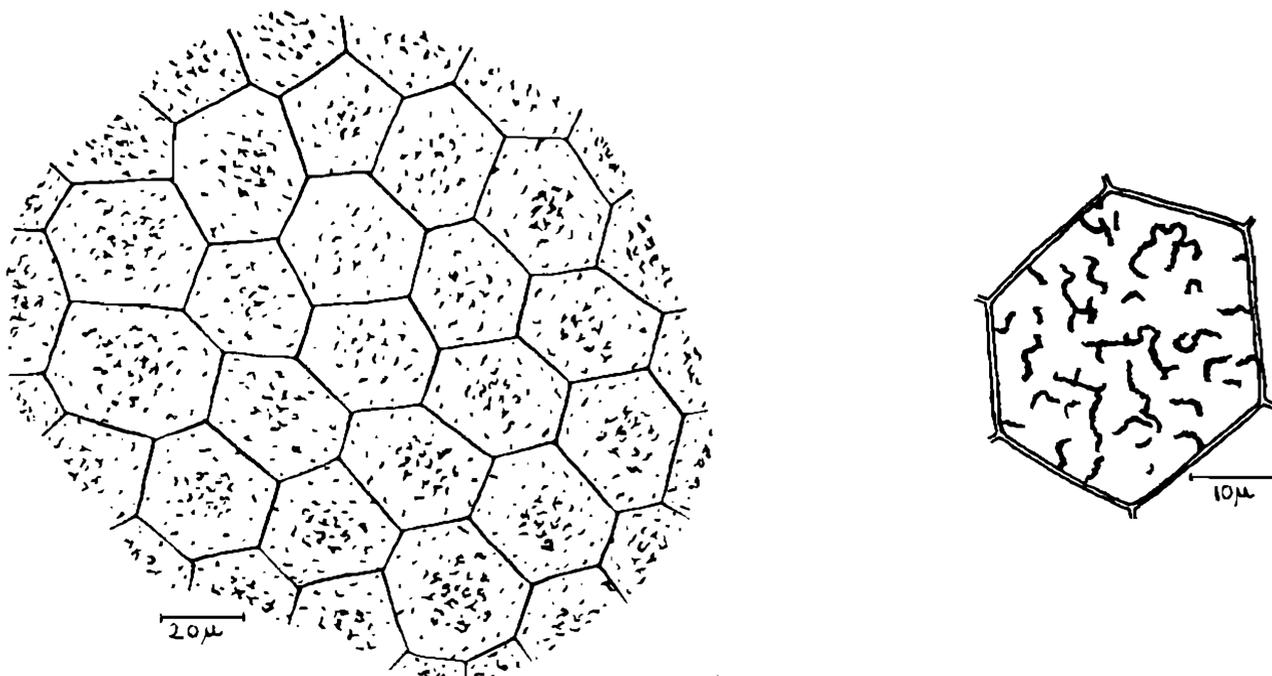


Fig. 10 — *Triatoma brasiliensis*. Esquema da superfície do ovo.

Fig. 11 — *Triatoma brasiliensis*. Esquema de uma área hexagonal.

4. *Triatoma sordida* (figs. 12, 13 e 14):

Superfície da casca tendo um sistema irregular de linhas brancas e curvadas que se comunicam entre si, formando assim pequenas figuras fechadas e de contornos irregulares. Linhas limitantes não hialinas, mas da mesma composição que as linhas da amostra.

Diâmetro médio dos hexágonos: 27 μ .

5. *Triatoma infestans* (figs. 15, 16 e 17) :

Superfície da casca tendo massa branca central, circundada por uma área lisa. A massa central é cortada por numerosos sulcos e fendas, que se comunicam entre si. Linhas limitantes muito largas e irregulares, compostas do mesmo material que a massa central.

Diâmetro médio hexágonos: 26 μ .



Fig. 12 — *Triatoma sordida*. Esquema da superfície do ovo.

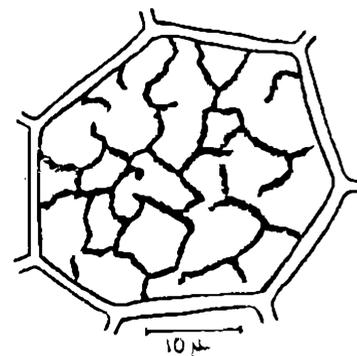


Fig. 13 — *Triatoma sordida*. Esquema de uma área hexagonal

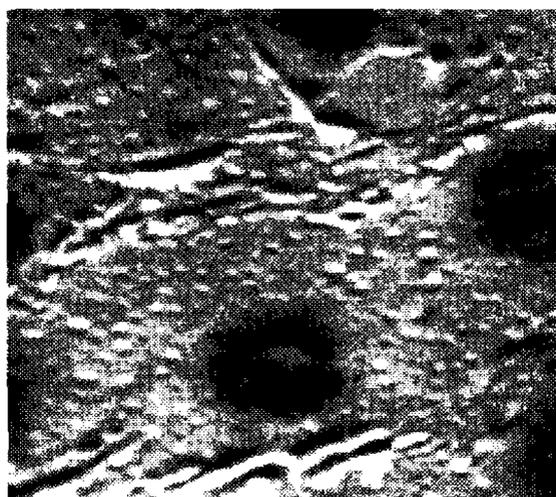


Fig. 14 — *Triatoma sordida*. Réplica da superfície do ovo com as entradas dos pseudóporos. Aumento 4.780 vezes (Fotografado por H. Muth no microscópio eletrônico).

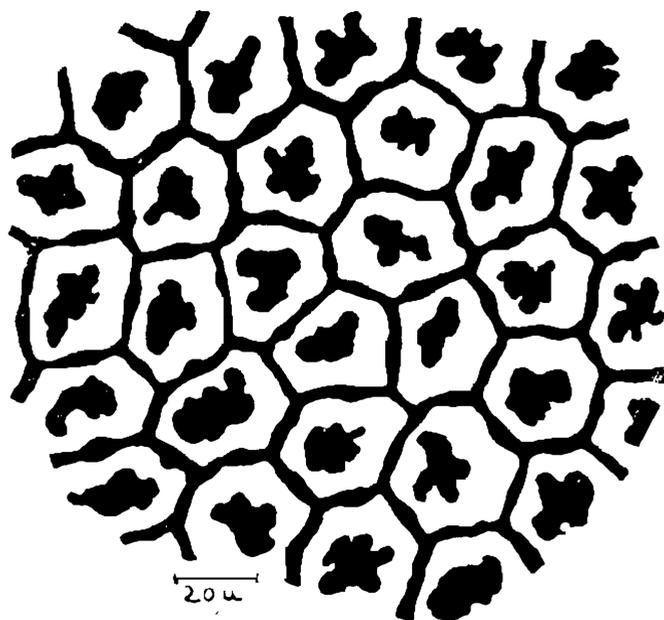


Fig. 15 — *Triatoma infestans*. Esquema da superfície do ovo.

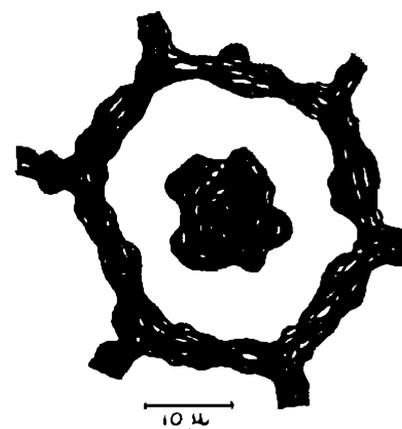


Fig. 16 — *Triatoma infestans*. Esquema de uma área hexagonal



Fig. 17 — *Triatoma infestans*. Réplica da superfície do ovo com uma parte da massa central, cortada por sulcos e uma parte da zona marginal de um hexágono. Aumento 1.575 vezes (Fotografado por H. Muth no microscópio eletrônico).

6. *Rhodnius prolixus* (figs. 18, 19 e 20 b):

Superfície da casca: cada hexágono é composto de uma zona periférica estreita, plana, com numerosos pontos brancos, e de uma cavidade central em forma de funil que penetra profundamente no cório (fig. 20 b). Esta se continua no fundo com um pequeno tubo terminal, curvado, cuja extremidade é fechada. Linhas limitantes hialinas. Diâmetro médio dos hexágonos: 22 μ .

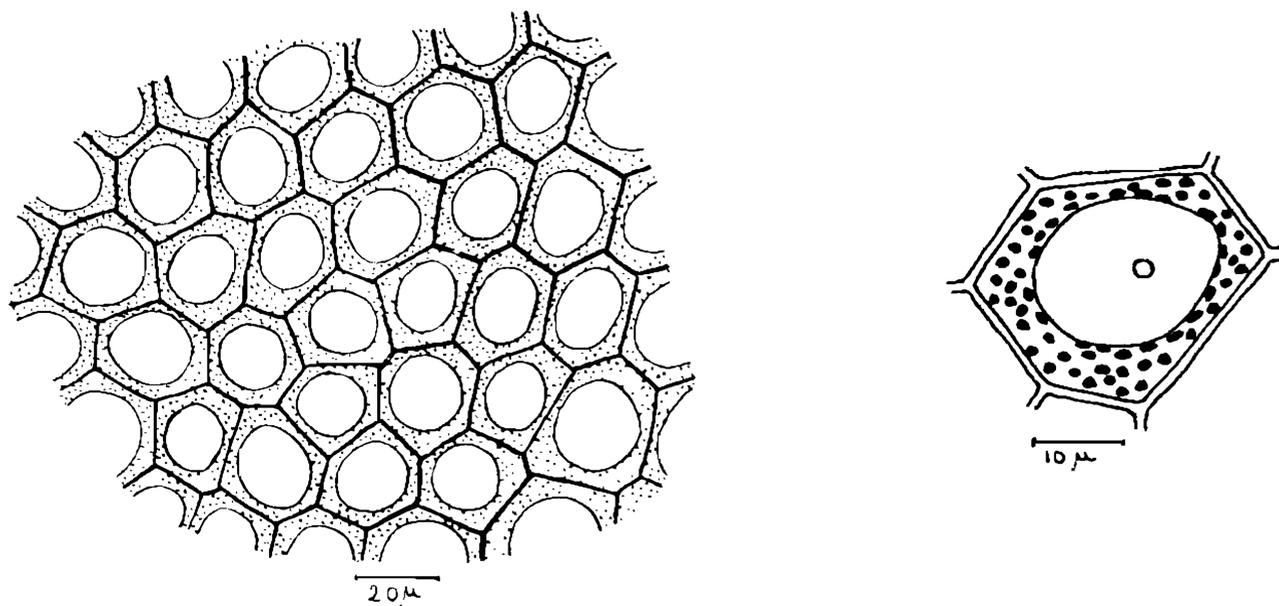


Fig. 19 — *Rhodnius prolixus*. Esquema de uma área hexagonal.

7. *Rhodnius neglectus* (figs. 20 a, 21 e 22):

Superfície da casca: como em *Rhodnius prolixus*, mas o diâmetro da abertura da cavidade é, aproximadamente, a metade da de *Rh. prolixus* (fig. 20 a). A área periférica larga possui os mesmos pontos brancos que se acumulam em redor da cavidade. O tubo terminal, visto de cima, alarga-se na sua extremidade (fig. 22, TB). Linhas limitantes hialinas, muito mais estreitas do que em *Rh. prolixus*. Diâmetro médio dos hexágonos: 21 μ .

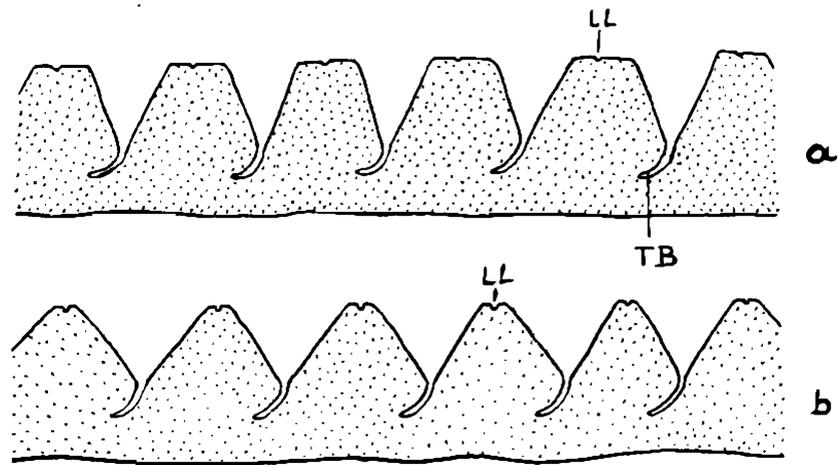


Fig. 20 — Esquemas de cortes pelo cório: a) *Rhodnius neglectus*; b) *Rh. prolixus*. LL — linhas limitantes; TB — tubo na extremidade da cavidade.

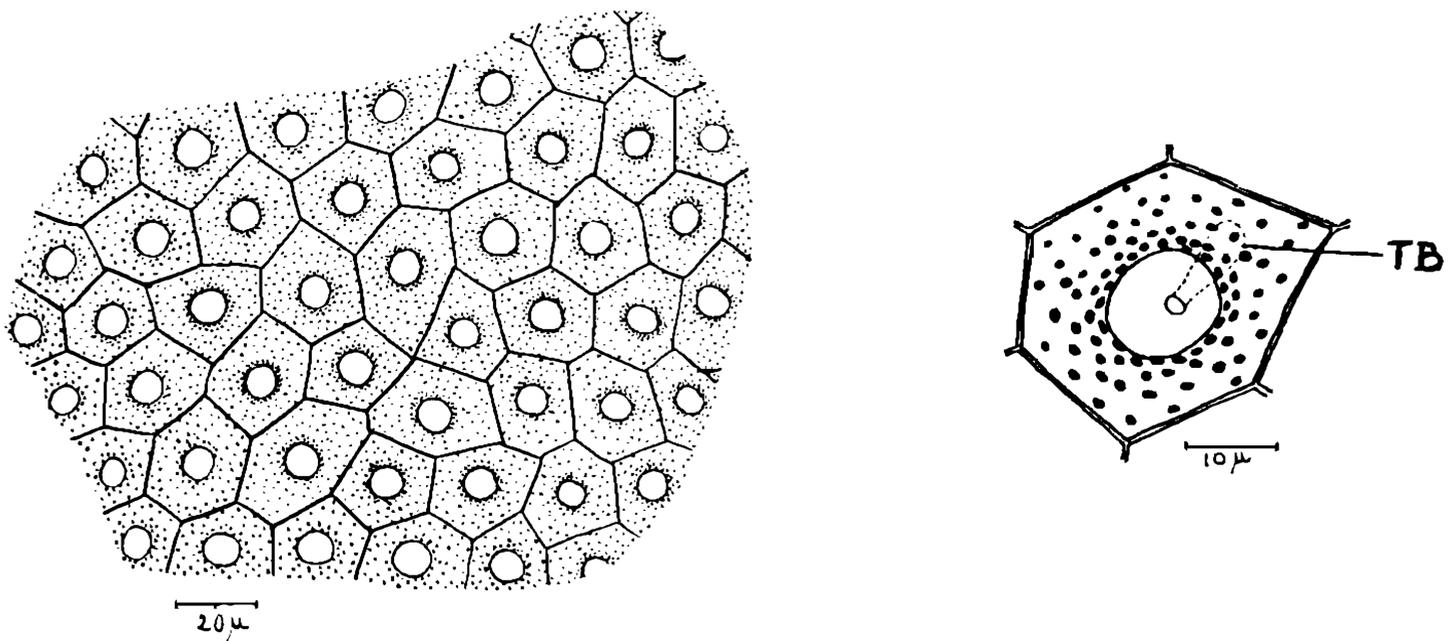


Fig. 21 — *Rhodnius neglectus*. Esquema da superfície do ovo.

Fig. 22 — *Rhodnius neglectus*. Esquema de uma área hexagonal. TB — Tubo na extremidade da cavidade



Fig. 23 — *Triatoma brasiliensis*. Superfície do ovo. Aumento 110 vezes.

C. *Resumo.*

Nesta comunicação analisa-se a formação do cório e a amostra da sua superfície do ovo maduro.

As amostras superficiais do cório, apresentadas em esquemas, são características para cada espécie examinada, de maneira que estas estruturas servem para a classificação das espécies.

D. *Zusammenfassung.*

In dieser Mitteilung werden die Bildung des Chorions und das Oberflaechenmuster reifer Eier untersucht.

Die Muster des Chorions, schematisch fuer jede Art dargestellt, sind arteigen, so dass diese Strukturen zur Klassifizierung der Arten dienen koennen.

BIBLIOGRAFIA

- ABALOS, J. W. et WYGODZINSKY, P. 1951, Las Triatominae Aregentinas. Min. Educ. de la Nación, Univers. Nac. Tucuman, Inst. Med. Reg., *Publicación* n.º 601; 179 pgs., 318 figs.
- BEAMENT, J. W. L., 1946a, The formation and structure of the chorion of the egg in an Hemipteran, *Rhodnius prolixus* Stal (Heteroptera: Reduviidae). *Quart. J. micr. Sci.* 87: 393-439.
- BEAMENT, J. W. L., 1946b, The waterproofing process in eggs of *Rhodnius prolixus*. *Proc. roy. Soc. (B)* 133: 407-418.
- BEAMENT, J. W. L., 1947, The formation and structure of the micropylar complex in the eggshell of *Rhodnius prolixus* Stal (Heteroptera: Reduviidae). *J. exp. Biol.* 23: 213-235.
- BEAMENT, J. W. L., 1948, The penetration of insect egg-shells. I. Penetration of the chorion of *Rhodnius prolixus*, Stal. *Bull. ent. Res.* 39: 359-383.
- BEAMENT, J. W. L., 1949, The penetration of insect egg-shells. II. The properties and permeability of sub-chorial membranes during development of *Rhodnius prolixus*, Stal. *ibid.* 39: 467-488.
- SOUTHWOOD, T. R. E., 1956, The structure of the eggs of the terrestrial Heteroptera. *Trans. R. Ent. Soc. Lond.* 108: 163-221.
- TUFT, P. H., 1950, The structure of the insect egg-shell in relation to the respiration of the embryo. *J. exp. Biol.* 26: 327-334.