



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Curso de Especialização em Entomologia Médica

**MORFOLOGIA DE OVOS DE *Triatoma costalimai* VERANO E GALVÃO, 1958 E
Triatoma jatai GONÇALVES, TEVES-NEVES, SANTOS-MALLET, CARBAJAL-DE-
LA-FUENTE E LOPES, 2013 (HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)**

JOSIANE NOGUEIRA MÜLLER

**Orientadores:
Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves
Dra. Simone Patrícia Carneiro de Freitas**

Rio de Janeiro
2013

JOSIANE NOGUEIRA MÜLLER

MORFOLOGIA DE OVOS DE *Triatoma costalimai* VERANO E GALVÃO, 1958 E *Triatoma jatai* GONÇALVES, TEVES-NEVES, SANTOS-MALLET, CARBAJAL-DE-LA-FUENTE E LOPES, 2013 (HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)

Monografia submetida como requisito parcial para obtenção do grau de especialista em Entomologia Médica, Curso de Especialização em Entomologia Médica, pelo Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

EXAMINADORES:

Dr. Rubens Pinto de Mello - Presidente
Dra. Jacenir dos Santos Mallet - (Membro titular)
Ma. Juliana Soares Sarmento dos Santos - (Membro titular)
Ma. Simone Caldas Teves Neves - (Membro suplente)
Dra. Catarina Macedo Lopes – (Membro revisor)

Rio de Janeiro
18 de dezembro de 2013

Assinatura do Aluno

Assinatura do Orientador

Simone Patrícia Carneiro de Freitas

Assinatura do 2º Orientador

AGRADECIMENTOS

À Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves pela orientação neste projeto. Sou grata pelo carinho e atenção com que me recebeu no laboratório desde o primeiro momento. Sua personalidade, a maneira formal, educada e gentil de trabalhar me encanta. Tenho profunda admiração e respeito pelo seu trabalho dentro da Fiocruz, unindo a pesquisa, a docência e a educação à população. Obrigada por ser mais que uma profissional, por se preocupar comigo em todos os momentos, principalmente nos que foram mais difíceis aqui dentro da instituição.

À Dra. Simone Patrícia Carneiro de Freitas pela orientação neste projeto, pelas tardes na Microscopia Eletrônica de Varredura. Sou grata a sua pessoa, pela força e determinação com que luta e consegue seus objetivos, com seu exemplo aprendi que não podemos desistir no primeiro tombo e temos que perseverar sempre.

À Dra. Catarina Macedo Lopes fica minha gratidão pela colaboração na pesquisa e pelas belas fotos. Não podendo deixar de agradecer por todos os sorrisos, abraços, pela dedicação, a paciência e aos diversos ensinamentos que levarei por toda à vida.

À Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet pela colaboração no trabalho e por aceitar participar da banca avaliadora, pelo carinho e atenção na rotina de trabalho e por todas as caronas na volta para casa.

Gostaria de agradecer a todos do Setor de Entomologia Médica e Forense, destacando os amigos Guilherme, Alice, Amanda, Cristina, Danielle, Lucilla, Maria Luiza, Raquel, Silvia, Simone Kikuchi, Simone Teves-Neves e Vanessa pelo companheirismo de todos os dias. Em especial agradeço a minha amiga Ariane Lourenço pela colaboração no trabalho, por ter me auxiliado com os ovos de triatomíneos, por ter manuseado as colônias por diversas vezes a procura de ovos. Obrigada!

Agradeço a coordenação da Pós-graduação em Entomologia Médica, em nome do Dr. Anthony Guimarães e Dr. Rubens de Mello, pela oportunidade de colaborar com este curso que tanto contribuiu na minha formação acadêmica, intelectual e moral. O lema sempre foi “*Não esmorecer para não desmerecer*” por isso sabemos que este foi somente o primeiro de muitos passos a serem conquistados como entomólogos. Todos os momentos vividos durante este período ficarão para sempre guardados em minha memória.

Agradeço aos mestres, professores e colaboradores que forneceram com muito carinho o melhor presente que poderíamos ganhar, o conhecimento. Em sua individualidade todos contribuíram para nossa formação, por isso em especial gostaria de agradecer ao Dr. Nicolau Serra-Freire e Dra. Marinete Amorim, em representação de todos os outros, pela recepção no início do curso e por acreditarem e contribuírem diretamente na união da nossa turma.

Aos amigos da Entomologia, Ana Beatriz, André, Guilherme, Lucas, Maria Ignez, Renata, Roberto, Pablo e Vitor agradeço pelos dias de estudo, pelas brincadeiras, pelo companheirismo e união, enfim por terem feito todos os momentos se tornarem inesquecíveis. Agora em especial, agradeço de todo meu coração a aquela que foi amiga, mana, parceira e em algumas vezes até mãe, por ter me acolhido, me ajudado incondicionalmente em todos os momentos, desde o primeiro dia. Hoje sei que sem o seu exemplo, sem a sua força de vontade Aninha eu não saberia o verdadeiro sentido do amor ao próximo, do fazer o bem sem ver a quem. Você me fez acreditar que a amizade duplica as alegrias e divide pela metade as tristezas, afinal foram tantos os sorrisos, lágrimas, noites em claro que fazem de você uma das pessoas mais especiais da minha vida, então que fique aqui expresso o meu muito obrigada!

Agradeço também aos funcionários do IOC, em especial o Henrique, a Tenilli pelo carinho, ao Roger, Rômulo e Wendel da Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth, pelo auxílio com o Microscópio Eletrônico de Varredura.

Agradeço os mineiros da Universidade Federal de Uberlândia, que ajudaram na formação da pessoa em que me apresento hoje e em especial aquelas que me proporcionaram trabalhar com triatomíneos, Profa. Dra. Karine Rezende de Oliveira e a amiga Patrícia Lopes.

Por último agradeço as pessoas mais importantes da minha vida, minha Mãe Geovania Nogueira, meu pai Joilson Müller, aos meus irmãos José Luiz e Josiete, a minha sobrinha Luana Gold e todos os demais familiares. Agradeço também ao meu noivo Rafael Dias, por ter confiado na minha capacidade, pela sua paciência e compreensão em todos os momentos e pelo seu eterno amor e companheirismo. Desta maneira termino agradecendo a Deus por todas as oportunidades, por hoje viver na cidade maravilhosa e poder compartilhar as alegrias com todas estas pessoas que estão fazendo a diferença na minha vida. Obrigada Senhor!

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO | IX |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1. Morfologia dos ovos | 2 |
| 1.2. Subcomplexo matogrossensis | 3 |
| 1.3. Triatomíneos | 4 |
| 1.3.1. <i>Triatoma costalimai</i> Verano & Galvão (1958) - (Figura 1.a) | 4 |
| 1.3.2. <i>Triatoma jatai</i> Gonçalves, Teves-Neves, Santos-Mallet, Carbajal-de-la-Fuente e Lopes (2013) (Figura 1.b) | 6 |
| 2. OBJETIVO | 8 |
| 2.1. Objetivo geral | 8 |
| 2.2. Objetivos específicos | 8 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 9 |
| 3.1. Procedência do material estudado | 9 |
| 3.2. Morfometria | 11 |
| 3.3. Microscopia Óptica | 11 |
| 3.4. Microscopia Eletrônica de Varredura | 12 |
| 4. RESULTADOS | 15 |
| 4.1. Morfometria | 15 |
| 4.2. Aspectos da morfologia em MO | 17 |
| 4.2.1. <i>Triatoma costalimai</i> | 18 |
| 4.2.2. <i>Triatoma jatai</i> | 20 |
| 4.3. Aspecto geral da morfologia em MEV | 22 |
| 4.4. Formas geométricas exocoriais | 33 |
| 4.5. Morfometria em MEV | 34 |
| 5. DISCUSSÃO | 36 |
| 6. CONCLUSÕES | 40 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 41 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Espécimes fêmea e macho de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B), procedentes do estado do Tocantins, Brasil. 5
- Figura 2- Afloramentos rochosos característico do estado do Tocantins, Brasil. Fazenda Jataí, município de Paranã. 6
- Figura 3- Estado do Tocantins, Brasil. Destaque aos municípios: A- Paranã e B- Aurora do Tocantins. 10
- Figura 4- Suporte feito com massa de modelar sobre lâmina de vidro, utilizado para a medição dos ovos (A). Zoom (B). 11
- Figura 5- Esquema do ovo de triatomíneo evidenciando o opérculo e o corpo do ovo, subdividido em três regiões: cefálica, mediana e caudal..... 12
- Figura 6- A- Esquema da montagem de ovos de triatomíneos, com seus respectivos opérculos; B- suporte com parte do material metalizado..... 12
- Figura 7- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do opérculo do ovo, da forma circular e convexa, de *Triatoma costalimai*. A- Região central do exocório do opérculo. B-C Regiões laterais do exocório do opérculo do ovo. 13
- Figura 8- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* ilustrando o procedimento de mensuração de área de células (linha contínua e setas) e mostrando as pontuações quantificadas com o auxílio do programa SemAfore 5.2 (x sobre as pontuações). 14
- Figura 9- Valores da média e desvio padrão do comprimento e largura (mm) de ovos de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, proveniente do estado do Tocantins, Brasil. 17
- Figura 10- Aspecto geral do ovo da espécie. A - *Triatoma costalimai* e B- *Triatoma jatai*.... 17
- Figura 11- Exocório do opérculo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil..... 18
- Figura 12- Região cefálica do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil. 18
- Figura 13- Região mediana do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil. 19
- Figura 14- Região caudal do exocório do corpo do ovo, da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil. 19
- Figura 15- Exocório do opérculo da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil..... 20
- Figura 16- Região cefálica do exocório do corpo do ovo, da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil 20

| | |
|---|----|
| Figura 17- Região mediana do exocório do corpo do ovo da espécie <i>Triatoma jatai</i> procedentes do estado do Tocantins, Brasil. | 21 |
| Figura 18- Região caudal do exocório do corpo do ovo da espécie <i>Triatoma jatai</i> procedentes do estado do Tocantins, Brasil. | 21 |
| Figura 19- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura dos opérculos dos ovos de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B). | 23 |
| Figura 20- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do bordo do opérculo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B), com células menores mais próximas ao bordo, com formas pouco definidas com pouca ou nenhuma ornamentação. | 24 |
| Figura 21- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do aspecto geral do exocório do corpo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B), provenientes do estado do Tocantins, Brasil. | 25 |
| Figura 22- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da borda corial do corpo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B) provenientes do estado do Tocantins, Brasil. (Ae – aerópila, Ge – Goteira espermática e Mc – Micrópila)... | 26 |
| Figura 23- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da borda corial do ovo inteiro de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B), provenientes do estado do Tocantins, Brasil. Ae – aerópila, Ge – Goteira espermática, Mc – Micrópila, Op – opérculo e Co – Corpo do ovo. | 27 |
| Figura 24- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do exocório do opérculo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B) proveniente do estado do Tocantins. Pontuações fundidas e/ou próximas ao bordo celular (seta). | 29 |
| Figura 25- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região cefálica do exocório do corpo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil. | 30 |
| Figura 26- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região mediana do exocório do corpo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil. Aspecto acolchado com bordos bem demarcados (seta). | 31 |
| Figura 27- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região caudal do exocório do corpo do ovo de <i>Triatoma costalimai</i> (A) e <i>Triatoma jatai</i> (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil. | 32 |
| Figura 28- Formas geométricas das células exocoriais do corpo do ovo (regiões cefálica, mediana e caudal) de <i>Triatoma costalimai</i> e <i>Triatoma jatai</i> provenientes do estado do Tocantins, Brasil. | 34 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Comprimento e largura (mm) de ovos de populações de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, provenientes do estado do Tocantins, Brasil..... 16
- Tabela 2 - Medidas dos ovos (mm) de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, provenientes do estado do Tocantins, Brasil. 17
- Tabela 3 - Formas geométricas das células exocoriais do opérculo e do corpo do ovo, observados em Microscopia Eletrônica de Varredura, das espécies *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* proveniente no estado do Tocantins, Brasil..... 34
- Tabela 4 - Medida da área (μm^2) e do número de pontuações do exocório do opérculo e corpo do ovo de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* provenientes do estado do Tocantins, Brasil..... 35
- Tabela 5 - Médias da área (μm^2) e do número de pontuações do exocório do corpo do ovo, das regiões cefálica (CF), mediana (ME) e caudal (CD), de ovos de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* provenientes do estado do Tocantins, Brasil. 35

RESUMO

Os triatomíneos, transmissores do agente etiológico da doença de Chagas, possuem ampla distribuição no sudeste do estado do Tocantins. Associados a afloramentos rochosos, *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* pertencem ao subcomplexo matogrossensis e vivem em simpatria. A utilização de caracteres morfológicos tem contribuído na diferenciação de espécies afins e crípticas, no entendimento taxonômico e nas relações filogenéticas dentro da subfamília Triatominae. O objetivo deste trabalho foi comparar os aspectos morfológicos e morfométricos dos ovos de *T. costalimai* e *T. jatai* utilizando a técnica de Microscopia Óptica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os ovos analisados procedem de espécimes capturados nos municípios de Aurora do Tocantins e Paranã e mantidos em colônias. Para a morfometria foram analisados o comprimento e largura de ovos não eclodidos. Para a MO e MEV foram desenhadas, fotografadas e analisadas células do opérculo (OP) e do corpo do ovo (CO) discriminando as regiões cefálica, mediana e caudal. A mensuração das áreas e quantificação das pontuações foram feitas no programa SemAfore 5.2 e as análises estatísticas utilizando o teste ANOVA e o Teste t. Os resultados da MO mostraram que o exocório do ovo apresenta uma predominância de linhas curtas em *T. jatai*, e pontuações em *T. costalimai*. A morfometria demonstrou que entre as duas espécies existem diferenças significativas nas medidas do comprimento e largura, sendo que os ovos de *T. costalimai* são maiores que *T. jatai*. Para MEV, os resultados evidenciaram que o OP apresenta células de bordos retos e/ou arredondados, com aspecto acolchoado, pontuações aleatórias e predominância da forma pentagonal. No CO, as células hexagonais predominam, com índices superiores a 60% nas duas espécies. As células do exocório de *T. costalimai* são planas, com os bordos suaves, enquanto que em *T. jatai* são acolchoados com bordos bem marcados. O teste estatístico mostrou diferença significativa ($p < 0,001$) apenas para CO, onde as células de *T. costalimai* foram maiores e com mais pontuações ($646,65 \mu\text{m}^2$; $\bar{X} = 27,36$) do que *T. jatai* ($541,96 \mu\text{m}^2$; $\bar{X} = 19,55$). Neste sentido, foi possível concluir que os aspectos morfológicos e morfométricos dos ovos de *T. costalimai* e *T. jatai* podem ser diferenciados com base nas técnicas de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura, contribuindo assim para a caracterização taxonômica de ambas as espécies afins.

Palavras-chave: Triatomíneos, Microscopia Eletrônica de Varredura, Morfometria.

1. INTRODUÇÃO

Os triatomíneos são classificados como membros da Ordem Hemiptera, juntamente com cigarras, pulgões e outros percevejos e estão presentes na subordem Heteroptera, Família Reduviidae e Subfamília Triatominae (REY, 2008).

Atualmente existem 146 espécies de triatomíneos identificadas, com 65 delas ocorrendo no território brasileiro (GONÇALVES et al., 2013; JURBERG et al., 2013), no entanto apenas algumas possuem importância epidemiológica, devido ao potencial na transmissão da doença de Chagas e a proximidade com o domicílio humano (JURBERG et al., 2005).

A doença de Chagas, também conhecida cientificamente como tripanossomíase americana, é causada pelo agente etiológico hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* e foi descrita por Carlos Chagas, em 1909, depois da suspeita de insetos hematófagos transmitirem o parasito ao homem e a outros animais (KROPF, 2006).

A transmissão vetorial foi o principal meio de difusão da doença, sendo hoje responsável por cerca de 7% dos casos reportados no país (Portal da Saúde, 2012). Na América Latina acredita-se que existam aproximadamente oito a dez milhões de pessoas infectadas pelo parasito *T. cruzi*, demonstrando assim a importância dos estudos dos vetores, considerando que atualmente ainda existam muitas famílias expostas ao risco da infecção (COURA, 2013).

As ações profiláticas desenvolvidas por Programas de Controle do Sistema de Saúde no país e as pesquisas na área demonstram a importância da identificação dos vetores envolvidos na transmissão da doença de Chagas. No sentido de ampliar o conhecimento dessas espécies, a utilização de metodologias com abordagem moleculares e izoenzimáticas, morfológicas, morfométricas e biogeográficas, são essenciais para o entendimento da filogenia da subfamília Triatominae. Os resultados desses estudos contribuem para a compreensão da dispersão das espécies e suas consequências na transmissão dessa enfermidade (GALVÃO, 2003; HYPISA et al., 2002; PAULA et al., 2005).

1.1. Morfologia dos ovos

O estudo da morfologia dos ovos, por Microscopia Óptica (MO) em triatomíneos é datado a partir da década de 30, quando o pesquisador Galliard (1935) notou a presença de ornamentação no exocório e a possível diferenciação das espécies a partir desta característica. Este estudo foi sucedido pelo trabalho com triatomíneos da Argentina, quando foi proposta uma chave dicotômica para estes insetos, baseados na microestrutura coriônica, (ABALOS & WYGODZINSKY, 1951) e posteriormente aperfeiçoado por Barth & Muth (1958).

Em 1969, Lucena e Rego evidenciaram a existência de células poligonais no exocório dos ovos de triatomíneos, contendo de cinco a oito lados e comentaram o fato de espécies com hábitos semelhantes possuírem estruturas exocoriais similares.

A utilização de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) como ferramenta base para estudos de ovos de triatomíneos possibilitou a ampliação dos conceitos morfológicos (LENT & WYGODZINSKY, 1979). Com isso, vários trabalhos foram realizados buscando a descrição e comparação entre as espécies, contribuindo para a taxonomia e conseqüentemente na diferenciação de espécies afins e crípticas (SILVA et al., 2005).

Neste sentido, o estudo de Barata (1981) utilizando a MO e MEV buscou a diferenciação de 10 espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 com base na análise da ornamentação exocorial, sendo esta uma importante contribuição que resultou na elaboração de uma chave dicotômica para algumas espécies deste gênero.

Em 1985, embasado na separação de espécies afins, Gonçalves et al., distinguiram a morfologia dos ovos de *Triatoma maculata* - Erichson, 1848 e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964; Rosa et al., (2000) distinguiram *Triatoma circummaculata* Blanchard, 1834 e *Triatoma rubrovaria* (Stål, 1859); e Silva et al., (2005) diferenciaram *Triatoma vandae* - Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 de *Triatoma williami* - Galvão, Souza & Lima, 1965. Estes trabalhos proporcionaram condições na identificação das espécies, auxiliando no entendimento das relações filogenéticas dentro da subfamília Triatominae.

Durante a década de 1990 diversos estudos morfológicos foram feitos, a fim de ampliar o conhecimento sobre ovos e ninfas das espécies da subfamília Triatominae (COSTA et al., 1997; COSTA et al., 1991; GALINDEZ-GIRÓN et al., 1997; JURBERG & CAMPOS, 1995; JURBERG et al., 1992; JURBERG et al., 1998;

JURBERG & VOGEL, 1994; ROCHA et al., 1996), proporcionando parâmetros de análises para a taxonomia dos vetores da doença de Chagas.

O ovo dos triatomíneos é constituído do opérculo e corpo do ovo e pode ser depositado solto ou aderido ao substrato com comprimento e largura variados (SOUZA, 2011). De acordo com Aldana et al., (2011) e Sandoval (2011) o corpo do ovo pode ser subdividido em três regiões: cefálica, mediana e caudal.

A região cefálica compreende a borda corial, a goteira espermática, as micrópilas e as aerópilas. As micrópilas são poros, por onde na fertilização, ocorre à entrada dos espermatozoides. As aerópilas, por sua vez, são as vias onde ocorrem as trocas gasosas do ovo se apresentando em maior número e menor tamanho, quando comparadas com as micrópilas (BEAMENT, 1946; GONÇALVES et al., 1985).

A sucessão dos estudos publicados evidencia o aprimoramento de meios de reconhecimento e diferenciação de espécies de triatomíneos, embasados em técnicas como: MO, MEV e morfometria dos ovos. Com isso foi possível verificar que cada gênero possui suas características próprias, podendo apresentar estruturas diversas como: colo ou colarinho, achatamento lateral, células hexagonais desde infundibuliformes a células poligonais, com ornamentação composta de perfurações (BARATA, 1998).

Com relação aos estudos das formas geométricas, a morfometria vem acrescentando na sistemática, como nova forma de comparação entre as espécies, com técnicas cada vez mais aprimoradas, como o levantamento das pavimentações estabelecidas no exocório do ovo (GONZÁLEZ et al., 2009).

Atualmente, o aprimoramento das técnicas de análise de ovos (MO e MEV), vem possibilitando estudos no sentido de ampliar o conhecimento sobre a taxonomia morfológica através da distinção das relações intra e interespecífica, como evidenciado por Costa et al., (1997) em populações de *Triatoma brasiliensis*.

1.2. Subcomplexo matogrossensis

A junção das espécies ou subespécies pelas semelhanças morfológicas, possível hibridização e proximidades moleculares é denominada “complexos específicos” (CARCAVALLO et al., 2001). Este conceito foi primeiramente utilizado por Usinger et al., (1966), aprimorado por Lent & Wygodzisky (1979) e apesar do não reconhecimento pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, se tornou uma forma prática de

agrupar espécies próximas e vem sendo utilizado nos estudos de triatomíneo, acrescido também ao conceito de “subcomplexo” (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009).

Dentre os subcomplexos existentes até o momento, o matogrossensis é constituído pelas espécies *Triatoma baratai* - Carcavallo & Jurberg, 2000; *Triatoma deaneorum* - Galvão, Souza & Lima 1967; *Triatoma guazu* - Lent & Wygodzinsky, 1979, *Triatoma jurbergi* - Carcavallo, Galvão & Lent, 1998; *Triatoma matogrossensis* -Leite & Barbosa, 1953, *T. vanda*, *T. williami*, *T. costalimai* (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009) e *T. jatai* incluído recentemente por Gonçalves et al., (2013), sendo os dois últimos alvos do presente estudo.

1.3. Triatomíneos

1.3.1. *Triatoma costalimai* Verano & Galvão (1958) - (Figura 1.a)

Esta espécie foi descrita com base em exemplares capturados em Taguatinga (GO), localizados em rochas calcárias. Lent & Wygodzinsky (1979) caracterizaram a espécie como de hábito silvestre, com distribuição geográfica restrita aos estados da Bahia e de Goiás. Estudos mais recentes comprovaram a presença desta espécie no estado do Tocantins (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012; MACEDO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2008), com presença de triatomíneos infectados com formas semelhantes ao parasito *T. cruzi*, invadindo e colonizando os domicílios (Anália Gomes, 2012)*.

Pouco se sabe sobre a importância epidemiológica de *T. costalimai*, entretanto, acredita-se na capacidade desta espécie de manter o ciclo enzoótico, permanecendo como reservatório no seu ecótopo natural, constituídos principalmente de rochas. Esta espécie foi capturada no ambiente domiciliar no estado de Goiás (GARCIA-SILVA et al., 1995), o que mostra sua aproximação com os seres humanos e a sinalização da adaptação aos ecótopos artificiais (ISAC et al., 2000). Posteriormente, novamente no cerrado goiano, a espécie demonstra um comportamento sinantrópico com associação a diferentes ambientes, como matas de galeria e floresta seca, mas se destacando principalmente no ambiente peridomiciliar com associação de capturas na estação chuvosa (MACHINER et al., 2012).

*Comunicação pessoal: Anália Fagundes Gomes – Secretaria do estado de Saúde de Tocantins.



Foto: Catarina Macedo

Figura 1- Espécimes fêmea e macho de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B), procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

Considerando o aspecto morfológico do exocório do ovo de *T. costalimai*, a principal característica consiste na presença e ornamentação no exocório do opérculo, porém ausente no corpo do ovo. As características morfológicas desta espécie foram relacionadas as espécies do gênero *Panstrongylus*, onde ambas apresentaram células hexagonais lisas e particularmente sem ornamentação (OBARA et al., 2007).

1.3.2. *Triatoma jatai* Gonçalves, Teves-Neves, Santos-Mallet, Carbajal-de-la-Fuente e Lopes (2013) (Figura 1.b)

A espécie foi capturada no município de Paranã (TO), Brasil, na região do cerrado em afloramentos rochosos, habitat semelhante ao *T. costalimai* (Figura 2). Morfologicamente se distingue desta espécie por apresentar características que variaram desde o tamanho e coloração geral até diferenças no conexivo, asas, tibia e genitália (GONÇALVES et al., 2013).



Figura 2- Afloramentos rochosos característico do estado do Tocantins, Brasil. Fazenda Jataí, município de Paranã.

A técnica da morfometria geométrica das asas possibilitou identificar alterações que separaram *T. costalimai* de *T. jatai*, juntamente com os métodos morfológicos e moleculares (TEVES-NEVES, 2012). O conjunto destas técnicas proporcionou a inserção desta espécie nova ao subcomplexo matogrossensis, como proposto na chave de identificação de Gonçalves et al., (2013) evidenciando sua proximidade filogenética com a espécie *T. costalimai*.

Os aspectos epidemiológicos de *T. jatai* são desconhecidos e não foram relatados casos de infecção por formas semelhantes ao parasito *T. cruzi*. Atualmente esta espécie está mais restrita ao ambiente silvestre sugerindo baixo risco de transmissão da doença de Chagas, porém três exemplares foram encontrados em associação ao ambiente peridomiciliar no ano de 2011, provenientes de uma fazenda do município de Paranã – TO (Comunicação Pessoal: Adriana Feitosa, SESAU-TO; TEVES-NEVES, 2012). Apesar dos espécimes não estarem infectados, este encontro reforça a importância do estudo desta espécie, bem como das ações de controle vetorial nesta região.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Comparar os aspectos morfológicos e morfométricos dos ovos de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar a análise morfométrica das principais estruturas dos ovos de *T. costalimai* e *T. jatai*;
- Descrever a morfologia das células exocoriais dos ovos pelas técnicas de Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- Mensurar e classificar as formas das células exocoriais do opérculo e do corpo do ovo;
- Quantificar estas células de acordo com a sua conformação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Procedência do material estudado

Os ovos examinados procedem de espécimes de *T. costalimai* e *T. jatai* provenientes de duas colônias mantidas no insetário do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses / Setor de Entomologia Médica e Forense do Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ. A colônia de *T. jatai*, foi obtida a partir de espécimes capturados no ano de 2010, no município de Paranaíba e a colônia de *T. costalimai* do município Aurora do Tocantins (Figura 3). Estas foram acondicionadas e mantidas em recipientes de vidro, fechados com tela de náilon, contendo em seu interior papel filtro sanfonado para aumentar a superfície de contato e retirar o excesso de umidade. Os insetos foram mantidos em ambiente climatizado a 25°C e 75% UR, alimentados quinzenalmente com sangue de camundongos suíços (Licença CEUA LW-4/13).

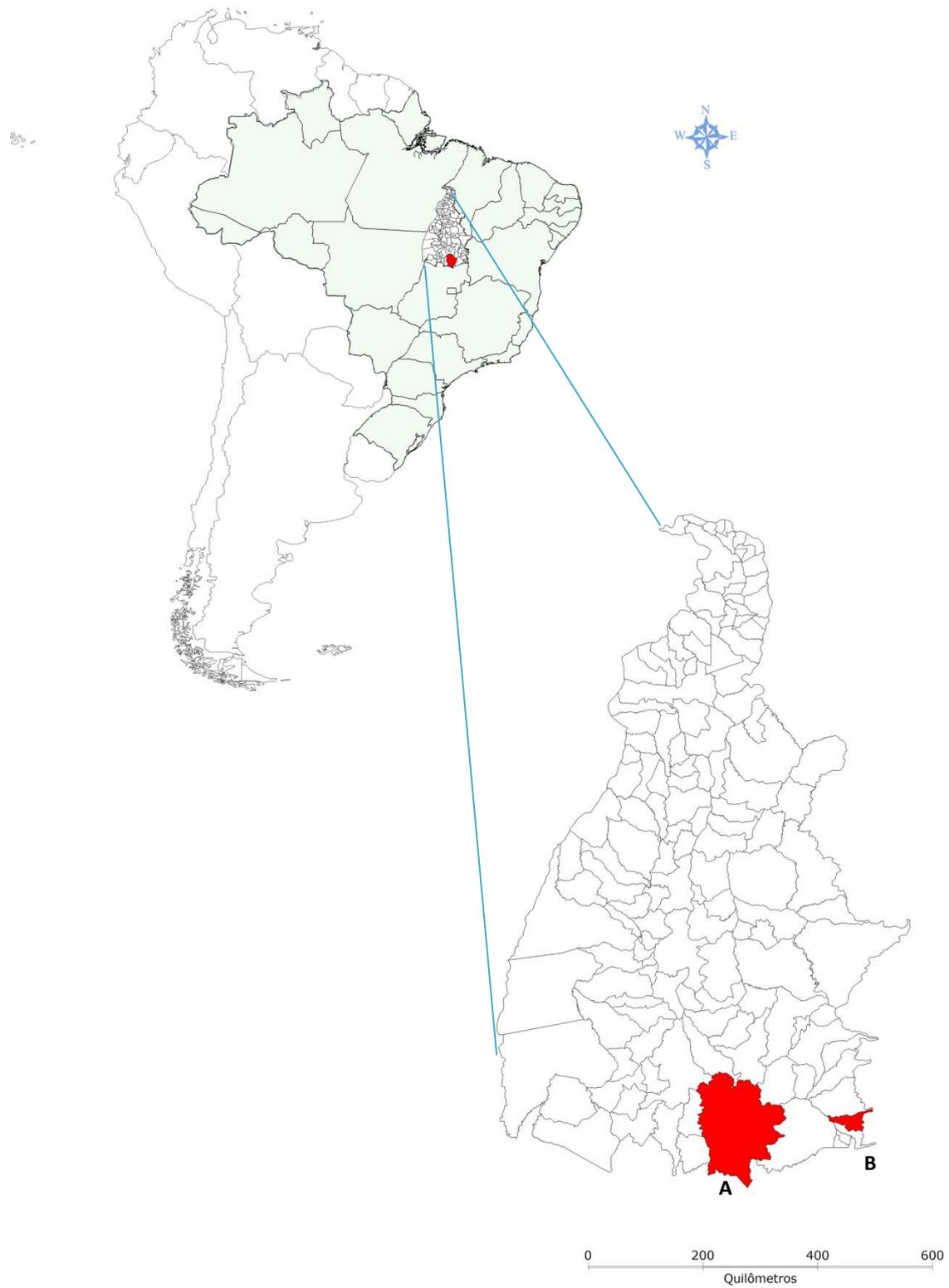


Figura 3- Estado do Tocantins, Brasil. Destaque aos municípios: A- Paranã e B- Aurora do Tocantins.

3.2. Morfometria

Foram selecionados 40 ovos não eclodidos de cada espécie e dispostos sobre um suporte feito com massa de modelar sobre lâmina de vidro (Figura 4) para medição do comprimento e largura em microscópio estereoscópico Stemi SV 6 ZEISS GERMANY, com ocular graduada W-PI 10x/23 e aumento de 10x0,8. As análises estatísticas foram feitas utilizando os testes ANOVA e Teste t.

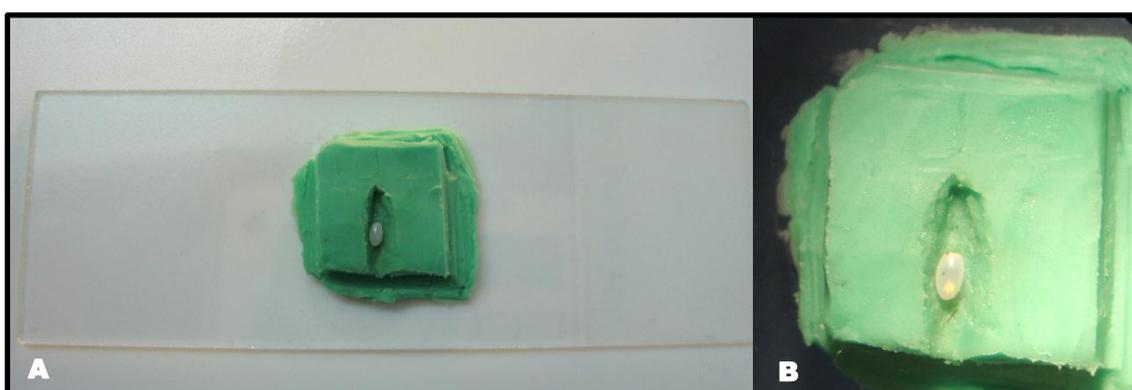


Figura 4- Suporte feito com massa de modelar sobre lâmina de vidro, utilizado para a medição dos ovos (A). Zoom (B).

3.3. Microscopia Óptica

Foram selecionados aleatoriamente cinco ovos das espécies *T. costalimai* e *T. jatai*, com seus respectivos opérculos. O aspecto geral foi desenhado em microscópio estereoscópico Stemi SV 11 ZEISS acoplado com câmara clara, aumento de 10x21x4, bem como opérculo e o corpo do ovo. O corpo do ovo foi fragmentado, com o auxílio de um estilete, em três regiões: cefálica, mediana e caudal (Figura 5), para a observação das diferenças na ornamentação exocorial. Na sequência, utilizando a nova metodologia descrita no laboratório, imergiu-se o opérculo e os três fragmentos em solução de Berlese, por 72 horas e em seguida os mesmos foram montados entre lâmina e lamínula para a confecção dos desenhos em microscópio óptico Nikon eclipse E200, acoplado com câmara clara (10x1 e 25x40). No opérculo foi desenhada a região central e no corpo do ovo as três regiões. O corpo do ovo da espécie *T. costalimai* foi desenhado a seco, pois após a imersão em solução de Berlese houve dificuldade na visualização dos limites celulares.

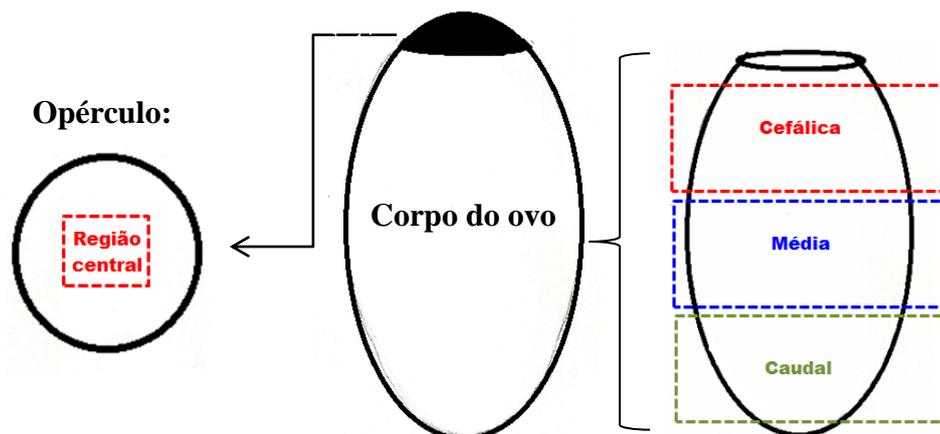


Figura 5- Esquema do ovo de triatomíneo evidenciando o opérculo e o corpo do ovo, subdivido em três regiões: cefálica, mediana e caudal.

3.4. Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram selecionados aleatoriamente 10 ovos eclodidos das espécies *T. costalimai* e *T. jataí*, o material foi montado em fita adesiva presa a um suporte metálico com 1,2 cm de diâmetro (Figura 6) e metalizado com ouro para observação ao Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL-JSM-6390-LV) da Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth – FIOCRUZ.

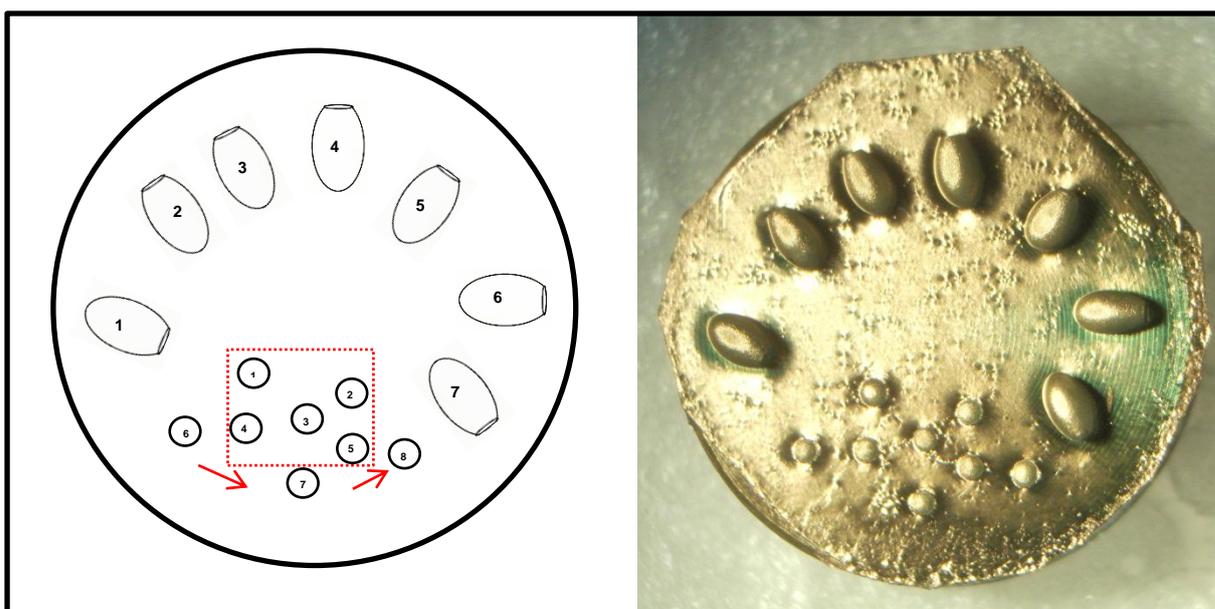


Figura 6- A- Esquema da montagem de ovos de triatomíneos, com seus respectivos opérculos; B- suporte com parte do material metalizado.

As imagens fotografadas para cada espécie foram padronizadas em três etapas: 1) – Três fotos do opérculo (OP) e corpo do ovo (CO) respectivamente, com aumento de 1.000x e 10 μm ; 2) – No OP, duas fotos próximas ao bordo e uma na região central (Figura 7) e no exocório do corpo do ovo uma foto de cada região: cefálica, mediana e caudal (Figura 5); 3) – De cada foto, foram contabilizadas dez células, analisando um total de 600 células de cada espécie. Notou-se a necessidade de obter duas fotos da região mediana dos ovos de *T. costalimai* devido ao maior tamanho de suas células exocoriais.

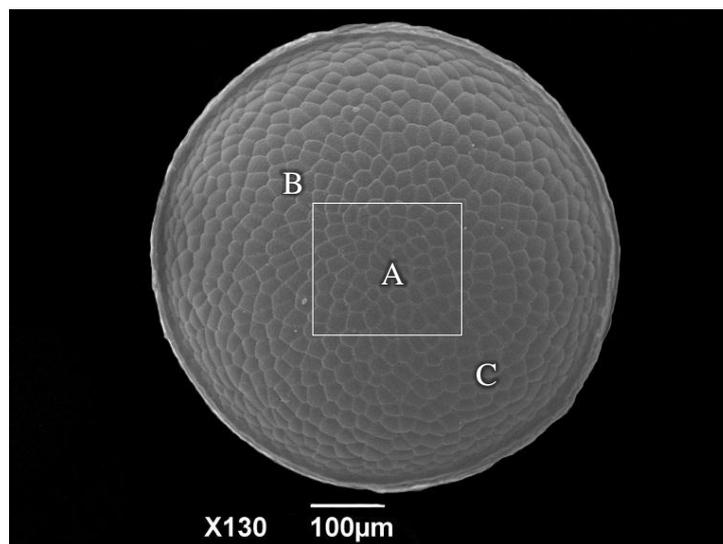


Figura 7- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do opérculo do ovo, da forma circular e convexa, de *Triatoma costalimai*. A- Região central do exocório do opérculo. B-C Regiões laterais do exocório do opérculo do ovo.

As imagens fotografadas foram analisadas no programa SemAfore 5.2 (JEOL, 2010). Foram mensuradas as áreas das células exocoriais e quantificadas as pontuações (Figura 8). Com base nos valores obtidos, foi feito o cálculo da média e desvio padrão para cada uma das espécies. As análises estatísticas foram feitas através dos testes ANOVA e teste t.

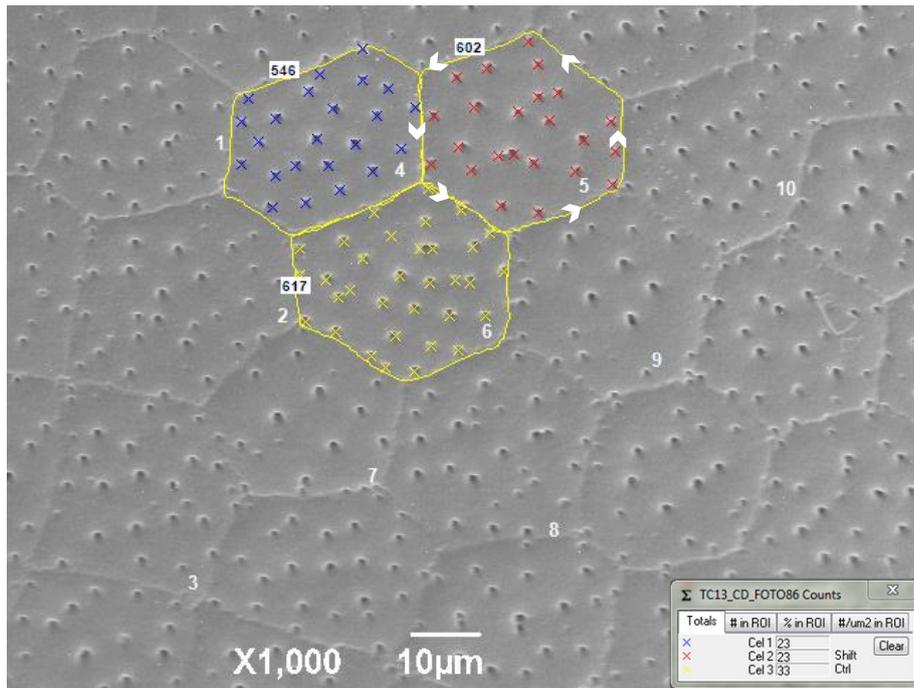


Figura 8- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* ilustrando o procedimento de mensuração de área de células (linha contínua e setas) e mostrando as pontuações quantificadas com o auxílio do programa SemAfore 5.2 (x sobre as pontuações).

Para a análise da borda corial verificou-se a presença de aerópilas, micrópilas e goteira espermática em *T. costalimai* e *T. jatai*, pela técnica de MEV. Foram selecionados aleatoriamente quatro ovos inteiros de cada espécie e os demais ovos eclodidos utilizados nas análises descritas anteriormente.

4. RESULTADOS

4.1. Morfometria

Na tabela 1 estão representados os valores do comprimento, da largura, das médias e do desvio padrão obtidos de 40 ovos, não eclodidos, das espécies *T. costalimai* e *T. jatai*.

O comprimento dos ovos da espécie *T. costalimai* apresenta uma média de 2,20 mm \pm 0,1, enquanto *T. jatai* 1,88 mm \pm 0,08. Os resultados dos testes estatísticos evidenciam uma diferença significativa entre as duas espécies ($p < 0,001$). Quando relacionado à largura *T. costalimai* apresenta uma média de 1,16 mm \pm 0,08 e *T. jatai* 1,11 mm \pm 0,04, também apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) (Figura 9; Tabela 2).

Tabela 1- Comprimento e largura (mm) de ovos de populações de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

| Nº | <i>Triatoma costalimai</i> | | <i>Triatoma jatai</i> | |
|-----------------------------|----------------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | C | L | C | L |
| 1 | 2,38 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 2 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 3 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 4 | 2,25 | 1,25 | 1,88 | 1,13 |
| 5 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,00 |
| 6 | 2,50 | 1,13 | 1,75 | 1,13 |
| 7 | 2,25 | 1,25 | 1,88 | 1,13 |
| 8 | 2,38 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 9 | 2,00 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 10 | 2,25 | 1,00 | 1,88 | 1,13 |
| 11 | 2,13 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 12 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 13 | 2,13 | 1,00 | 2,00 | 1,13 |
| 14 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 15 | 2,13 | 1,25 | 1,88 | 1,00 |
| 16 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,00 |
| 17 | 2,25 | 1,25 | 1,88 | 1,13 |
| 18 | 2,13 | 1,13 | 2,00 | 1,13 |
| 19 | 2,25 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 20 | 2,25 | 1,25 | 1,75 | 1,13 |
| 21 | 2,25 | 1,25 | 2,00 | 1,13 |
| 22 | 2,25 | 1,25 | 2,00 | 1,13 |
| 23 | 2,13 | 1,13 | 1,75 | 1,13 |
| 24 | 2,13 | 1,25 | 1,88 | 1,13 |
| 25 | 2,13 | 1,13 | 2,00 | 1,13 |
| 26 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 27 | 2,25 | 1,13 | 1,75 | 1,13 |
| 28 | 2,13 | 1,25 | 1,88 | 1,13 |
| 29 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 30 | 2,00 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 31 | 2,25 | 1,00 | 1,88 | 1,13 |
| 32 | 2,00 | 1,00 | 1,88 | 1,13 |
| 33 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 34 | 2,25 | 1,13 | 2,00 | 1,13 |
| 35 | 2,13 | 1,25 | 2,00 | 1,13 |
| 36 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 37 | 2,25 | 1,13 | 2,00 | 1,13 |
| 38 | 2,25 | 1,13 | 1,88 | 1,13 |
| 39 | 2,13 | 1,13 | 1,88 | 1,00 |
| 40 | 2,25 | 1,13 | 2,00 | 1,13 |
| \bar{X} | 2,20 | 1,16 | 1,88 | 1,11 |
| S | 0,10 | 0,08 | 0,08 | 0,04 |

C: Comprimento; L: Largura; \bar{X} : Média; S: Desvio Padrão.

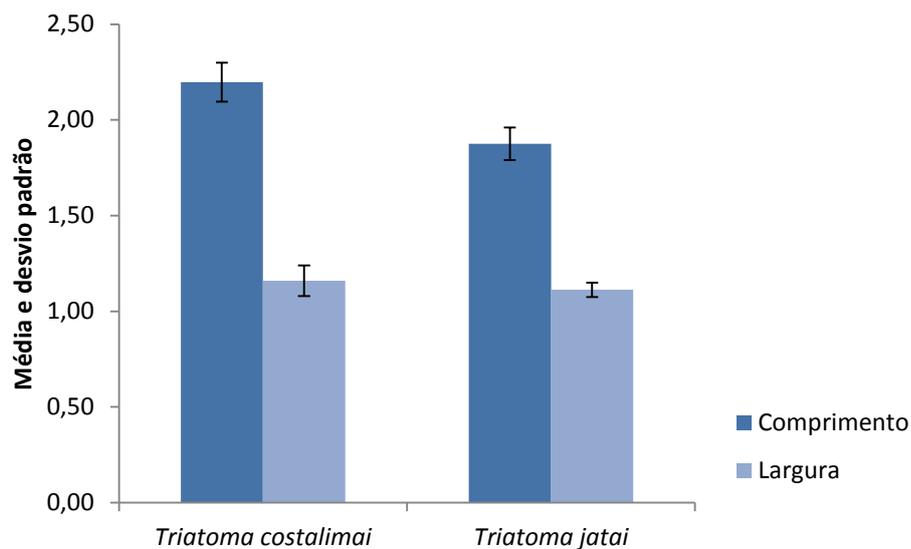


Figura 9- Valores da média e desvio padrão do comprimento e largura (mm) de ovos de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, proveniente do estado do Tocantins, Brasil.

Tabela 2 - Medidas dos ovos (mm) de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai*, provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

| Espécies | N | Comprimento | | | Largura | | |
|----------------------------|----|-------------|-------|---------------|-------------|-------|---------------|
| | | Amplitude | Média | Desvio Padrão | Amplitude | Média | Desvio Padrão |
| <i>Triatoma costalimai</i> | 40 | 2,00 - 2,50 | 2,20* | 0,10 | 1,00 - 1,25 | 1,16* | 0,08 |
| <i>Triatoma jatai</i> | 40 | 1,75 - 2,00 | 1,88* | 0,08 | 1,00 - 1,13 | 1,11* | 0,04 |

* p < 0,05

4.2. Aspectos da morfologia em MO

Os resultados obtidos demonstram que os ovos de *T. costalimai* e *T. jatai* possuem forma elipsoide, com opérculo convexo e arredondado (Figura 4.2).

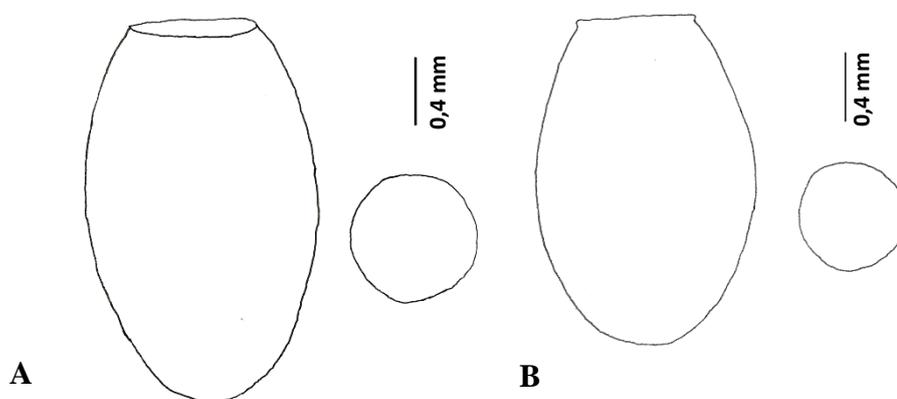


Figura 10- Aspecto geral do ovo da espécie. A - *Triatoma costalimai* e B- *Triatoma jatai*.

4.2.1. *Triatoma costalimai*

As células do exocório do opérculo apresentam predominância de pontuações e raras linhas, que recobrem a superfície celular, contudo as células próximas ao bordo não apresentam ornamentações visíveis (Figura 11).

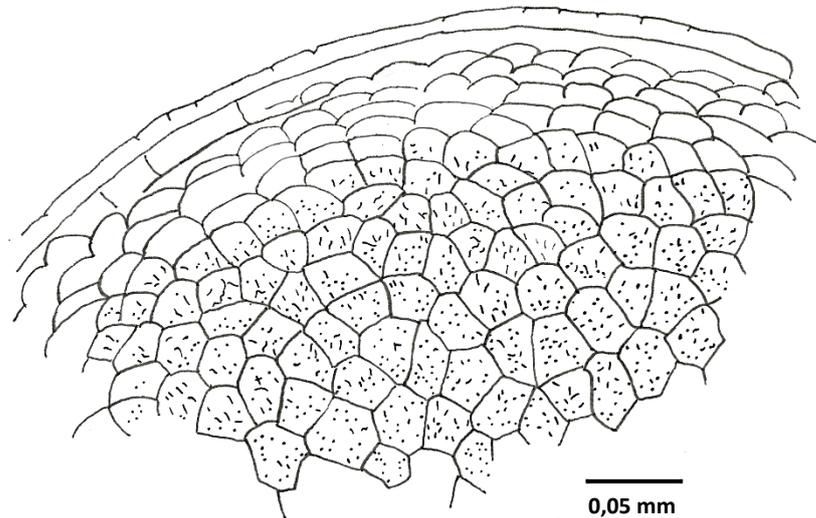


Figura 11- Exocório do opérculo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

O exocório do corpo do ovo, representado pelas regiões cefálica, mediana e caudal apresenta uma ornamentação formada por pontuações que preenchem a superfície celular, conforme demonstrado nas Figuras 12,13 e 14.

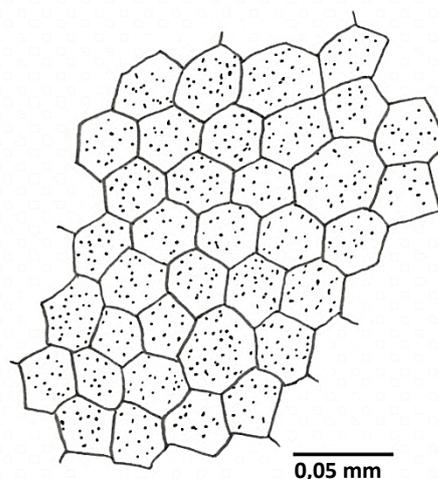


Figura 12- Região cefálica do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

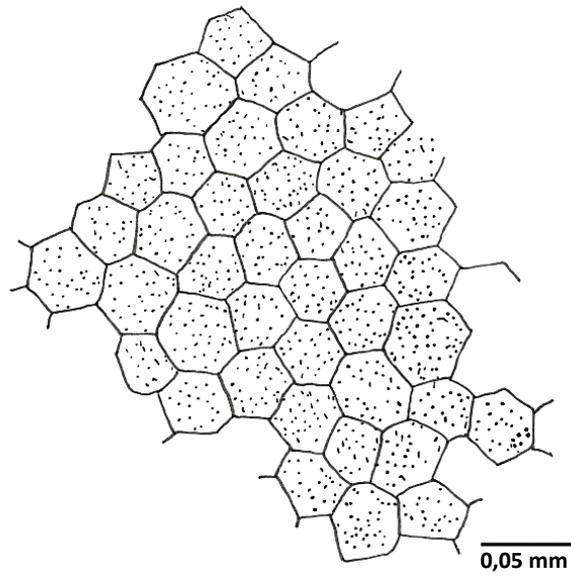


Figura 13- Região mediana do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

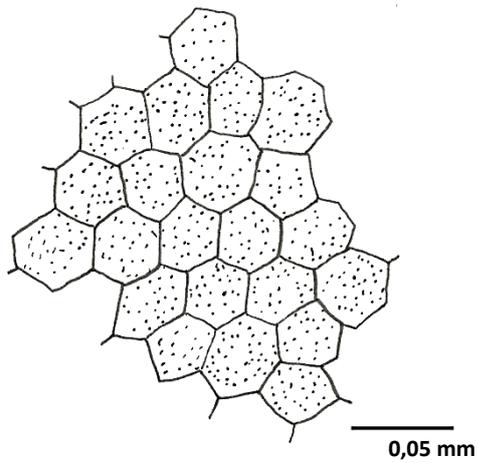


Figura 14- Região caudal do exocório do corpo do ovo, da espécie *Triatoma costalimai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

4.2.2. *Triatoma jatai*

As células do exocório do opérculo apresentam linhas curtas dispersas por toda superfície celular, raras pontuações nas células próximas ao bordo e células sem ornamentação margeando o mesmo (Figura 15).

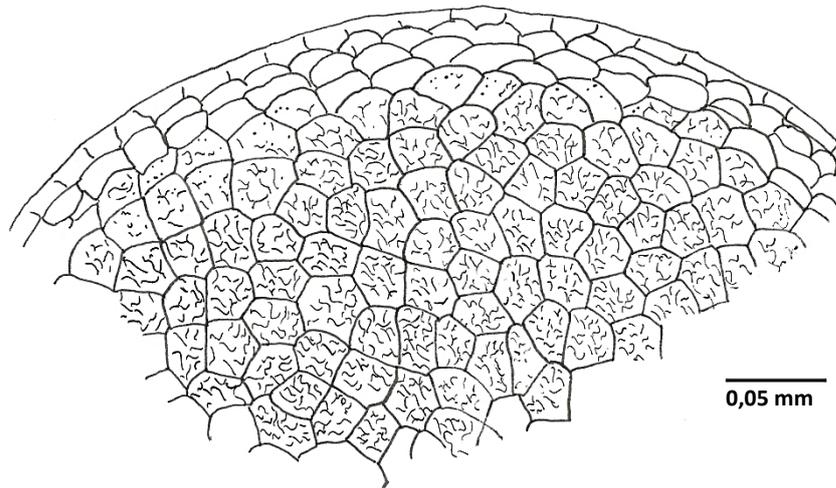


Figura 15- Exocório do opérculo da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

O exocório do corpo do ovo manteve o mesmo padrão de ornamentação nas três regiões (cefálica, mediana e caudal), com a predominância de linhas e raras pontuações (Figura 16, 17 e 18).

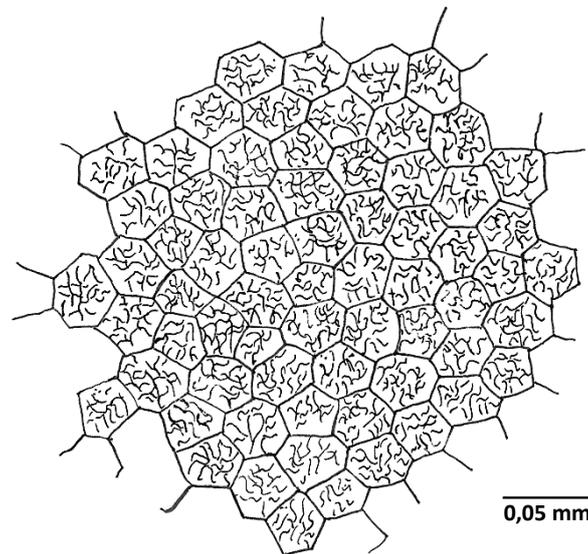


Figura 16- Região cefálica do exocório do corpo do ovo, da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil

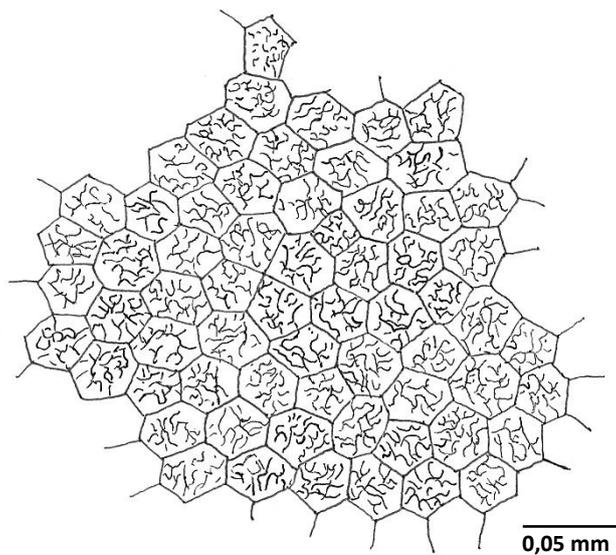


Figura 17- Região mediana do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

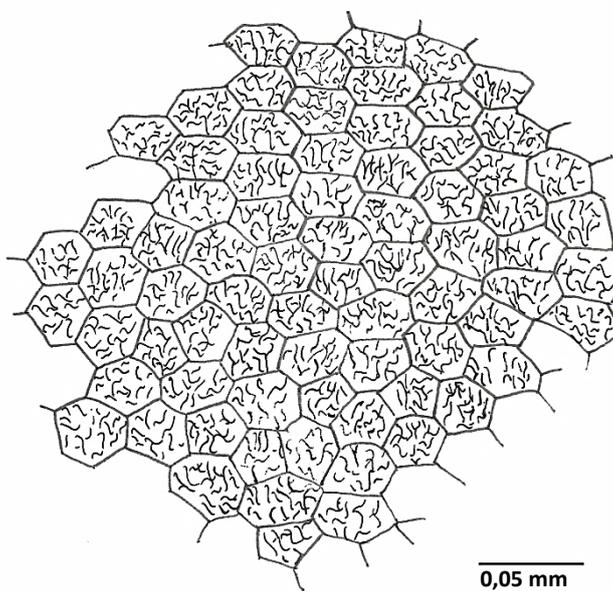


Figura 18- Região caudal do exocório do corpo do ovo da espécie *Triatoma jatai* procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

4.3. Aspecto geral da morfologia em MEV

Os opérculos dos ovos de *T. costalimai* e *T. jatai* apresentam forma circular, convexa e suas células de bordos retos e/ou arredondados, com tamanhos diferentes e de aspectos acolchoado (Figura 19). As células da região central exibem uma ornamentação visível, onde estão presentes inúmeras pontuações, porém na faixa mais próxima ao bordo, as células apresentam forma pouco definida e na maioria das vezes desprovida de ornamentação (Figura 20).

Nos ovos eclodidos, nota-se em *T. jatai* a maior continuidade da borda, ou seja, com maior espessura, enquanto *T. costalimai* os ovos apresentam um bordo mais demarcado (Figura 21).

O corpo do ovo de *T. costalimai* mostra uma borda corial saliente com orifícios pequenos, representado pelas aerópilas (Ae), logo abaixo a goteira espermática (Ge), onde estão presentes os orifícios maiores, as micrópilas (Mc) (Figura 22a). Na borda corial de *T. jatai* são identificadas em maior número as aerópilas, logo abaixo e em menor número as micrópilas, não sendo observando a goteira espermática nesta espécie (Figura 22b).

No ovo inteiro, a goteira espermática presente apenas em *T. costalimai* foi novamente visualizada (Figura 23a), enquanto que nos ovos da espécie *T. jatai* encontramos apenas a presença das aerópilas e micrópilas (Figura 23b).

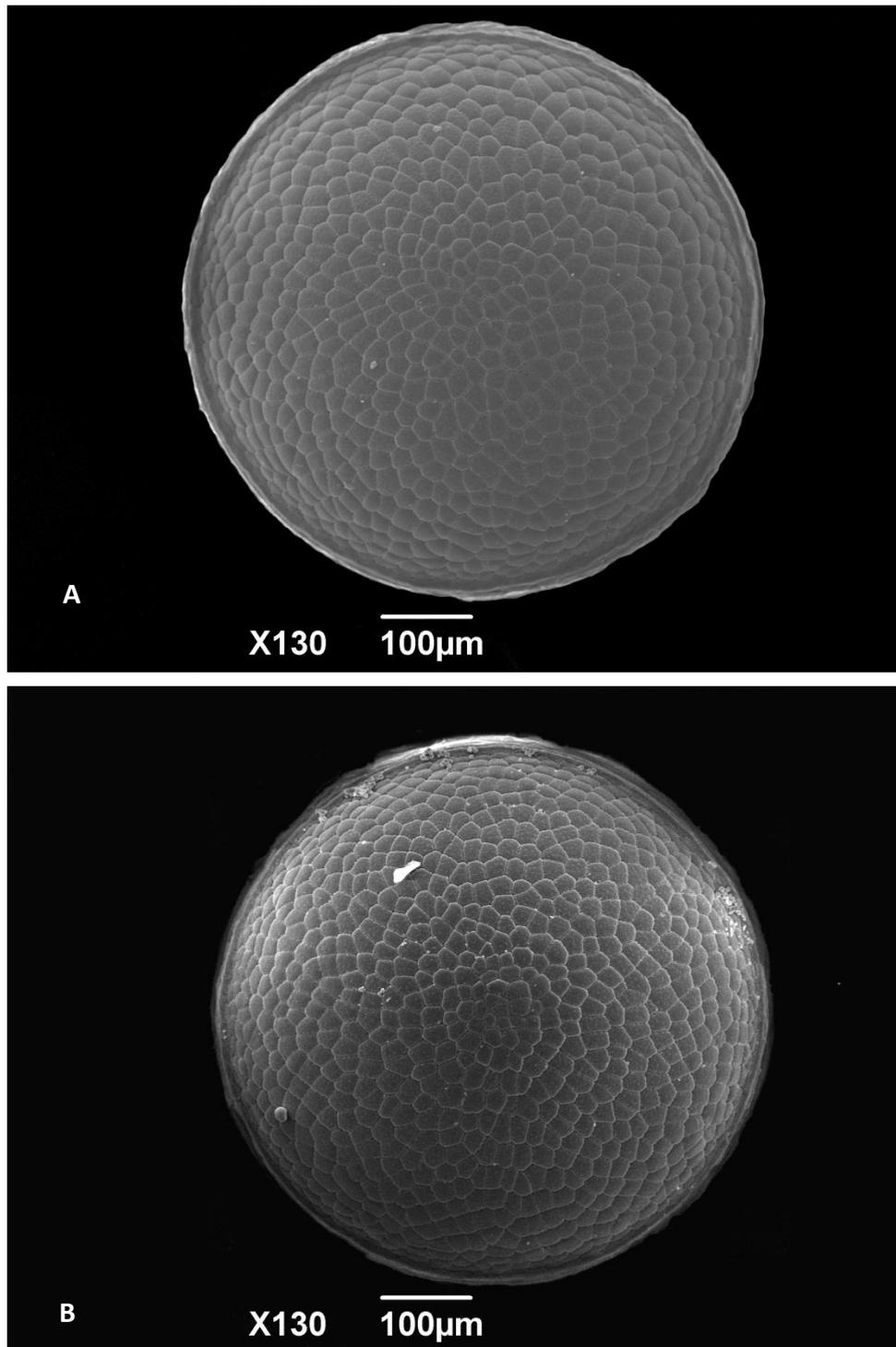


Figura 19- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura dos opérculos dos ovos de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B).

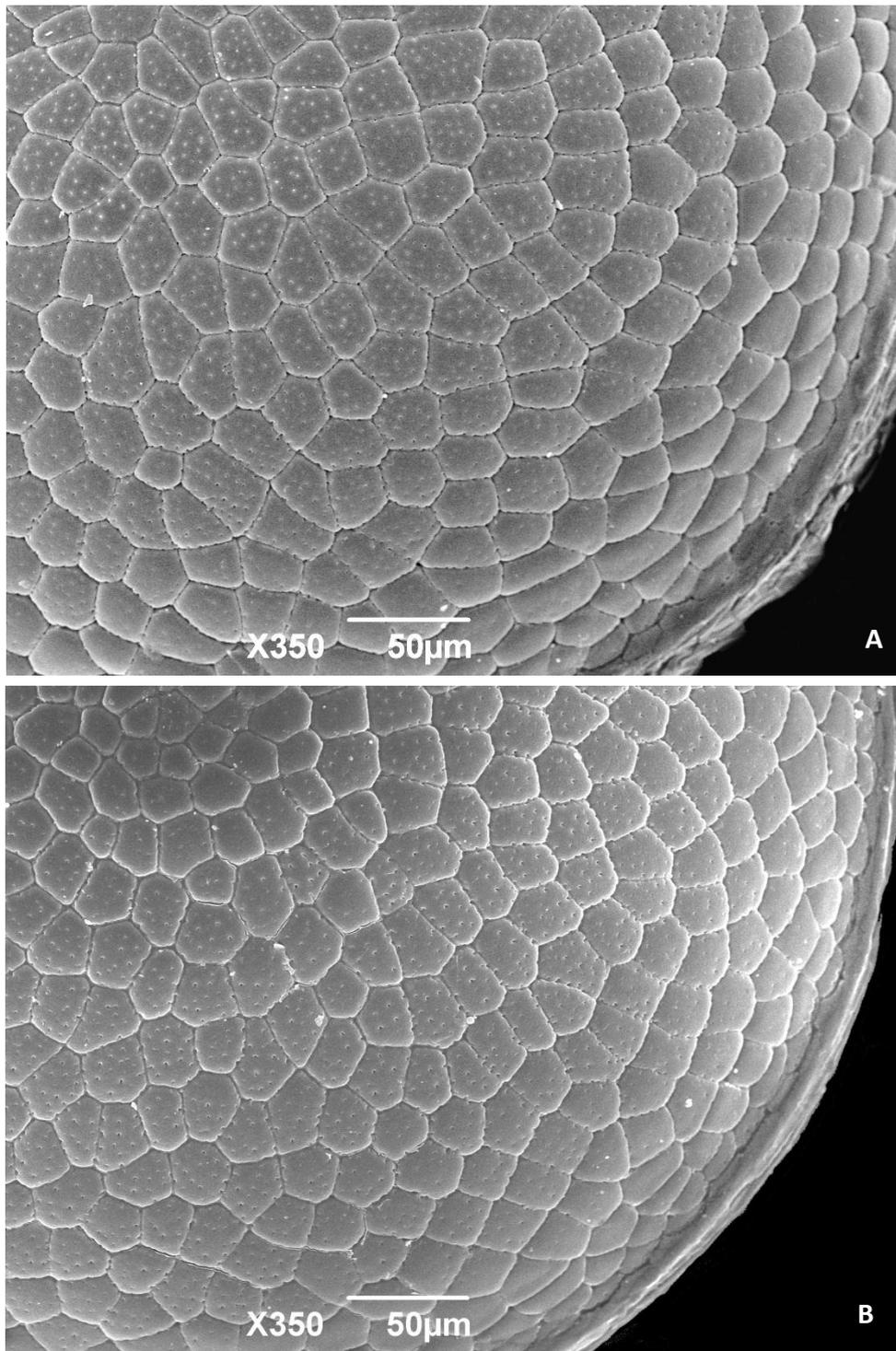


Figura 20- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do bordo do opérculo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B), com células menores mais próximas ao bordo, com formas pouco definidas com pouca ou nenhuma ornamentação.

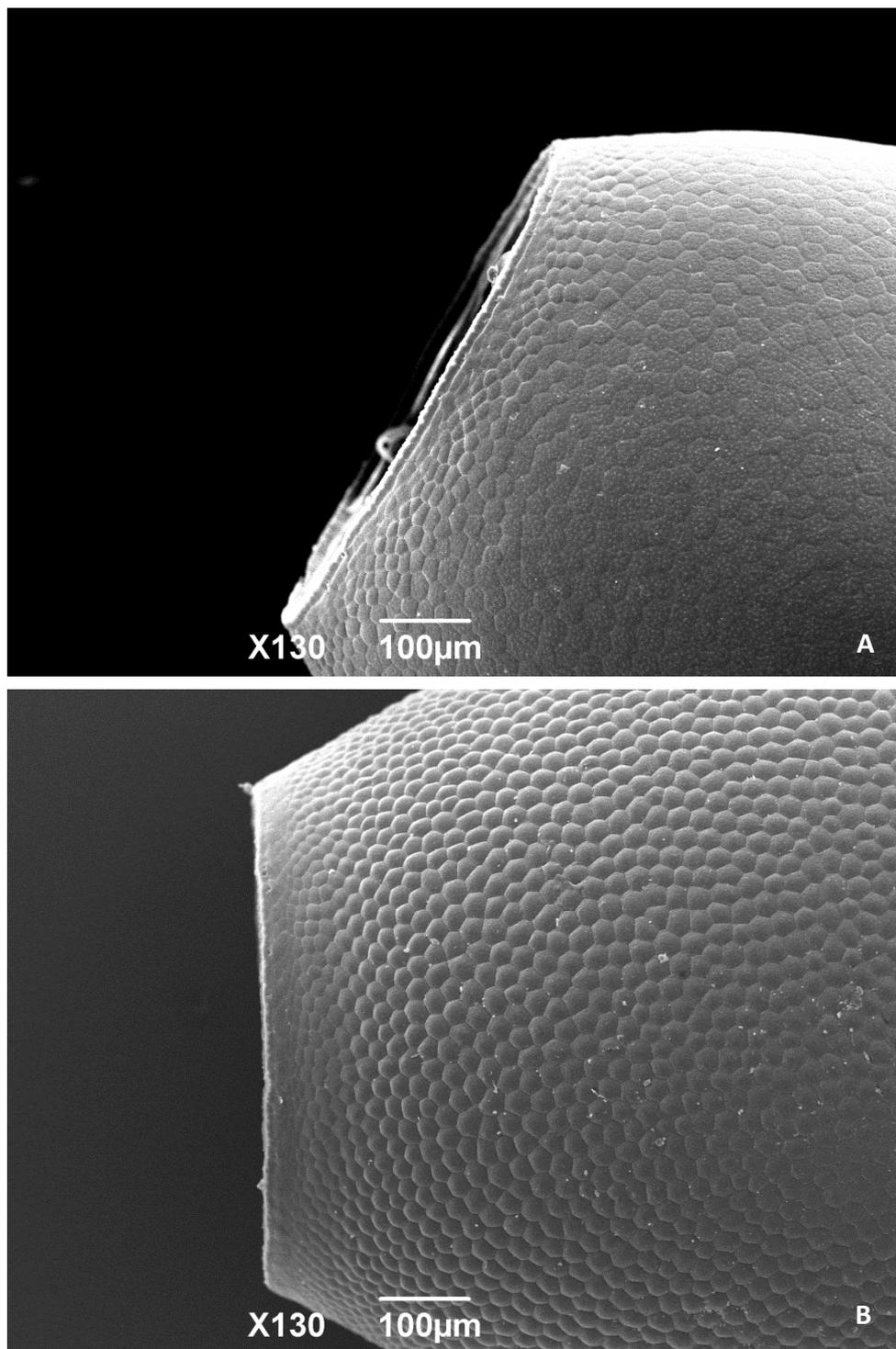


Figura 21- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do aspecto geral do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B), provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

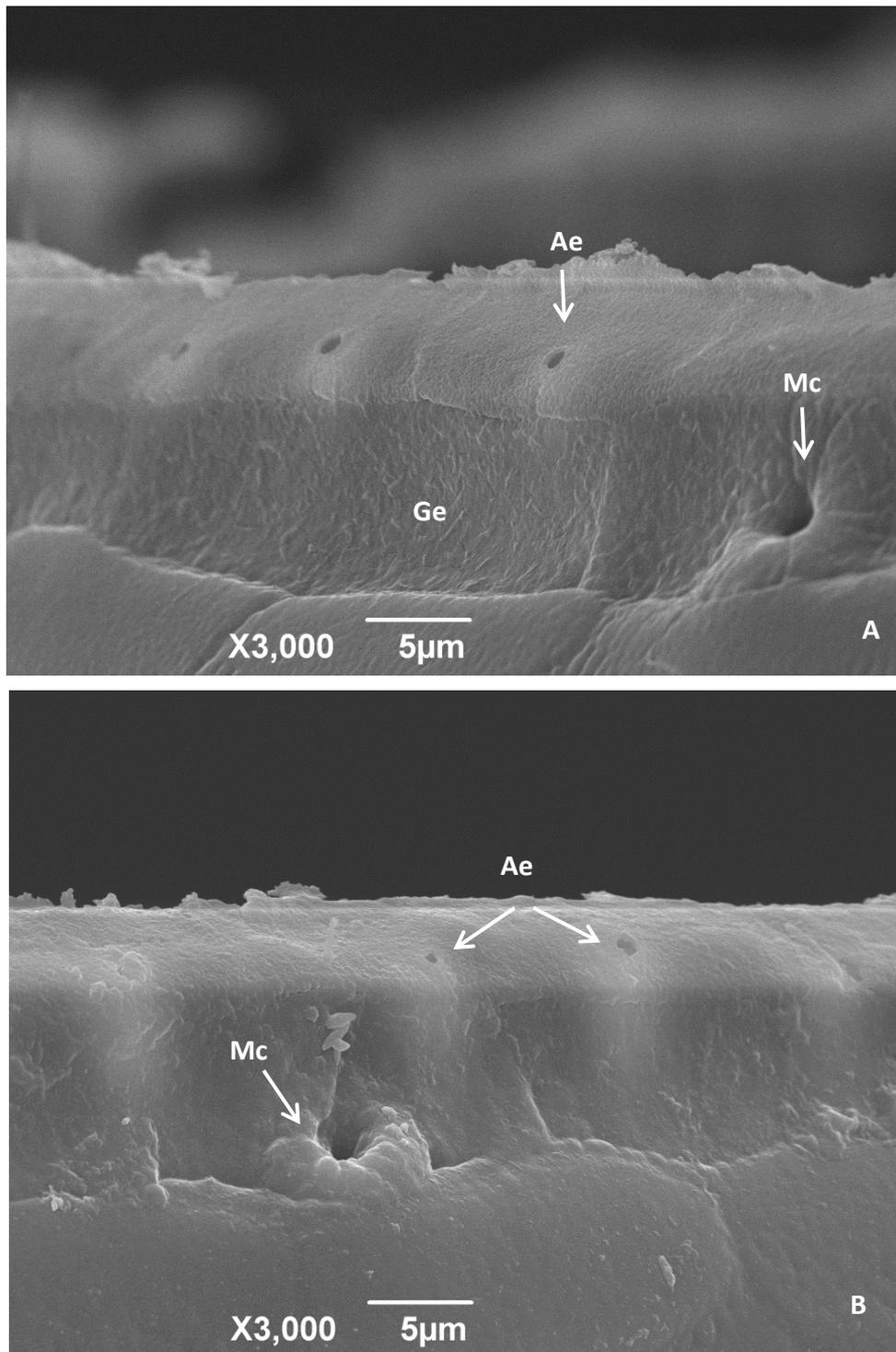


Figura 22- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da borda corial do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B) provenientes do estado do Tocantins, Brasil. (Ae – aerópila, Ge – Goteira espermática e Mc – Micrópila).

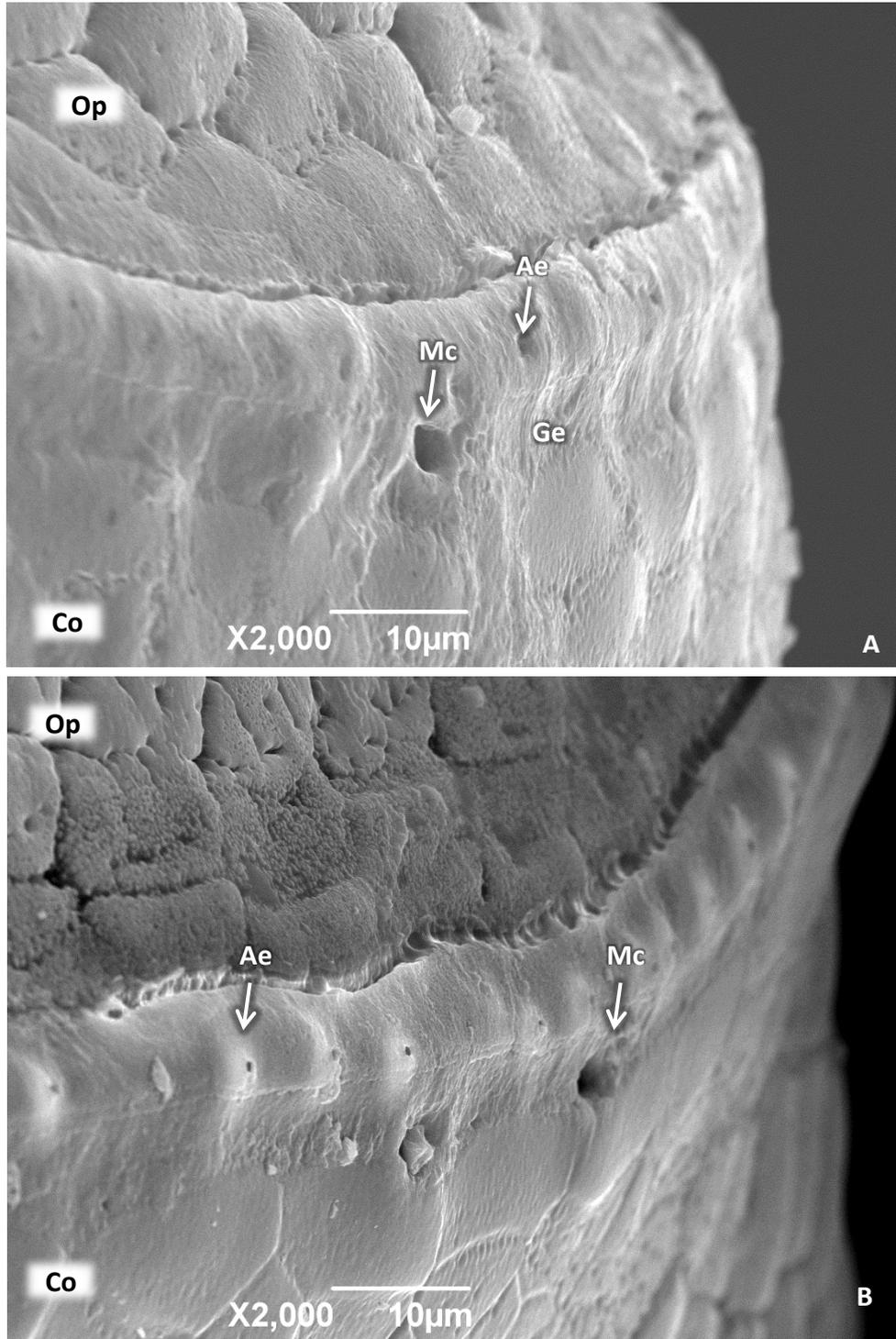


Figura 23- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da borda corial do ovo inteiro de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B), provenientes do estado do Tocantins, Brasil. Ae – aerópila, Ge – Goteira espermática, Mc – Micrópila, Op – opérculo e Co – Corpo do ovo.

Em *T. costalimai* as células do exocório do opérculo apresentam aspecto acolchoado com numerosas pontuações distribuídas em toda a superfície celular e nas regiões de contato entre as mesmas, onde são numerosas conferindo aspecto picotado (Figura 4.16).

As células do exocório do corpo do ovo das três regiões (cefálica, mediana e caudal) são planas e apresentam em seus bordos pontuações, sendo que na região caudal existe um número expressivo que confere ao bordo um aspecto irregular (Figura 4.17, 4.18 e 4.19).

Em *T. jatai* o exocório do opérculo apresenta células com aspecto acolchoado e pontuações dispersas, alongadas ou unidas entre si. Com relação ao último aspecto nota-se a presença de duas pontuações tão próximas que podem confundir com uma de aspecto alongado. Algumas raras vezes as pontuações são observadas nos limites entre duas células (Figura 4.16).

O exocório do corpo do ovo apresentam células com aspecto acolchoado e pontuações frequentes, porém raras vezes foram observadas pontuações alongadas, unidas entre si ou encontradas próximas aos limites celulares. As células do corpo do ovo apresentam-se semelhantes às células do opérculo e os limites das células são bem demarcados (Figura 4.17, 4.18 e 4.19).

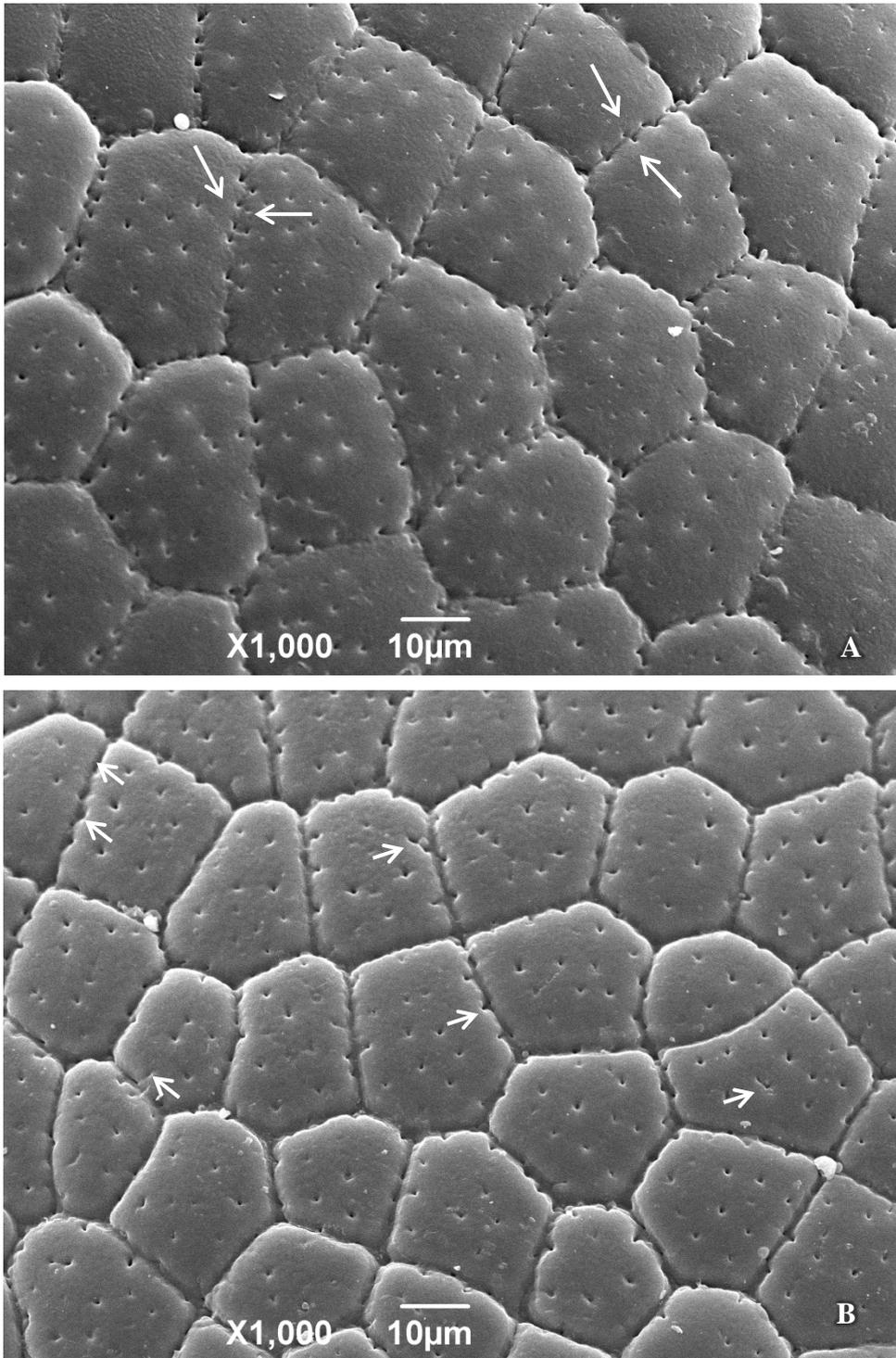


Figura 24- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura do exocório do opérculo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B) proveniente do estado do Tocantins. Pontuações fundidas e/ou próximas ao bordo celular (seta).

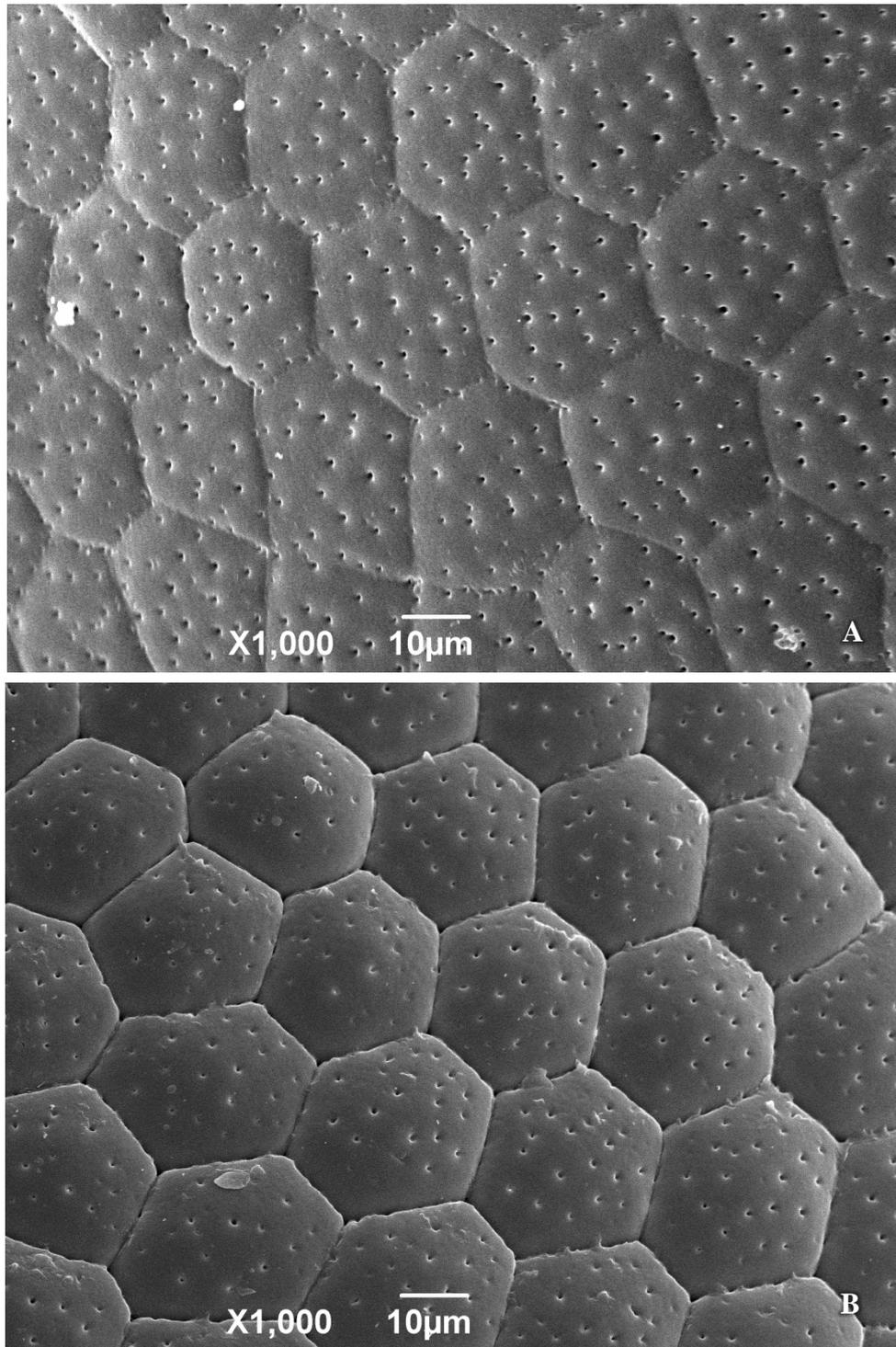


Figura 25- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região cefálica do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

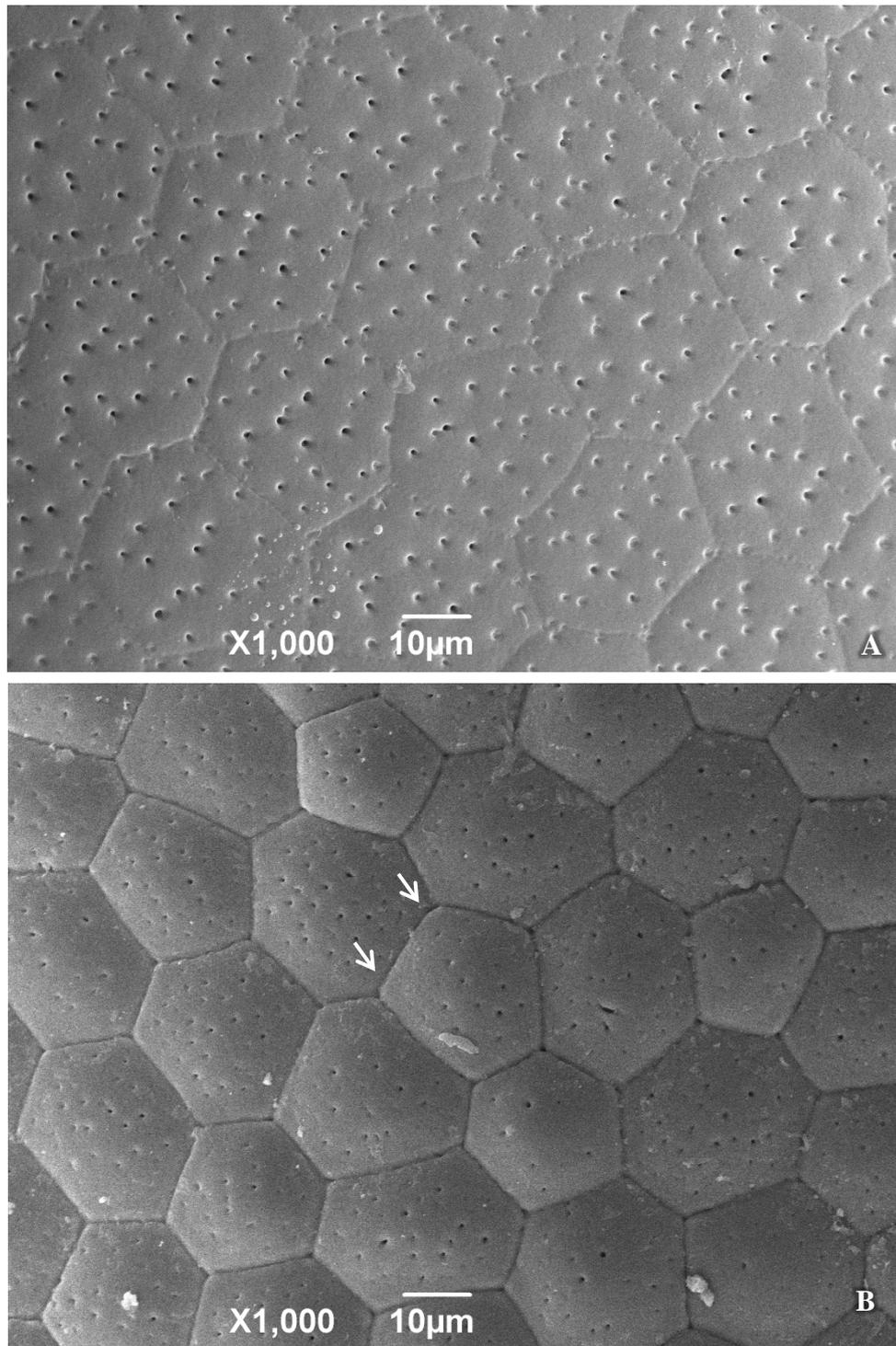


Figura 26- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região mediana do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil. Aspecto acolchoado com bordos bem demarcados (seta).

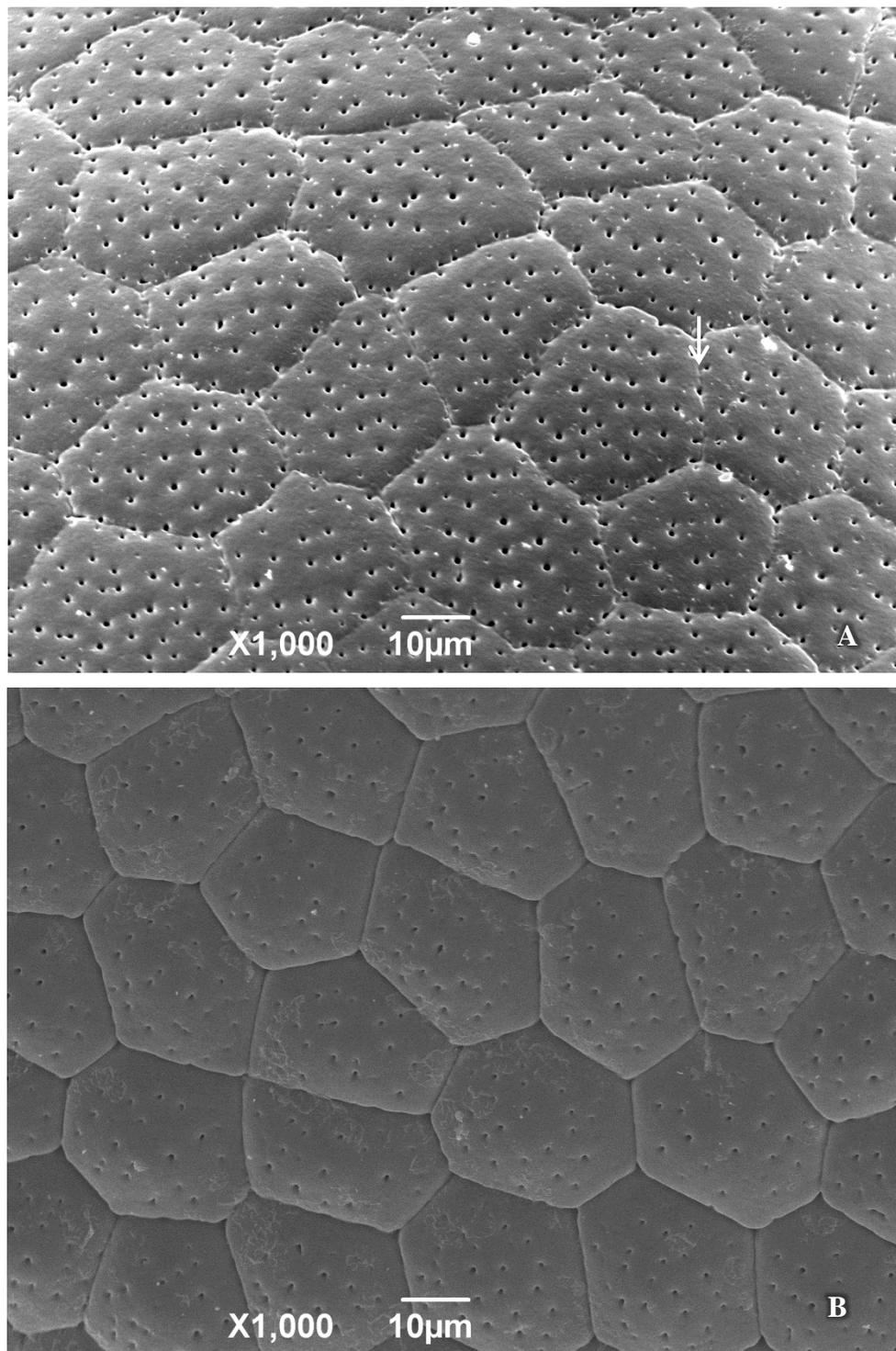


Figura 27- Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura da região caudal do exocório do corpo do ovo de *Triatoma costalimai* (A) e *Triatoma jatai* (B) procedentes do estado do Tocantins, Brasil.

4.4. Formas geométricas exocoriais

As células do exocório de *T. costalimai* e *T. jatai*, variam de forma quadrilátera a heptagonal. Na análise das 600 células de cada espécie, sendo 300 do opérculo e 300 do corpo do ovo, houve uma predominância das células pentagonais no opérculo e hexagonais no corpo do ovo, para ambas as espécies (Tabela 3).

O opérculo da espécie *T. costalimai* apresenta 46 células quadriláteras (15,33%), 154 pentagonais (51,33%), 92 hexagonais (30,67%) e 8 heptagonais (2,67%). A espécie *T. jatai* apresenta 30 células quadriláteras (10%), 148 pentagonais (49,33%), 111 hexagonais (37%), 11 heptagonais (3,67%) (Tabela 3).

O corpo do ovo de *T. costalimai* apresenta 9 células quadriláteras (3%), 88 pentagonais (29,33%), 183 hexagonais (61%) e 20 heptagonais (6,67%). A espécie *T. jatai* apresenta 54 células pentagonais (18%), 205 hexagonais (68,33%), 41 heptagonais (13,67%) e não sendo registrada a presença de células quadriláteras (Tabela 3).

Os maiores percentuais de incidência das formas poligonais do opérculo, em *T. costalimai* e *T. jatai* são, em ordem decrescente: pentagonal, hexagonal, quadrilátera e heptagonal. Para o corpo do ovo em ambas as espécies e em ordem decrescente, as formas são: hexagonal, pentagonal, heptagonal e quadrilátera (Tabela 3).

As formas geométricas das células encontradas nas regiões cefálica, mediana e caudal do exocório do corpo do ovo estão apresentadas na Figura 28. Ressalta-se a predominância da forma hexagonal em todas as regiões e a ausência de células quadriláteras no exocório de *T. jatai*, como também na região mediana de *T. costalimai*. As células pentagonais foram mais evidentes que as heptagonais em *T. costalimai*. Na espécie *T. jatai*, as células pentagonais são quase equivalentes as heptagonais nas três áreas.

A representação das células nas três regiões mostra que a região cefálica de *T. costalimai* apresenta 3% de células quadriláteras, 31% pentagonais, 59% hexagonais e 7% heptagonais; na região mediana 23% das células são pentagonais 69% hexagonais e 8% heptagonais; e na região caudal 6% são quadriláteras, 34% pentagonais, 55% hexagonais e 5% heptagonais. O exocório de *T. jatai* apresenta na região cefálica 13% das células pentagonais, 76% hexagonais e 11% heptagonais; na região mediana 19% das células são pentagonais, 64% hexagonais e 17% heptagonais; e na região caudal 22% são pentagonais, 65% hexagonais, 13% heptagonais (Figura 28).

Tabela 3 - Formas geométricas das células exocoriais do opérculo e do corpo do ovo, observados em Microscopia Eletrônica de Varredura, das espécies *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* proveniente no estado do Tocantins, Brasil.

| Forma da célula | Opérculo | | | | Corpo do ovo | | | |
|-----------------|----------------------|------------|-----------------|------------|----------------------|------------|-----------------|------------|
| | <i>T. costalimai</i> | | <i>T. jatai</i> | | <i>T. costalimai</i> | | <i>T. jatai</i> | |
| | Total | % | Total | % | Total | % | Total | % |
| Quadrilátera | 46 | 15,33 | 30 | 10,00 | 9 | 3,00 | 0 | 0 |
| Pentagonal | 154 | 51,33 | 148 | 49,33 | 88 | 29,33 | 54 | 18,00 |
| Hexagonal | 92 | 30,67 | 111 | 37,00 | 183 | 61,00 | 205 | 68,33 |
| Heptagonal | 8 | 2,67 | 11 | 3,67 | 20 | 6,67 | 41 | 13,67 |
| Total | 300 | 100 | 300 | 100 | 300 | 100 | 300 | 100 |

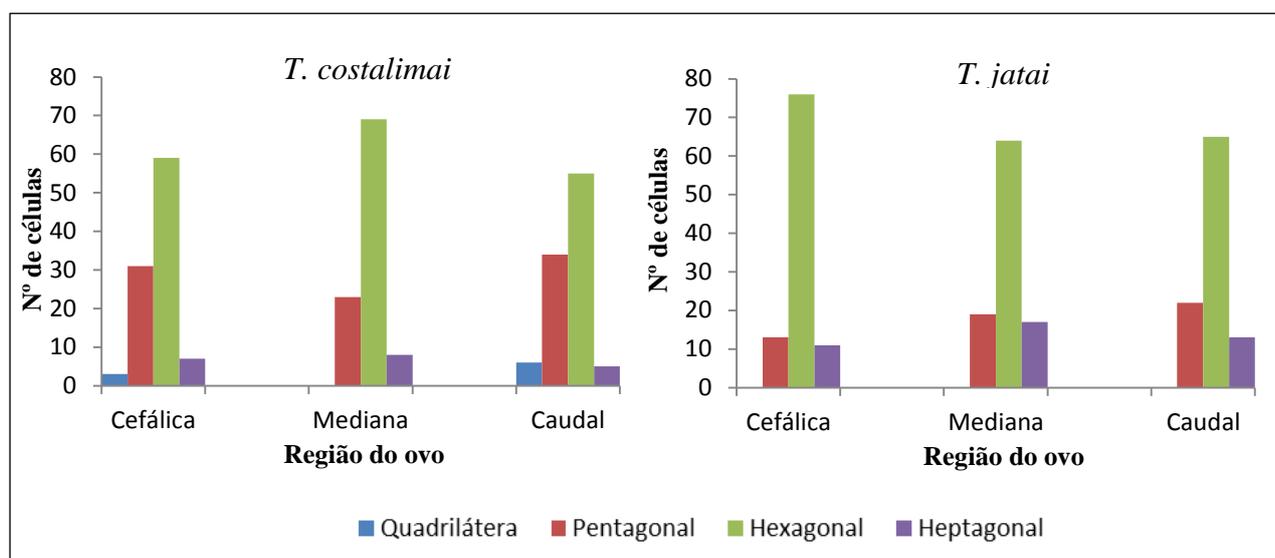


Figura 28- Formas geométricas das células exocoriais do corpo do ovo (regiões cefálica, mediana e caudal) de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

4.5. Morfometria em MEV

Na tabela 4, são apresentados os resultados das médias referentes à mensuração da área e do número de pontuações das células do exocório do opérculo e do corpo do ovo das espécies *T. costalimai* e *T. jatai*.

Os valores médios da área das células do exocório do opérculo, bem como o número de pontuações obtidos nas espécies *T. costalimai* e *T. jatai* são respectivamente, 510,96 μm^2 - 498,01 μm^2 e 13,15 - 13,81 (Tabela 4).

Em relação ao corpo do ovo, os valores médios da área das células, bem como do número de pontuações obtidos nas espécies *T. costalimai* e *T. jatai* foram respectivamente, 646,65 μm^2 - 541,96 μm^2 e 27,36 - 19,55.

As análises estatísticas, através do teste ANOVA, evidenciaram diferenças significativas ($p < 0,001$) para área e pontuações do corpo do ovo. No entanto, o opérculo não apresentou significância para as duas variáveis.

Tabela 4 - Medida da área (μm^2) e do número de pontuações do exocório do opérculo e corpo do ovo de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

| sp | Opérculo | | | | | | Corpo do ovo | | | | | |
|-----------|--------------------------|-----------|--------|------------|--------|-------|--------------------------|------------|---------|------------|--------|--------|
| | Área (μm^2) | | | Pontuações | | | Área (μm^2) | | | Pontuações | | |
| | N | Ampl. | Média | Σ | Ampl. | Média | N | Ampl. | Média | Σ | Ampl. | Média |
| <i>Tc</i> | 300 | 253 - 917 | 510,96 | 3942 | 2 - 32 | 13,15 | 300 | 332 - 1168 | 646,65* | 8209 | 9 - 60 | 27,36* |
| <i>Tj</i> | 300 | 199 - 775 | 498,01 | 4142 | 1 - 37 | 13,81 | 300 | 335 - 830 | 541,96* | 5864 | 0 - 37 | 19,55* |

sp: espécie; *Tc*: *Triatoma costalimai*; *Tj*: *Triatoma jatai*; Ampl.: Amplitude. * $p < 0,001$

Quando discriminado as áreas do corpo do ovo nas regiões cefálica, mediana e caudal, as células da região cefálica apresentam médias para área e pontuações de $644,91 - 521,33 \mu\text{m}^2$ e $23,18 - 20,12$ para *T. costalimai* e *T. jatai*, respectivamente; na região mediana são $680,02 - 533,35 \mu\text{m}^2$ e $28,17 - 17,54$; na região caudal são de $615,02 - 239,61 \mu\text{m}^2$ e $30,74$ e $20,75$ (Tabela 5). O teste ANOVA demonstra uma diferença significativa ao se comparar as três regiões das duas espécies.

Tabela 5 - Médias da área (μm^2) e do número de pontuações do exocório do corpo do ovo, das regiões cefálica (CF), mediana (ME) e caudal (CD), de ovos de *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* provenientes do estado do Tocantins, Brasil.

| Espécies | Corpo do ovo | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|---------|---------|------------|--------|--------|
| | Área (μm^2) | | | Pontuações | | |
| | CF | ME | CD | CF | ME | CD |
| <i>Triatoma costalimai</i> | 644,91* | 680,02* | 615,02* | 23,18* | 28,17* | 30,74* |
| <i>Triatoma jatai</i> | 521,33* | 533,35* | 239,61* | 20,12* | 17,54* | 20,75* |

* $p < 0,001$

5. DISCUSSÃO

Os aspectos morfológicos relacionados à estrutura exocorial dos ovos de triatomíneos se destacaram na taxonomia a partir da década de 1930, quando Galliard (1935) estudou o exocório dos ovos de espécimes dos gêneros *Rhodnius* e *Triatoma*. Atualmente os estudos abrangem técnicas desde a Microscopia Óptica e morfometria dos ovos, até a Microscopia Eletrônica de Varredura, visando a diferenciação das espécies e mostrando características específicas dos grupos da subfamília Triatominae (RIVAS et al., 2013).

Dentro dos oito subcomplexos do gênero *Triatoma* são encontrados estudos considerando o uso do exocório de ovos e sua utilização como base para caracterização morfológica e separação de populações. No subcomplexo brasiliensis (COSTA et al., 1997), foi demonstrada a diferença entre populações brasiliensis, melânica, macromelasoma e juazeirensis. No subcomplexo matogrossensis, onde estão inseridas as espécies *T. costalimai* e *T. jatai* (GONÇALVES et al., 2013; SCHOFIELD & GALVÃO, 2009), somente são encontrados estudos referentes aos ovos de *T. costalimai* (OBARA et al., 2007).

Os estudos do exocório do ovo demonstraram que as formas celulares e suas pontuações em relação à localização nas regiões cefálica, mediana e caudal, possuem valor taxonômico e são utilizados para caracterizar os ovos de diferentes espécies dentro da subfamília Triatominae (EVANGELISTA-MARTÍNEZ et al., 2010). No presente trabalho, a relevância destas áreas foi discriminada e apesar de não ter observado diferenças interespecífica nas três regiões pela técnica de MO, observou-se que na MEV, houve diferenças intraespecíficas entre as células da região mediana que apresentaram áreas celulares maiores, quando comparadas às demais regiões.

A técnica de MEV evidenciou a prevalência das células pentagonais no opérculo e hexagonais no corpo do ovo. Para a espécie *T. costalimai* foi possível perceber que os hexágonos foram mais numerosos na região mediana, como o observado em *Triatoma pantagonica* (VISCARELLI et al., 2004) e *Triatoma barberi* (EVANGELISTA-MARTÍNEZ et al., 2010). Enquanto em *T. jatai* os hexágonos predominaram na porção cefálica. Outra característica desta espécie foi a ausência de células quadriláteras no corpo do ovo, ou seja, as formas variaram entre cinco e sete lados em todas as três regiões.

A mensuração das formas das células exocoriais foi realizada em diversos estudos e para diferentes gêneros e espécies. Em *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 as células hexagonais foram encontradas em maior número na região mediana, enquanto nas regiões cefálica e caudal prevaleceram as células pentagonais e heptagonais (MASCARENHAS, 1982). O exocório da espécie *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859) também apresentou hexágonos na região mediana, porém na metodologia a região cefálica foi representada pelo opérculo e a zona mediana se estendeu desde a borda corial até o início da região caudal (CHAVES & AÑEZ, 2003), diferente dos demais estudos, onde as três regiões são demarcadas no corpo do ovo. Em MO, o exocório do corpo do ovo de *T. costalimai* e *T. jatai* mostram diferenças claras considerando a prevalência de pontuações e linhas curvilíneas no preenchimento das células, respectivamente. A estrutura exocorial de *T. costalimai* visualizada por Obara et al., (2007), mostrou células do exocório do corpo do ovo desta espécie sem a presença de ornamentação pelas técnicas de MO e MEV, não corroborando os resultados deste estudo, onde foram identificadas pontuações aleatórias no interior das células pelas duas técnicas. Entretanto, neste estudo para observação em MO, o corpo dos ovos de *T. costalimai* foi desenhado a seco, ou seja, sem ser imersão em solução de Berlese, para que fosse possível visualizar a ornamentação do exocório.

Em algumas espécies de triatomíneos não foram observadas a presença de ornamentações nas células exocoriais. As hipóteses propostas para esta ausência foram inferidas no sentido de relacionar as questões ambientais do local de incidência destes vetores. Para a espécie *T. barberi*, encontrada no México a ausência de ornamentação está associada a presença de baixas umidades e a oscilação de altas temperaturas durante o dia e baixas temperaturas durante a noite (EVANGELISTA-MARTÍNEZ et al., 2010). Contrariando esta afirmação, no estado do Tocantins, apesar do clima seco e com altas temperaturas durante grande parte do ano, foram observadas ornamentações nos ovos de *T. costalimai* e *T. jatai*, objetos deste estudo. Acredita-se que a presença desta ornamentação esteja relacionada com características morfológicas distintas em cada espécie e com componentes genéticos aprimorados ao longo de seu processo evolutivo.

As análises estatísticas evidenciaram que a espécie *T. costalimai* apresentou diferença significativa apenas para o corpo do ovo, nos parâmetros área e quantidade de pontuações, quando comparadas a *T. jatai*. Entretanto, para o opérculo, estas diferenças não foram significativas, o que evidencia uma tendência na utilização do corpo do ovo

na diferenciação das duas espécies. Em trabalho realizado com diferentes populações de *T. pseudomaculata*, o opérculo também não se apresentou com expressivas diferenças (SOUZA, 2011), corroborando o presente estudo.

A morfometria evidenciou uma amplitude diferente entre os ovos de *T. costalimai* e *T. jatai*, sendo que a primeira espécie obteve o maior comprimento, contudo ambas se apresentam dentro do padrão verificado no levantamento bibliográfico realizado por Souza (2011) para algumas espécies do gênero *Triatoma*. Ao se relacionar o comprimento aos dados morfométricos das demais espécies do subcomplexo matogrossensis (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009), observa-se que *T. costalimai* apresentou média mais próxima as espécies *T. guazu* ($\bar{X} = 2,017$ mm) (SILVA et al., 2000), *T. jurbergi* ($\bar{X} = 2,27$ mm) (JURBERG et al., 2002), *T. vandae* ($\bar{X} = 2,2$ mm) e *T. williami* ($\bar{X} = 2,1$ mm) (SILVA et al., 2005). Enquanto que *T. jatai* obteve uma média mais próxima de *T. baratai* ($\bar{X} = 1,835$ mm) (ROCHA et al., 2009) e *T. matogrossensis* ($\bar{X} = 1,64$ mm) sem o opérculo (JURBERG & VOGEL, 1994).

Os exocório dos ovos de *T. jatai*, espécie incluída recentemente ao subcomplexo matogrossensis, apresentou uma ornamentação bastante semelhante aos ovos de *T. matogrossensis*, primeira espécie deste subcomplexo e o qual designou seu nome. A presença de linhas curvilíneas preenchendo as células do opérculo e do corpo do ovo foi característica marcante nas duas espécies (JURBERG & VOGEL, 1994). Embasado nesta semelhança, ao se comparar os exocório por meio da técnica de MEV, notada por Obara et al., (2007) as linhas, anteriormente observadas na microscopia óptica, foram apresentados através de pontuações com aspecto reto e sequencial dando um possível aparência de linha, quando observado em menor aumento na MO.

A análise da borda corial dos ovos pode caracterizar e diferenciar espécies de triatomíneos (GONÇALVES et al., 1985; ROSA et al., 2000). As aerópilas, visualizadas em *T. costalimai* e *T. jatai*, estão associadas a funções de trocas gasosas do embrião, enquanto as micrópilas e goteira espermática apresentam funções relacionadas à fertilização (BEAMENT, 1946). Na comparação destas estruturas, observou-se a presença da goteira espermática apenas em *T. costalimai*.

Ao se verificar em estudos anteriores relacionando as espécies do subcomplexo matogrossensis não se observou a caracterização de estruturas como micrópila, aerópila e goteira espermática. Dentre os trabalhos, apenas *T. vandae* e *T. williami* possuem

descrição através da técnica MEV, entretanto não evidenciando a borda corial, (SILVA et al., 2005) como realizado no presente estudo.

Um panorama geral sobre os estudos realizados dentro da subfamília Triatominae, desde os tradicionais (BARATA, 1981) até os mais atuais (RIVAS et al., 2013), nota-se a proposta da utilização da ornamentação dos ovos como forma relevante de caracterização e diferenciação de espécies de triatomíneos. Sendo possível também observar a ampla utilização de técnicas como a MO, MEV e morfometria no sentido de aumentar o conhecimento taxonômico destes insetos vetores.

6. CONCLUSÕES

- Os ovos das espécies *Triatoma costalimai* e *Triatoma jatai* possuem características morfológicas e morfométricas diferentes, capazes de serem detectadas pelas técnicas de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- *T. costalimai* apresenta ovos maiores que *T. jatai* e a análise do comprimento e da largura demonstra que ambas as espécies se apresentam dentro do padrão encontrado no gênero *Triatoma*;
- As células exocoriais do corpo do ovo apresentam diferenças significativas entre as duas espécies, o que não é observado para o opérculo;
- A morfologia e a morfometria dos ovos de triatomíneos contribuem para a caracterização taxonômica de ambas as espécies afins, podendo ser utilizado como ferramenta auxiliar nas ações de controle vetorial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALOS, J.W.; WYGODZINSKY, P.L. **Las Triatominae Argentinas (Reduviidae, Hemiptera)**. Inst. Med. Reg., Rublicacion Univers. Nac. Tucuman. 179 p. 1951.
- ALDANA, E.; AVENDAÑO-RANGEL, F.; LIZANO, E.; RODRIGUES-BONFANTE, C.; BONFANTE-CABARCAS, R. Morphological analysis of *Panstrongylus geniculatus* eggs (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae) from a chagas endemic area in the center-west of Venezuela. **Acta Microscopica**, v. 20, n. 2, p. 103-11, 2011.
- BARATA, J.M.S. Aspectos morfológicos de ovos de triatomíneos. II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1959 (Hemiptera: Reduviidae). **Rev. Saúde públ.**, v. 15, p. 490-542, 1981.
- BARATA, J.M.S. Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae). 409-48 p. In: CARCAVALLO, R. U.; GALINDEZ-GIRÓN, I., *et al* (Ed.). **Atlas of Chagas disease vectors in the Americas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998. p.773.
- 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 Oswaldo Cruz**, v. 56, p. 197-208, 1958.
- BEAMENT, J.W.L. The formation and struture of the micropylar complex in the egg-shell of *Rhodnius prolixus* Stål. 1859 (Heteroptera Reduviidae). **Journal of Experimental Biology**, v. 23, p. 213-33, 1946.
- CARCAVALLO, R.U.; JURBERG, J.; LENT, H.; GALVÃO, C.; STEINDEL, M.; PINTO, C.J.C. Nova espécie do complexo oliveirai (nova denominação para o complexo matogrossensis) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 71-79, 2001.
- CHAVES, L.F.; AÑEZ, N. Geometría de las células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae). **Sociedad Venezolana de Entomologia**, v. 18, n. 1, p. 1-5, 2003.
- COSTA, J.M.; BARTH, O.M.; MARCHON-SILVA, V.; ALMEIDA, C.E.; FREITAS-SIBAJEV, M.G.R.; PANZERA, F. Morphological studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) genital structures and eggs of different chromatic forms. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 493-498, 1997.
- COSTA, J.M.; JURBERG, J.; BARTH, O.M. Estudos Morfológicos de *Cavernicola lenti* Barrett & Arias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 2, p. 247-263, 1991.
- COURA, J.R. **Dinâmicas de doenças infecciosas e parasitárias**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. ISBN 978-85-277-2249-0.

EVANGELISTA-MARTÍNEZ, Z.; IMBERT-PALAFIX, J.L.; BECERRIL-FLORES, M.A.; GÓMEZ-GÓMEZ, J.V. Análisis morfológico de huevos de *Triatoma barberi* Usinger (Hemiptera: Reduviidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 207-213, 2010.

GALINDEZ-GIRÓN, I.; CARVALHO, R.U.; JURBERG, J.; LENT, H.; BARTH, O.M. Estudo morfológico de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 539-543, 1997.

GALLIARD, H. Recherches sur les Réduvidés Hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. V. Morphologie de l'oeuf des Triatomes. **Ann. Parasit. hum. comp.**, v. 8, n. 6, p. 511-527, 1935.

GALVÃO, C. A sistemática dos triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de DE Geer ao DNA. **Entomol. Vect.**, v. 10, n. 4, p. 511-30, 2003.

GARCIA-SILVA, I.; SILVA, J.L.; CAMARGO, M.F.; SANTOS, A.H.; SILVA, H.H.G.; ALVES, R.B.N. Infestação de vetores da tripanosomíase americana no ambiente domiciliar, no estado de Goiás. **Rev. Pat. Trop.**, v. 24, n. 1, p. 41-47, 1995.

GONÇALVES, T.C.M.; JURBERG, J.; COSTA, J.M.; SOUZA, W. Estudo morfológico comparativo de ovos e ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa e Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 3, p. 263-276, 1985.

GONÇALVES, T.C.M.; TEVES-NEVES, S.C.; SANTOS-MALLET, J.R.; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, A.L.; LOPES, C.M. *Triatoma jatai* sp. nov. in the state of Tocantins, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 429-437, 2013.

GONZÁLEZ, G.; ALDANA, E.; LIZANO, E.; LÓPEZ, G. Arreglo de los polígonos del exocorion de huevos eclosionados de algunas especies de los géneros *Triatoma* Laporte, *Meccus* Stål y *Nesotriatoma* Usinger (Heteroptera: Reduviidae). **EntomoBrasilis**, v. 2, n. 3, p. 76-89, 2009.

GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C.; COSTA, J.; TOWNSEND, P.A. Geographic distribution of chagas disease vectors in Brazil based on Ecological Niche Modeling. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2012, p. 1-15, 2012.

HYPSA, V.; TIETZ, D.F.; ZRZAVY, J.; REGO, R.O.; GALVAO, C.; JURBERG, J. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. **Mol Phylogenet Evol**, v. 23, n. 3, p. 447-57, 2002.

ISAC, E.; ALVES, R.B.N.; ROCHA, A.P.; COSTA-JR., O.O.; SANTOS, A.H. Biologia do *Triatoma costalimai* (Verano & Galvão, 1959) (Hemiptera, Reduviidae). **Rev. patol. trop.**, v. 29, n. 2, p. 233-240, 2000.

JEOL. SemAfore: Digital slow scan image recording system. Program version 5.2., 2010. Disponível em: < <http://www.jeol.de/electronoptics-en/products/electron-and->

ion-optics/scanning-electron-microscopes/accessory/semafore-digitizer.php >. Acesso em: 2013.

JURBERG, J.; CAMPOS, P. Morfologia de huevos y ninfas de *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) (Hemiptera-Reduviidae). **Entomologia y Vectores**, v. 2, n. 1, p. 9-29, 1995.

JURBERG, J.; CUNHA, V.; CAILLEAUX, S.; LIMA, M.S.; ROCHA, D.D.S.; CAILLEAUX, S. et al. *Triatoma pintodiasi* sp. nov. do subcomplexo *T. rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 4, n. 1, p. 43-56, 2013.

JURBERG, J.; FAGUNDES, L.M.; BARTH, O.M. Estudo Morfológico de ovos e ninfas de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1984) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Rev. Brasil. Biol.**, v. 53, n. 2, p. 269-283, 1992.

JURBERG, J.; GALVÃO, C.; NOIREAU, F.; CARCAVALLO, R.U.; ROCHA, D.S.; LENT, H. **Uma iconografia dos triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae)**. Rio de Janeiro: Co-edição IRD Editions e Editora Gama Filho, 2005. ISBN 85-7444-057-4.

JURBERG, J.; LIMA, M.G.; ROCHA, D.D.S.; CARCAVALLO, R.U.; GALVÃO, C. Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma melanosoma* Martínez, Olmedo & Carvalho, 1987 (Hemiptera, Reduviidae). **Entomologia y Vectores**, v. 5, n. 2, p. 67-84, 1998.

JURBERG, J.; SILVA, M.B.A.; GALVÃO, C.; ROCHA, D.D.S.; BARBOSA, H.S.; CARCAVALLO, R.U. Descrição dos Ovos e dos Estádios Ninfais de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 Vistos Através de Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura (Hemiptera, Reduviidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 209-216, 2002.

JURBERG, J.; VOGEL, M. Morfologia de huevos y ninfas de *Triatoma matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953 (Hemiptera: Reduviidae). **Entomologia y Vectores**, v. 1, p. 167-177, 1994.

KROPF, S.P. **Doença de Chagas, doença do Brasil: ciência, saúde e nação (1909-1962)**. Programa de Pós-Graduação em História, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro. 546 p. 2006.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas'disease. **Bull. Amer. Museum nat. Hist.**, v. 163, p. 125-520, 1979.

LUCENA, D.T.; REGO, A.M. Microestrutura do exocório de ovos de triatomíneos do nordeste do Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 11, n. 2, p. 87-93, 1969.

MACEDO, I.C.G.; GOMES, A.C.F.; GLÓRIA, A.F.C.; SILVIA, M.D.F.; BASTOS, W.M.; TAMOYO, C.O.C. Doença de Chagas aguda no estado do Tocantins: Distribuição das principais espécies de triatomíneos nas regiões de saúde do Estado entre 2005 e 2011. In: (Ed.). **Anais da 27ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e 15ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses**. Minas Gerais. Uberaba: Caderno de resumos, 2011. p.35.

MACHINER, F.; CARDOSO, R.M.; CASTRO, C.; GURGEL-GONCALVES, R. Occurrence of *Triatoma costalimai* (Hemiptera: Reduviidae) in different environments and climatic seasons: a field study in the Brazilian savanna. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 45, n. 5, p. 567-71, Oct 2012.

MASCARENHAS, B.M. Triatomíneos da Amazônia. Morfometria do ovo de *Rhodnius brethesi* Mata, 1919 (Hemiptera: triatominae). **Acta Amazônica**, v. 12, n. 3, p. 661-664, 1982.

OBARA, M.T.; ROSA, J.A.; SILVA, N.N.; CERETTI JR., W.; URBINATTI, P.R.; BARATA, J.M.S. et al. Estudo morfológico e histológico dos ovos de seis espécies do gênero *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 798-806, 2007.

OLIVEIRA, I.A.S.; MAIA, A.A.S.; DANTAS, E.C. Avaliação do controle de qualidade na identificação taxonômica e exame parasitológico de triatomíneos, indicadores de resultados discordantes e positividade, nos anos de 2004 a 2006. **Boletim epidemiológico - Superintendência de vigilância e proteção a Saúde do Tocantins**, v. 5, p. 1-3, 2008.

PAULA, A.S.; DIOTAIUTI, L.; SCHOFIELD, C.J. Testing the sister-group relationship of the Rhodniini and Triatomini (Insecta: Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Mol Phylogenet Evol**, v. 35, n. 3, p. 712-8, 2005.

Portal da Saúde. 2012. Disponível em: <
http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31454 >.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RIVAS, N.; SANCHEZ, M.E.; MARTINEZ-IBARRA, A.; CAMACHO, A.D.; TOVAR-SOTO, A.; ALEJANDRE-AGUILAR, R. Morphological study of eggs from five Mexican species and two morphotypes in the genus *Triatoma* (Laporte, 1832). **J Vector Ecol**, v. 38, n. 1, p. 90-6, Jun 2013.

ROCHA, D.S.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma lecticularia* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Entomologia y Vectores**, v. 3, n. 5 y 6, p. 123-135, 1996.

ROCHA, D.S.; JURBERG, J.; ROSA, J.A.; SCHAEFER, C.W.; GALVÃO, C. Description of eggs and nymphal instars of *Triatoma baratai* Carcavallo & Jurberg, 2000 based on optical and scanning electron microscopy (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Zootaxa**, v. 2064, p. 1-20, 2009.

ROSA, J.A.; BARATA, J.M.S.; SANTOS, J.L.F.; CILENSE, M. Morfologia de ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). **Rev. Saúde públ.**, v. 34, p. 538-542, 2000.

SANDOVAL, C.M.; NIEVES, E.; ANGULO, V.M.; ROSA, J.A.; ALDANA, E. Morphology of eggs of the genus *Belminus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) by optical and scanning electron microscopy. **Zootaxa**, v. 2970, p. 33-40, 2011.

SCHOFIELD, C.J.; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. **Acta Tropica**, v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009.

SILVA, M.B.A.; JURBERG, J.; BARBOSA, H.S.; ROCHA, D.D.S.; CARCAVALLO, R.U.; GALVÃO, C. Morfologia comparada dos ovos e ninfas de *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 549-561, 2005.

SILVA, M.B.A.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.U. Estudo morfológico e morfométrico de ovos e ninfas de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) vistos por microscopia óptica e eletrônica de varredura. **Entomologia y Vectores**, v. 7, n. 3, p. 311-334, 2000.

SOUZA, S.C.S. **Aspectos Morfológicos e morfometria de ovos de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) no Estado do Ceará.** Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 73 p. 2011.

TEVES-NEVES, S.C. **Análises morfológicas, morfométricas e moleculares revelam uma nova espécie do gênero *Triatoma* do Estado do Tocantins, Brasil.** Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 79 p. 2012.

USINGER, R.; WYGODZINSHY, P.L.; RYCKMAN, R.E. The Biosystematics of Triatominae. **Ann Rev Ent**, v. 11, p. 309-30, 1966.

VERANO, O.T.; GALVÃO, A.B. *Triatoma costalimai* sp. n. **Rev. bras. malariol. doenças trop.**, v. 10, p. 199-205, 1958.

VISCIARELLI, E.; FERRERO, A.; COSTAMAGNA, S.R. Aspectos exocoriales de huevos de *Triatoma patagonica* Del Ponte, 1929 por microscopía electrónica de barrido. **Entomología y Vectores**, v. 11, p. 653-668, 2004.