



# Estudo biológico e biométrico dos estádios ninfais de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae) sob condições laboratoriais

Marconato, E.<sup>1</sup>; Ponsoni, E.J.<sup>1</sup>; Barata, J.M.S.<sup>2</sup>; Rosa, J.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, SP, Brasil

Recebido 11/09/06 / Aceito 20/12/06

## RESUMO

A partir de ninfas de 5º estágio obtiveram-se casais de *Rhodnius prolixus*, que originaram ovos e ninfas para estudos de ciclo biológico e biométrico. Foram determinados os seguintes parâmetros do ciclo biológico à temperatura de 28°C e umidade relativa do ar variando entre 52 e 94%: período médio de incubação dos ovos: 13,01 dias; taxa de eclosão dos ovos: 77,6%; período médio de desenvolvimento do 1º, 2º, 3º, 4º e 5º estágio ninfal: 19,33; 19,09; 20,38; 24,37; 38,14 dias, respectivamente; percentual de mortes nos estádios ninfais: 26,70; 14,00; 18,26; 17,02; 35,47% respectivamente; percentual de mudas por estágio ninfal; 73,30; 86,03; 81,73; 82,97 e 64,52%, respectivamente. Estudo biométrico mostrou que o abdômen é o maior segmento em todos os estádios. Nos quatro primeiros estádios a cabeça apresenta-se maior que o tórax, enquanto no quinto estágio a cabeça e o tórax apresentam portes equivalentes.

*Palavras-chave:* *Rhodnius prolixus*; biometria; ciclo de vida.

## INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma entidade mórbida que ocorre na região Neotropical. Em 17 países dessa região no período 1980-1985 estimava-se por volta de 17 milhões de infectados e cerca de 92 milhões vivendo em áreas sob de risco de contaminação (WHO, 2002).

Os principais vetores do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, estão distribuídos nos gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*. O gênero *Rhodnius* conta com 16 espécies já descritas, dentre elas, *R. prolixus* (Galvão et al., 2003). Essa espécie pode ser encontrada em 15 países da América Latina e assume especial importância na Venezuela, Colômbia e Guiana Francesa (Lent & Wygodzinsky, 1979).

No Brasil já foi reportado nos estados do Amazonas, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro e São Paulo (Lent & Wygodzinsky, 1979;

Pinho et al., 1998). *R. prolixus* foi encontrado no estado de São Paulo coabitando com *R. neglectus* em ninhos de pássaros de casas abandonadas (Tavares, 1971). Além de *T. cruzi*, *R. prolixus* também pode veicular, por meio da picada, *Trypanosoma rangeli* (D'Alessandro & Hincapie, 1986; Tejera, 1920).

Embora o ciclo biológico de *R. prolixus* já tenha sido estudado por outros autores (Lent & Valderrama, 1977; Silva, 1988; Luz et al., 1999), as condições de temperatura e umidade relativa do ar (UR) do ar foram diferentes das utilizadas neste trabalho. Levando-se em conta que Silva (1988) verificou o ciclo evolutivo de *R. prolixus* a 25°C e a 30°C e notou que o tempo demandado para a evolução de ovo a adulto era mais curto à temperatura de 30 °C, decidiu-se utilizar a temperatura de 28°C (UR 52-94%), com intuito de tentar obter um tempo mais curto para a evolução em laboratório.

Visando acrescentar novos conhecimentos para a taxonomia de ninfas dos Triatominae e contribuir para a caracterização dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus* foram mensurados cabeça, tórax e abdômen, pois são desconhecidos estudos semelhantes da referida espécie, muito embora Brewer et al. (1981) e Brewer & Garay (1983) tenham caracterizado os estádios ninfais de espécies de *Triatoma*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Parâmetros biológicos

Neste estudo, conduzido no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP/Araraquara, observou-se o ciclo evolutivo de *R. prolixus*, a partir de colônia mantida desde setembro/1982 no laboratório de Triatominae da Faculdade de Saúde Pública, localizado no Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA).

O estudo iniciou-se com um grupo de 10 casais de ninfas de 5º estágio de *R. prolixus*, a fim de garantir que as observações fossem iniciadas a partir da primeira postura

\*Autor Correspondente: João Aristeu da Rosa - Departamento de Ciências Biológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP - Rodovia Araraquara-Jaú, km 1 - Caixa Postal 502 - CEP 14801-902 - Araraquara - SP, Brasil - Fone: (16) 3301-6943 - E-mail: rosaja@fcfar.unesp.br

das fêmeas. A separação dos casais de ninfas de 5º estágio foi feita por meio de microscópio estereoscópico (Rosa et al., 1992).

Os exemplares de *R. prolixus* foram mantidos em recipientes de polietileno com o fundo forrado por papel-filtro e abertura tampada com tecido poroso, mantidos em câmaras climatizadas com temperatura controlada e umidade relativa do ar (UR) anotadas diariamente (28°C e 52-94%). Cinco dias após a eclosão dos ovos, as ninfas foram alimentadas em camundongos albinos Swiss, em seguida passou-se a alimentá-las semanalmente.

As observações sobre a evolução das ninfas foram feitas diariamente e anotadas em formulário adequado.

### Ovipostura

Foram separados 15 casais de ninfas de 5º estágio de *R. prolixus*, em recipientes distintos. A ovipostura iniciou-se no dia 09 de fevereiro de 2000 e a coleta foi encerrada no dia 30 de junho de 2000.

Para o estudo da ovipostura, os ovos postos por cada fêmea foram coletados diariamente por um período de 143 dias. Após a primeira postura foram separados oito lotes com número mínimo de 20 ovos com o intuito de garantir quantidade suficiente de exemplares até o final do período de evolução. O primeiro lote formou-se em 04 de maio de 1999 e o último no dia 14 de maio de 1999 quando foi feita a última coleta, totalizando 656 ovos e um período de coleta de 10 dias, embora as fêmeas tenham continuado a postura.

Os ovos postos por cada fêmea foram coletados diariamente, sendo registrados o dia da coleta e a quantidade de ovos.

### Parâmetros morfométricos

A mensuração da cabeça, tórax e abdômen dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus* foi realizada em microscópio estereoscópico e sistema de análise de imagem Leica, uti-

lizando o programa Q-WIN, com objetiva de 0,63x e ocular de 8x, após a calibração para milímetros. Utilizaram-se 30 ninfas de cada um dos cinco estádios, sendo 15 mensuradas no terceiro dia após a alimentação e 15, recém evoluídas, não alimentadas. A análise estatística foi feita por meio do programa InStat usando-se o teste *t-Student* não pareado.

### RESULTADOS

Num período de 143 dias compreendidos entre os meses de fevereiro e junho/2000, 15 fêmeas de *R. prolixus* ovipuseram 6512 ovos, o que representa um número médio de 3,03 ovos/fêmea/dia.

Considerando-se que os adultos não foram estudados, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que os períodos médios de evolução de seis fases de *R. prolixus* aumentam a partir do período de incubação dos ovos, exceto no 2º estágio (19,09 dias) cujo tempo foi mais curto que o 1º estágio (19,33 dias) (Tabela 1).

A menor diferença entre o período máximo e mínimo de evolução foi observada na incubação dos ovos (1,12 dias), e a maior, no 5º estágio ninfal (39,34 dias) (Tabela 1).

Obtiveram-se também valores referentes à taxa de eclosão de ovos (77,6%), bem como das ecdises por estágio ninfal (Tabela 2).

No que diz respeito ao número de mortes durante os cinco estádios de *R. prolixus* (Tabela 2), percebeu-se que foi respectivamente menor no 2º, 4º, 3º, 1º e 5º estágio ninfal.

Neste trabalho foi mensurado o comprimento de cabeça, tórax e abdômen dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus*. Como era esperado, observou-se um crescimento gradual das três partes desde o 1º até o 5º estágio ninfal (Tabela 3).

A análise estatística mostrou diferença significativa na comparação entre as mensurações dos comprimentos dos segmentos cabeça, tórax e abdômen dos cinco estádios ninfais de colônias alimentadas e não alimentadas (Tabela 3).

Tabela 1 - Período de incubação e de evolução dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus*, mantidos em câmaras climatizadas com temperatura controlada e umidade do ar anotadas diariamente (28° C e 52-94%).

Período (dias)	Incubação (n=431)	1º estágio (n=509)	2º estágio (n=370)	3º estágio (n=266)	4º estágio (n=210)	5º estágio (n=127)
Máxima	13,25	20,80	27,00	27,85	30,20	66,67
Média	13,01	19,33	19,09	20,38	24,37	38,14
Mínima	12,13	19,10	13,83	19,29	20,60	27,33

n=número de amostras

## DISCUSSÃO

Ao serem comparados os resultados obtidos neste trabalho com aqueles publicados por outros autores, perceberam-se diferenças no período de incubação dos ovos, assim como na duração dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus*.

### Diferença no período de incubação dos ovos

O período médio de incubação dos ovos à temperatura de 28°C e UR variando entre 52-94% foi de 13,01 dias (Tabela 2). Os dados obtidos por Silva (1988) a 25° C e 30°C com UR de 70% foram respectivamente 19 e 15 dias. Portanto os resultados deste trabalho nas citadas condições de temperatura e umidade encurtaram o tempo de incubação dos ovos de *R. prolixus*.

### Diferença na duração dos estádios ninfais

A 25°C, Silva (1988) obteve 140,5 dias de duração média para o período ninfal, enquanto que neste trabalho a 28°C obteve-se 121,3 dias. No entanto, percebe-se que desenvolvimento mais curto - 118,4 dias - foi obtido a 30°C por Silva (1988). Por outro lado, Lent & Valderrama (1977) à temperatura de 24-26°C e UR entre 70-75% obtiveram o período de 96,04 dias para o desenvolvimento dos cinco estádios ninfais. Luz et al. (1999) à temperatura de 28°C e 75 % de UR, conseguiram esse desenvolvimento em 86,7 dias. Além das condições diferentes de temperatura e umidade, outra explicação para as diferenças no tempo do ciclo evolutivo observadas entre este trabalho e os de Lent & Valderrama (1977), Silva (1988) e o de Luz et al.(1999) é a procedência das colônias utilizadas, bem como a variabilidade entre os exemplares.

### Mortalidade observada nos estádios ninfais

A mortalidade menor verificada nos 2°, 4° e 3° estádios, respectivamente, poderia ser explicada por uma melhor alimentação e maior resistência nessas fases evolutivas. A mortalidade foi maior no 5° estádio (Tabela 2) e as observações conduzidas mostraram que essa ocorrência foi devida a não liberação do exoesqueleto no momento da passagem para a fase adulta. Obteve-se no 1° estádio a segunda maior taxa de mortalidade (Tabela 2) que pode ser devido ao manuseio e à fragilidade do exoesqueleto. Esses resultados podem ser úteis, quando da avaliação de substâncias com possível atividade inseticida, visto que, *R. prolixus* é um ótimo modelo para experimentos dessa natureza, uma vez que se reproduz muito bem laboratório, conforme pode ser verificado neste e outros estudos.

### Estudo morfométrico

Estudos biométricos de Triatominae são utilizados para caracterização de novas espécies, detecção de populações, assim como para definição de estruturas Galindez & Torres (1999). Nesse sentido, Brewer & Garay(1983) caracterizaram os estádios ninfais de *Triatoma infestans*, *Triatoma platensis*, *Triatoma delpontei* e *Triatoma sordida*. A publicação de Jimenez Ozete & Fuentes (1981) refere-se às mensurações de 12 estruturas de ninfas de 1° estádio de *Triatoma flavida*. Biometria de oito caracteres de ninfas de 5° estádio de *Triatoma maculata* e *Triatoma pseudomaculata* foi feita por Gonçalves et al. (1985), assim como de *Triatoma brasiliensis* por Jurberg et al. (1986). Portanto, este estudo e o de Ponsoni et al. (2004) ampliam o conhecimento referente às fases evolutivas da subfamília Triatominae, uma vez que caracterizam morfometricamente os estádios ninfais de duas espécies do gênero *Rhodnius*.

Tabela 2 - Número de ovos eclodidos, de exemplares que sofreram mudas, de mortes e respectivas percentagens por estádio ninfal de *R. prolixus*.

Estádio	Total	Eclusão/Mudas	(%)	Mortes	(%)
Ovos	656	509	77,6	147	22,4
1°	547	401	73,30	146	26,70
2°	401	345	86,03	56	14,00
3°	345	282	81,73	63	18,26
4°	282	234	82,97	48	17,02
5°	234	151	64,52	83	35,47

Neste trabalho as mensurações efetuadas mostraram que nos cinco estádios ninfais a porção maior é o abdômen. A cabeça é maior que o tórax e menor que o abdômen nos quatro primeiros estádios; no 5º estádio a cabeça e o tórax apresentam comprimento semelhante (Tabela 3). A análise apresentou um desvio padrão baixo, mostrando uma diferença pequena entre as amostras (Tabela 3). A mensuração de ninfas alimentadas e não alimentadas foi feita com intuito de observar se ocorria diferença significativa de comprimento das três partes do corpo nos cinco estádios. Os resultados mostraram que em todos os cinco estádios o abdômen das alimentadas é significativamente maior que das não alimentadas (Tabela 3). A cabeça mostrou-se significativamente maior nas não alimentadas. Já o comprimento do tórax mostrou variação, sendo significativo no 1º, 2º e 5º estádio, pouco significativo no 4º e não significativo no 3º (Tabela 3).

Os dados obtidos com o estudo do ciclo biológico de *R. prolixus* a partir de número altamente significativo de exemplares (Tabela 2), bem como a caracterização biométrica dos cinco estádios ninfais, podem ser utilizados em testes de substâncias com possível atividade inseticida, assim como em taxonomia. Em conseqüência, são também válidos para a profilaxia da doença de Chagas.

#### AGRADECIMENTOS

João Luiz Molina Gil, João Mauricio Nóbrega Filho, responsáveis pela manutenção das colônias do Insetário de Triatomíneos da Faculdade de Saúde Pública, localizado no

Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA). Cláudia Solano Rocha pelo auxílio na análise estatística.

À Fapesp, pelo auxílio financeiro - (Processo nº 99/02070-7)

#### ABSTRACT

*Biological and biometric studies of the nymph instars of R. prolixus (Hemiptera, Reduviidae)*

**Eggs and nymphs originated from couples of *Rhodnius prolixus* obtained from nymphs of the 5<sup>th</sup> instar were used for biological cycle and biometric studies. The following biological cycle parameters were determined under a temperature of 28°C and relative humidity, varying between 52 - 94% : medium period of incubation: 13.01 days; rate of eggs eclosion: 77.6%; medium period of development of the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> instar nymphs : 19.33, 19.09, 20.38, 24.37, 38.14 days, respectively; percentual of deaths in the nymph instar: 26.70, 14.00, 18.26, 17.02, 35.47% respectively; percentual of changes per instar nymphs; 73.30, 86.03, 81.73, 82.97, 64.52%, respectively. Biometric measurements performed, showed that in all the instars the abdomen is the largest segment. In the four first instars, the head is larger than the thorax. In the fifth instar, the head and thorax present are about the same size.**

Tabela 3 - Média, desvio padrão e comparação das mensurações (mm) da cabeça, tórax e abdômen dos cinco estádios ninfais de *R. prolixus*, 15 alimentadas e 15 não alimentadas.

Estádio	Cabeça			Tórax			Abdômen		
	A	N/A	Sig	A	N/A	Sig	A	N/A	Sig
1º	0,90± 0,03	0,95±0,03	***	0,60 ±0,03	0,50±0,03	***	2,22± 0,14	1,08±0,14	***
2º	1,35± 0,03	1,42±0,05	***	1,97 ±0,03	0,92±0,04	***	3,58±0,15	2,28±0,10	***
3º	1,85 ±0,05	2,02±0,06	***	1,43± 0,07	1,43± 0,07	NS	5,61±0,29	3,43±0,18	***
4º	2,53± 0,10	2,62±0,04	**	2,23 ±0,14	2,11±0,10	*	7,03±0,32	4,88±0,23	***
5º	3,34± 0,18	3,18±0,08	**	3,39 ±0,17	3,23±0,12	**	9,92±0,47	6,78±0,45	***

A= alimentadas, N/A = não alimentadas, Sig = significância,

\*= pouco significativo (p 0,05 ), \*\* = significativo(p 0,05), \*\*\* = extremamente significativo (p 0,005),

NS = não significativo (p 0,05).

**Keywords:** *Rhodnius prolixus*; biometrics; life cycle.

## REFERÊNCIAS

- Brewer M, Garay ME, Gorla D, Murua F, Favot R. Caracterización de los estadios ninfales del genero *Triatoma Laporte*, 1833. I. *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Soc Entomol Argent* 1981; 40:91-102.
- Brewer M, Garay ME. Identificación de los estadios ninfales de las especies del genero *Triatoma Laporte* 1833 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Soc Entomol Argent* 1983; 45:1-4.
- D'Alessandro A, Hincapie O. *Rhodnius neivai*: A new experimental vector of *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35:512-4.
- Galindez Girón I, Torres E. Morfometria na sistemática e ecologia dos triatominae. In Carcavalo RU, Garlindez Giron I, Juberg J, Lent h, editors. *Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1999. p.1115-60.
- Galvão C, Carcavalo RU, Rocha DS, Jurberg J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution. *Zootaxa* 2003; 202:1-36.
- Gonçalves TCM, Jurberg J, Costa JM, Souza W. Estudo morfológico comparativo de ovos e ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1985; 80:263-76.
- Jimenez Ozete H, Fuentes O. *Triatoma flavida* (Hemiptera, Reduviidae). I Estudio biométrico de larvas. *Rev Cubana Med Trop* 1981; 33:195-200.
- Jurberg J, Gonçalves TCM, Costa JM, Souza W. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Tritominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1986; 81:111-20.
- Lent H, Valderrama A. Observações, em laboratório, sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius prolixus* Stal, 1872 e *R. neivai* Lent, 1953. *Rev Bras Biol* 1977; 37:325-44.
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat Hist* 1979; 163:123-520.
- Luz C, Fargues J, Grunewald J. Development of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) under constant and cyclic conditions of temperature and humidity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94:403-9.
- Pinho AP, Gonçalves PC, Mangia RH, Russell NS, Jansen, AM. The occurrence of *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, natural infected by *Trypanosoma cruzi* in the state of Rio de Janeiro, Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998; 93:141-3.
- Ponsoni E J, Marconato E, Rosa J A da. Estudo biológico e morfométrico dos estádios ninfais de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Ciênc Farmac* 2004; 25:125-8.
- Rosa JA da, Barata JMS, Barelli N, Santos JLF, Belda Neto FM. Sexual distinction between 5<sup>th</sup> instar nymphs of six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992; 87:257-64.
- Silva IG. Influência da temperatura na biologia de Triatomíneos. VII *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Patol Trop* 1988;17:145-55.
- Tavares O. Nota sobre a presença de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, no Estado de São Paulo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev Soc Bras Med Trop* 1971; 5:321-2.
- Tejera E. Un nouveau flagellé de *Rhodnius prolixus*, *Trypanosoma*(ou *Crithidia*) *rangeli*, n.sp. *Bull Soc Path Exotique* 1920; 13:527.
- WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease. *Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee*.2002. 120p. (WHO technical report series, 905).