

SIMONE PATRÍCIA CARNEIRO DE FREITAS

**ASPECTOS DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO EM
ESPÉCIES DE *Triatoma*
(HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F866a
2008
Freitas, Simone Patrícia Carneiro de, 1974-
Aspectos do sistema reprodutor masculino em espécies
de *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) /
Simone Patrícia Carneiro de Freitas. – Viçosa, MG, 2008.
xi, 112f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: José Eduardo Serrão.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Triatoma* - Reprodução. 2. Aparelho genital -
Morfologia. 3. Ultra-estrutura (Biologia). 4. Inseto
hematófago. 5. Glândulas sexuais. I. Universidade Federal
de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 595.754

SIMONE PATRÍCIA CARNEIRO DE FREITAS

**ASPECTOS DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO EM
ESPÉCIES DE *Triatoma*
(HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 17 de dezembro de 2007

Prof^a. Jacenir Reis Santos-Mallet
Co-orientadora

Prof^a. Teresa Cristina Monte Gonçalves
Co-orientadora

Prof. Marcelo Gustavo Lorenzo

Prof. Clóvis Andrade Neves

Prof. José Eduardo Serrão
Orientador

*É justamente a possibilidade de
realizar um sonho que torna a vida
interessante...*

(Paulo Coelho)

*À Gabriel, o sol que ilumina todos
os dias meu amanhecer.*

*À minha família, alicerce da
minha formação.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

As Prof^{as}. Jacenir Reis Santos-Mallet e Teresa Cristina Monte Gonçalves, pela atenção e dedicação com que me iniciaram na área de Morfologia; pela educação, paciência e troca de conhecimentos na hora dos estudos; por acreditarem em mim, estando sempre presentes com sinceridade e amizade; por deixarem a porta do laboratório aberta para me receber e a do coração para me amar... e principalmente, por saber que posso olhar para o lado e ter a certeza de mãos estendidas. Obrigada por não me deixarem sonhar sozinha... *“um sonho que se sonha junto é realidade”*.

Ao Prof. José Eduardo Serrão por ter aceitado o desafio de me orientar; pela rica formação passada com dedicação, amizade, companheirismo, paciência e profissionalismo; pelo apoio e conforto nos momentos de dificuldade das disciplinas, da saudade de casa e dos amigos; por permitir que eu também fizesse parte de seu crescimento profissional, trocando idéias, conhecimentos e partilhando trabalhos.

Aos meus pais, Francisco Carneiro e Edite Souza pelo amor, educação e apoio nas decisões da minha vida, e pelo conforto nos momentos de volta ao lar.

Ao meu amado e orgulhoso filho Gabriel, pelo amor, conforto e compreensão por eu ter sido ausente nas melhores fases de sua vida.

Aos meus irmãos Erilda, Lindomar, Lindoval, Rosângela e Vitória, meu maior time de incentivadores, que tanto me ajudaram e me deram forças para chegar até aqui.

As minhas cunhadas Cássia Cardoso e Vanda Oliveira, pelo carinho, apoio no lar e por me orgulharem de sentir que tiveram minha vida como espelho para suas vitórias.

Aos amigos especiais Edalton Silva, Janina Carvalho, Magda Clara, Nildimar Honório, Silvia Menezes e Wagner Costa, pela presença nos momentos de dor e alegria, por me fazerem acreditar no amor verdadeiro, no dia que amanhece, no valor da amizade, na simplicidade das coisas e no prazer de viver... e principalmente por terem cultivado nossos jardins, superando distâncias e saudades.

A Dra. Elizabeth Ferreira Rangel, Chefe do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz, RJ, pelo incentivo, apoio e amizade demonstrados a mim e ao meu trabalho no laboratório, durante todos estes anos.

A Prof^a. Jane Costa, do Setor de Informatização do Laboratório de Biodiversidade Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, por ter confiado a mim a colônia de triatomíneos, o início de todo meu caminhar até aqui, e pelas observações e acréscimos na correção dos trabalhos.

Ao Dr. José Jurberg, Chefe do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz, por ceder os espécimes de triatomíneos utilizados nos experimentos.

Aos Técnicos do Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, Adalberto Silva, Lenice Gonçalves, Simone Teves e Rívea Rodrigues, pela dedicação e troca de experiências no trabalho, em especial a Ana Paula pelo profissionalismo e responsabilidade na manutenção das colônias de Triatomíneos, utilizados para a realização deste trabalho.

Aos amigos do Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, Ana Laura Carbajal, Catarina Macêdo, Cristina Santos, Dani Lima, Dani Misael, Leandro Borges, Margareth Almeida, Sandra Bonifácio, Suzete Oliveira e William Marques pelos momentos vividos no laboratório, o respeito ao espaço, e as palavras que tanto me ajudaram a crescer.

Aos demais integrantes do Setor de Morfologia, Bioquímica e Ultra-estrutura de Artrópodes e Parasitos, Amanda, Luciana Pacheco, Luciana Pascoal, Luciana Reboredo, Nathanielly, Simone Castro e Shênia Novo.

Aos amigos dos Laboratórios do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, que me incentivaram e acompanharam toda minha trajetória profissional, Alfredo, André Figueiredo, Cláudia Andrade-Coelho, Márcia, Margareth Afonso, Mariângela, Maurício Vilela, Monique, Nataly Souza e Tereza Fernandes.

As Secretárias da Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz, RJ, Ângela, Ester e Simone Marujo, pelo profissionalismo, atenção e carinho com que me auxiliaram durante todo este trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Produção e Tratamento de Imagens, Instituto Oswaldo Cruz, Bruno, Genilton Vieira e Rodrigo Mexas, pela colaboração e atenção nos trabalhos realizados.

Aos professores do Curso de Pós-graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa por todo aprendizado e atenção que me foram passados, ampliando meus conhecimentos em relação aos insetos.

A D. Paula, secretária do Curso de Pós-graduação em Entomologia, pelo carinho e atenção com que atende a todos os alunos do Curso de Entomologia.

Aos colegas da Pós-graduação da Universidade Federal de Viçosa, pela amizade compartilhada durante o Curso, em especial Adrian Molina, Ângela Almeida, Aurinete, Carina Mews, Carla Ribas, César Francischetti, Claudinei, Eugênio Eduardo, Helton Nonato, João Ferreira, Lino Neto, Marcelo Ribeiro, Marco Aurélio, Marcos Lhano, Maria Augusta, Mário Del Sarto e Vinícius Albano, pela paciência, pelo ombro amigo, e por tornarem a vida em Viçosa mais agradável e divertida.

Aos amigos do Setor de Biologia Celular e Biofísica da UFV, Acácia, Ana Lúcia Biggi, Bruno Guedes, Carol, Cirlei Matielo, Conceição Santos, Diego, Edmilson Amaral, Frederico Sales, Lamara Laguardia, Luiza Martins, Maria do Carmo Queiroz (Madu), Maria Inêz, Milton Rennau e Riviane Rodrigues, pelo carinho com que me receberam no laboratório, pela amizade e os momentos agradáveis de convivência.

A Monteiro, técnico do laboratório de Biofísica da UFV, pela atenção e dedicação nos meus experimentos.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV que me permitiu utilizar os equipamentos, em especial á Claudia, pela dedicação e paciência com que me ajudou.

Aos Professores Ângela Isidro de Farias e Severino do Monte Prazeres (*in memorian*), do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco,

por terem me ajudado a subir o primeiro degrau, acreditando e me incentivando na busca por novos desafios.

A Ivaneide Correia, Sabrina Almeida, Simone Miranda e Tate Lana companheiras de república em Viçosa, que compartilharam momentos de alegria e tristeza com paciência e amizade, e hoje são “irmãs adotadas” que pude escolher.

Aos amigos do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Abel Gonzales, Alessandro Giupponi, Amazonas Chagas Júnior, André (Biscoito), Antonieta, Bárbara, Denis Pedroso, Eduardo Vasconcelos (Guma), Francisco Chagas, Gustavo, Odara Boscoli, Rafaela Gadelha, Ricardinho e Sônia Agostinho que acompanharam os passos dessa caminhada e renovam a torcida e carinho a cada encontro.

A Alessandra Lacerda, Allan Bastos, Antonio Correia, Artur Alves, Carla Giupponi, Franklin Lacerda, Jackson Antero, Júlia Pereira, Leopoldo Nóbrega, Marcinha, Marilene, Meiriane Amaro, Raquel Lacerda, Rawlisson Moura, Regiopídio Lacerda, Ricardo Brito, Rose Bezerra, Selene Pereira e Silvana Alcântara, amigos do Crato, Recife e Rio que me incentivaram desde que a realização deste trabalho era apenas um sonho.

A José Guilherme e Fredi Guimarães, pelos ensinamentos do Daymoko que tanto me deram luz, energia e paz espiritual.

À Fundação Oswaldo Cruz pela minha formação como pesquisadora, apoio financeiro e infra-estrutura para o desenvolvimento das minhas pesquisas, e por me proporcionar conviver e aprender com grandes profissionais da área de Saúde Pública.

Ao CNPq e FAPEMIG pela bolsa e auxílio financeiro aos trabalhos desenvolvidos na Universidade Federal de Viçosa.

À Universidade Federal de Viçosa pelo apoio profissional, vivência e crescimento pessoal.

BIOGRAFIA

Simone Patrícia Carneiro de Freitas, filha de Francisco Carneiro de Sousa e Edite Alves de Sousa, nasceu em Crato, Ceará, aos 23 de setembro de 1974. Em janeiro de 1997, licenciou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Regional do Cariri, Crato, CE.

Em setembro de 1997, ingressou no Curso de Especialização em Entomologia, no Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, trabalhando com morfologia interna de triatomíneos. A partir daí, continuou como bolsista no Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ até janeiro de 2004.

Em março de 2004, iniciou o Curso de Doutorado em Entomologia pela Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em 17 dezembro de 2007.

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. OBJETIVOS.....	14
3. RESULTADOS.....	16
3.1 Artigo 1: Morphometry of the testis follicles in <i>Triatoma rubrofasciata</i> (De Geer, 1773) (Hemiptera, Triatominae). <i>Animal Biology</i> 57: 393-400.....	17
3.2 Artigo 2: A comparative study of testis follicles in species of <i>Triatoma</i> (Hemiptera, Triatominae). <i>Animal Biology</i> . <i>In press</i> . To be published in Issue 58, 2008.....	26
3.3 Artigo 3: Fine structure of the male accessory glands of <i>Triatoma rubrofasciata</i> (De Geer, 1773) (Hemiptera, Triatominae). <i>Microscopy Research and Technique</i> 70: 355-360.....	42
3.4 Artigo 4: Ultrastructure of the male accessory glands of two species of <i>Triatoma</i> (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).....	49
3.5 Artigo 5: Ultrastructural localization of basic proteins and carbohydrates in male accessory glands of two <i>Triatoma</i> species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).....	73
4. DISCUSSÃO GERAL.....	96
5. CONCLUSÃO.....	102
6. BIBLIOGRAFIA.....	104

RESUMO

FREITAS, Simone Patrícia Carneiro, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2007. **Aspectos do sistema reprodutor masculino em espécies de *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)**. Orientador: José Eduardo Serrão. Co-orientadores: Jacenir Reis Santos-Mallet e Teresa Cristina Monte Gonçalves.

Nos Triatominae, *Triatoma rubrofasciata* é uma espécie cosmopolita, encontrada em alguns municípios da costa brasileira e *Triatoma brasiliensis* é o principal vetor da doença de Chagas no Nordeste brasileiro, distribuindo-se no sertão dos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais. Recentes estudos, em relação a esta última, demonstraram tratar-se do complexo “brasiliensis”, constituído por: *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, *T. brasiliensis macromelasoma*, *T. melanica* e *T. juazeirensis*. No presente estudo foram relacionadas as características morfológicas e citoquímicas do sistema reprodutor masculino envolvidas a aspectos taxonômicos e reprodutivos em espécies de *Triatoma*. Os folículos testiculares em *T. rubrofasciata* apresentaram quatro categorias, um longo, dois médios, dois curtos e dois muitos curtos, enquanto que as demais espécies mantiveram a classificação descrita para *Triatoma*, dois longos, dois médios e três curtos. Em relação às glândulas acessórias de *T. rubrofasciata*, *T. brasiliensis* e *T. melanica*, grânulos secretores são vistos no epitélio glandular, antes do quinto dia de vida adulta, nos machos em jejum alimentar. A produção de carboidratos e proteínas, possivelmente para a formação do espermatóforo, inicia-se em *T. melanica* antes de *T. brasiliensis*, porém nesta última a produção é mais intensa a partir do quinto dia. Sendo o espermatóforo essencial para o transporte e manutenção do esperma nos insetos, estudos sobre as funções secretoras das glândulas acessórias masculinas podem contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de controle dos vetores da doença de Chagas.

ABSTRACT

FREITAS, Simone Patrícia Carneiro, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, december 2007. **Aspects of the male reproductive system in *Triatoma* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).** Adviser: José Eduardo Serrão. Co-advisers: Jacenir Reis Santos-Mallet and Teresa Cristina Monte Gonçalves.

In Triatominae, *Triatoma rubrofasciata* is a cosmopolitan species, found in some cities of the Brazilian coast and *Triatoma brasiliensis* is main vector of Chagas' disease in the Northeastern Brazil, distributed in the States of Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia and Minas Gerais. Recent studies showed the existence of the "brasiliensis" complex constituted by: *T. brasiliensis brasiliensis*, *T. brasiliensis macromelasoma*, *T. juazeirensis* and *T. melanica*. In present study were related the morphological and citochemical characteristics of the male reproductive system involved with taxonomics and reproductives aspects in *Triatoma* species. The follicles testis in *T. rubrofasciata* presented four categories, a long one, two medium, two short and two very short follicles, whereas the other species maintained the normal classification for *Triatoma*, two long, two medium and three short follicles. In relation to the accessory glands of *T. rubrofasciata*, *T. brasiliensis* and *T. melanica*, secretory granules we seen in the glandular epithelium before the fifth day of adult life, in males starved. Carbohydrates and proteins production, possibly for spermatophore formation, begin in *T. melanica* before than in *T. brasiliensis*. However in this last species this production is more intense from the fifth day. Being the spermatophore essential for the transport and maintenance of sperm in insects, studies on the secretory functions of the male accessory glands may contribute to the development of new control strategies of vectors of Chagas' disease.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os triatomíneos (Reduviidae: Triatominae), que baseado em características morfológicas apresentam 141 espécies agrupadas em 14 gêneros (Galvão et al., 2003; Galvão e Angulo, 2006; Sandoval et al., 2007; Costa e Félix, 2007; Bérenger e Blanchet, 2007).

A principal característica comum nos insetos da subfamília Triatominae é a hematofagia, necessária para completar seu desenvolvimento e reprodução (Friend e Smith, 1985).

No ambiente natural os triatomíneos são encontrados em associação com diversos tipos de animais silvestres (Sherlock, 2000) e seu habitat primário está representado por abrigos, tocas e ninhos de animais como marsupiais, edentados, roedores, carnívoros, morcegos, aves, répteis e anfíbios. (Lent e Wygodzinsky, 1979).

Dentre as espécies de triatomíneos, *Triatoma rubrofasciata* (Figura 1) é uma espécie que ocorre em regiões portuárias, sendo freqüentemente encontrada em alguns municípios da costa brasileira (Macario-Rebelo et al., 1999). Devido a sua íntima associação com ratos, esta espécie é comumente vetor do parasito *Trypanosoma conorhini*, que infecta *Rattus rattus*. A infecção natural de *T. rubrofasciata* com *Trypanosoma cruzi* tem sido registrada no Brasil (Dias e Neves, 1948; Lucena, 1940) embora os hábitos de alimentação e defecação neste inseto sejam relativamente ineficientes do ponto de vista vetorial (Braga e Lima, 1999). Esta espécie está amplamente distribuída em áreas quentes do Velho e Novo Mundo, mas provavelmente é originária do Velho Mundo (Patterson et al., 2001). Além disso, tem sido proposto que *T. rubrofasciata* está numa posição filogenética basal dentro de Triatomini (Hypsa et al. 2002).

Triatoma brasiliensis é o principal vetor da doença de Chagas no Nordeste brasileiro, e está amplamente distribuída no sertão dos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia e Minas Gerais (Costa et al.,



Figura 1: Foto de um macho adulto de *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773).

Comprimento do corpo 20-24mm.

2003a). Três subespécies de *T. brasiliensis* são citadas na literatura: *T. brasiliensis brasiliensis*, *T. brasiliensis melanica* e *T. brasiliensis macromelasoma*. Lent e Wygodzinsky (1979) afirmaram que formas intermediárias são freqüentes e consideraram essas subespécies como sinonímia, além de mencionar uma quarta forma cromática no Estado da Bahia.

Uma chave taxonômica para as diferentes subespécies foi feita por Galvão (1956), onde as descrições são baseadas em padrões cromáticos do pronoto, hemiélitro e patas. Este autor considerou todas como *T. brasiliensis*, alegando que as formas intermediárias são freqüentes no ambiente natural.

Recentemente, estudos multidisciplinares foram feitos a fim de esclarecer se formas melânicas podem representar diferentes variações de *T. brasiliensis* ou se estas podem ser espécies distintas. Os resultados das pesquisas baseadas na morfologia (Costa, 1997; Costa 1997a), aloenzimas (Costa et al., 1997b), biologia (Costa e Marchon-Silva, 1998), ecologia (Costa et al., 1998; 2002) e sequenciamento do DNAm (Monteiro et al., 2004) classificaram a subdivisão de *T. brasiliensis* em: *T. brasiliensis brasiliensis*, *T. brasiliensis macromelasoma*, *Triatoma melanica* e *Triatoma juazeirensis* (Costa et al., 2003b; Costa et al., 2006; Costa e Félix, 2007) (Figura 2).

Estudos sobre as diferentes características morfológicas do sistema reprodutor masculino têm sido realizados em vários grupos de insetos (Forbes e Do-Van-Quy, 1965; Bairati, 1968; Louis e Kumar, 1973; Bahadur, 1975; Wheeler e Krutzsch, 1992; Ferreira et al., 2004; Mikheyev, 2004; Lemos et al., 2005) obtendo-se progressos consideráveis com os estudos histológicos, ultraestruturais e citoquímicos nas estruturas que compõem este sistema.

O sistema reprodutor masculino de insetos é constituído por um par de testículos conectados ao edeago através de um par de canais deferentes. Os testículos são formados por um número variado de túbulos, chamados túbulos seminíferos ou folículos testiculares que são individualmente envolvidos por uma membrana peritonal ou cápsula testicular, formando uma estrutura global (Cruz-Landim, 2001). Uma prolongação fina e



Triatoma brasiliensis Neiva, 1911



Triatoma melanica Neiva & Lent, 1941



Triatoma juazeirensis Costa & Felix, 2007



Triatoma brasiliensis macromelasoma Galvão, 1956

Figura 2: Foto de machos adultos, do complexo “brasiliensis”.

comprimento do corpo de 22-24mm

curta, originando-se da extremidade de cada folículo testicular, forma o canal eferente, que se juntam em um canal comum, o canal deferente, o qual apresenta uma dilatação em um ponto de sua extensão, formando a vesícula seminal, dividindo então este canal em porções pré e pós-vesicular (Ferreira et al., 2004). Em muitos insetos, o trato reprodutor masculino possui glândulas acessórias de origem mesodérmica ou ectodérmica, que se abrem no canal deferente ou no ducto ejaculatório (Snodgrass, 1993; Chapman, 1998).

Considerando-se o número de folículos testiculares estes variam para cada espécie de inseto. Forbes e Do-Van-Quy (1965) mostraram que em Hymenoptera, machos da formiga *Neivamyrmex harrisi* apresentam cada testículo com cerca de 22-25 folículos enquanto que em *Camponotus festinatus* e *Camponotus sayi* cada testículo apresenta nove folículos e em *Camponotus mina* 10 folículos (Wheeler e Kruttsch, 1992).

Em muitas espécies de Heteroptera, o número de ovariolos e folículos é o mesmo em ambos os sexos, sendo que, em algumas espécies este número difere, como *Naucoris maculatus* (Naucoridae) e *Cimex lectularius* (Cimicidae), que possuem dois folículos a mais em cada testículo do que no ovariolo, *Cymatia coleoptera* (Corixidae) têm três ovariolos a mais do que folículos testiculares, e no gênero *Gerris* (Gerridae) são quatro ovariolos e dois folículos testiculares (Woodward, 1950).

Em Reduviidae (Hemiptera), não há desenvolvimento significativo do sistema reprodutor masculino durante os estádios ninfais iniciais, entretanto, o testículo e o canal deferente se desenvolvem rapidamente a partir do quarto estágio (Carayon, 1944). Em machos adultos de Triatominae, a genitália interna apresenta um par de testículos, dois canais deferentes, um par de vesículas seminais, quatro pares de glândulas acessórias e um canal ejaculatório que desemboca no edeago (Barth, 1958). O tamanho dos testículos apresenta oscilações individuais, de acordo com a idade, o estado nutricional e a fase de atividade sexual (Barth, 1958). Cada testículo é formado por sete folículos testiculares entrelaçados e envolvidos pela membrana testicular, que apresentam diferentes

comprimentos entre si ou entre indivíduos, e de acordo com a idade, existindo também diferenças entre os folículos de um só testículo (Barth, 1956).

Em Triatominae, Schreiber et al. (1968) e Silva e Schreiber (1971), baseados na morfologia dos folículos testiculares de algumas espécies, classificaram os gêneros em categorias de acordo com o número, tamanho e espessura destes: *Panstrongylus* com sete folículos finos iguais, *Rhodnius* e *Psammolestes* com cinco folículos curtos e finos e dois longos e grossos e *Triatoma* com três folículos curtos e finos, dois médios e finos e dois longos e grossos. Utilizando-se desta padronização, Gonçalves et al. (1987), mostraram que *Panstrongylus* possui sete folículos aproximadamente iguais, *Rhodnius* cinco folículos curtos e finos e dois longos e grossos e *Triatoma* três folículos curtos e finos, dois médios e grossos e dois longos e finos, discordando de Schreiber et al. (1968) e Silva e Schreiber (1971) no que diz respeito aos gêneros *Triatoma* e *Rhodnius*.

Em ninfas de 5º estágio de *Triatoma vitticeps*, a disposição dos folículos é semelhante a dos adultos, com dois longos, dois médios e três curtos (Jurberg e Campos, 1995).

A posição original ocupada por *Mepraia spinolai*, era considerada como *Triatoma spinolai* (Mazza et al., 1941). Porém, estudos morfométricos do comprimento dos folículos testiculares, realizados por Lent et al. (1994), possibilitaram a revalidação de *Triatoma* para *Mepraia*, uma vez que esta última apresentou diferenças em relação ao tamanho dos folículos, sendo um folículo muito curto, três curtos, dois médios e um longo.

Em relação às glândulas acessórias masculinas, nos insetos em geral, estas ocorrem como estruturas secundárias que primeiramente asseguram o sucesso reprodutivo dos indivíduos, tanto facilitando a transferência, como protegendo os gametas, desempenhando numerosas funções. As glândulas acessórias podem ser estruturas pareadas, como na maioria das Ordens, totalmente ausentes, como em muitos Apterygota e Paleoptera, estruturas ímpares como em Dictyoptera ou estruturas multipareadas, como em Thysanoptera e Coleoptera (Leopold, 1976).

Estudos anatômicos do sistema reprodutor masculino em insetos evidenciam que as glândulas acessórias podem ser de origem mesodérmica, as quais se abrem no vaso deferente ou na vesícula seminal, e de origem ectodérmica, as quais se abrem no ducto ejaculatório ou até mesmo como áreas incorporadas à parede do ducto ejaculatório (Leopold, 1976). Em *Halys dendra* (Hemiptera, Pentatomidae) são vistos dois pares de glândulas, um de origem ectodérmica e outro mesodérmica (Bahadur, 1975).

Dípteros geralmente apresentam um par de glândulas com epitélio simples, e dois tipos de células, que são definidas como primárias e secundárias em *Drosophila melanogaster*. Em Culicidae, uma das glândulas acessórias é dividida por uma estreita constrição muscular denominadas de glândula anterior e glândula posterior, sendo esta última constituída por dois tipos distintos de células (Dapples et al., 1974; Ramalingam e Craig Jr, 1977).

Após sucessivas cópulas, as fêmeas em algumas espécies não acasalam por um variado intervalo de tempo. Esse comportamento é visto como uma rejeição ativa ao parceiro (refratariedade), ou um declínio passivo na atratividade (Gillot, 2003). Experimentos têm mostrado que, a injeção de um homogenado do tecido das glândulas acessórias masculinas, ou a injeção dos componentes purificados destas glândulas, reduzem a receptividade da fêmea para novas cópulas (Gillot e Friedel, 1977). Análises bioquímicas da secreção e caracterização desta substância têm mostrado que estas são constituídas por peptídeos (Lung e Wolfner, 1999; Kubli, 2003) ou proteínas (Fuchs et al. 1969; 1970).

A interpretação de refratariedade ou menor atratividade é um importante meio pelo qual machos de muitas espécies asseguram a paternidade de pelo menos alguns descendentes. No entanto, outras estratégias podem estar envolvidas para assegurar que o macho seja bem-sucedido na cópula. Para o primeiro macho a copular, essa estratégia inclui o uso do tampão físico ou do espermatóforo, que previne a transferência de fluidos seminais adicionais, facilita o estoque do esperma e acelera a produção de

ovos pela fêmea. Para o último macho a copular, a destruição ou deslocamento do esperma depositado previamente é primordial (Gillot, 2003).

A presença do espermatóforo é um caráter plesiomórfico de prevenir cópulas adicionais em insetos. Khalifa (1949) sugeriu que o espermatóforo seja uma adaptação dos insetos ancestrais quando invadiram o ambiente terrestre, e muitas espécies de insetos parecem tê-lo descartado independentemente. Em alguns insetos como *Apis mellifera* e *Drosophila* spp. não há presença de espermatóforo e o fluido seminal coagula dentro do trato reprodutivo da fêmea para formar um tampão copulatório (Gillot, 1988).

Tenebrio molitor (Coleoptera, Tenebrionidae) tem dois pares de glândulas acessórias, classificadas como tubulares (TAG) e em forma de feijão (BAG) (Gadzama et al., 1977). Os produtos de ambos os pares formam o espermatóforo, que empacota o esperma transferido do macho para a fêmea (Gadzama e Happ, 1974). As TAGs secretam um fluido protéico que é misturado com o esperma dentro do lúmen do espermatóforo (Happ et al., 1977). As BAGs secretam proteínas solúveis, muitas das quais precursoras de proteínas estruturais, conhecidas como espermatoforinas (Shinbo et al., 1987) que formam a parede do espermatóforo (Gadzama e Happ, 1974).

Em *Periplaneta americana* (Blattidae), a glândula acessória em forma de cogumelo é composta por três tipos de túbulos denominados, utrículos maiores, intermediários e menores. Os utrículos maiores produzem uma secreção rica em proteínas, lipídios e fosfolipídios, para a formação do espermatóforo (Adiyodi e Adiyodi, 1974).

A produção de proteína para o espermatóforo é controlada pela *corpora allata*, glândula que secreta o hormônio juvenil nos insetos. No entanto, após a allatectomia as glândulas acessórias não são completamente inativadas, apresentando fraca atividade secretora (Blaine e Dixon, 1973).

Em outros insetos, além das proteínas e lipídios, carboidratos também são responsáveis pela formação do espermatóforo, e ao serem transferidos para a fêmea, afetam sua fisiologia, estimulando a oviposição, acelerando a maturação dos ovócitos,

inibindo seu reacasamento e estimulando contrações no ducto genital necessárias para o transporte do esperma (Blum et al., 1962; Butterworth, 1969; Hinton, 1974; Friedel e Gillot, 1977; Paemen et al., 1990; Adams, 2001; Marchini et al., 2003).

Fêmeas de *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera, Acrididae) e de outros acridídeos, retêm os ovos no oviduto lateral por um curto período de tempo, até que as condições para a postura dos ovos estejam favoráveis. Nestes insetos, são os componentes das glândulas acessórias masculinas que especificamente disparam a oviposição (Yi e Gillott, 2000).

Em Triatominae, as glândulas acessórias masculinas são em número de quatro pares. Em cada par, todas se justapõem de maneira que as saídas se encontram num ponto em que uma se estende para frente, denominada de glândula anterior, e as outras três para trás, denominadas de glândulas externa, interna e dorsal (Barth, 1958) (Figura 3).

Em *Rhodnius prolixus*, o espermatóforo varia consideravelmente de tamanho de acordo com a quantidade de secreção estocada nas glândulas acessórias masculinas (Khalifa, 1950). Um dia após a muda imaginal, as glândulas acessórias masculinas não têm secreção e a vesícula seminal não tem espermatozóides.

No terceiro dia após a muda imaginal as glândulas apresentam um material transparente, e a vesícula seminal continua vazia. No quinto dia, três dos quatro pares de glândulas apresentam um material transparente, e o quarto par contém uma secreção opaca e a vesícula seminal está cheia de espermatozóides. Este estágio é atingido independentemente do fato do inseto está alimentado ou não, e após cerca de oito dias de vida adulta, o macho é capaz de produzir o primeiro espermatóforo (Khalifa, 1950).

Em machos cuja secreção das glândulas acessórias foi esvaziada, após receber alimentação sangüínea, observou-se um aumento na secreção glandular e um grande espermatóforo foi produzido, enquanto alguns machos que não receberam alimentação por um longo tempo não produziram espermatóforo. Assim, quando a quantidade de secreção nas glândulas acessórias masculinas é reduzida pelo jejum, não ocorre cópula,

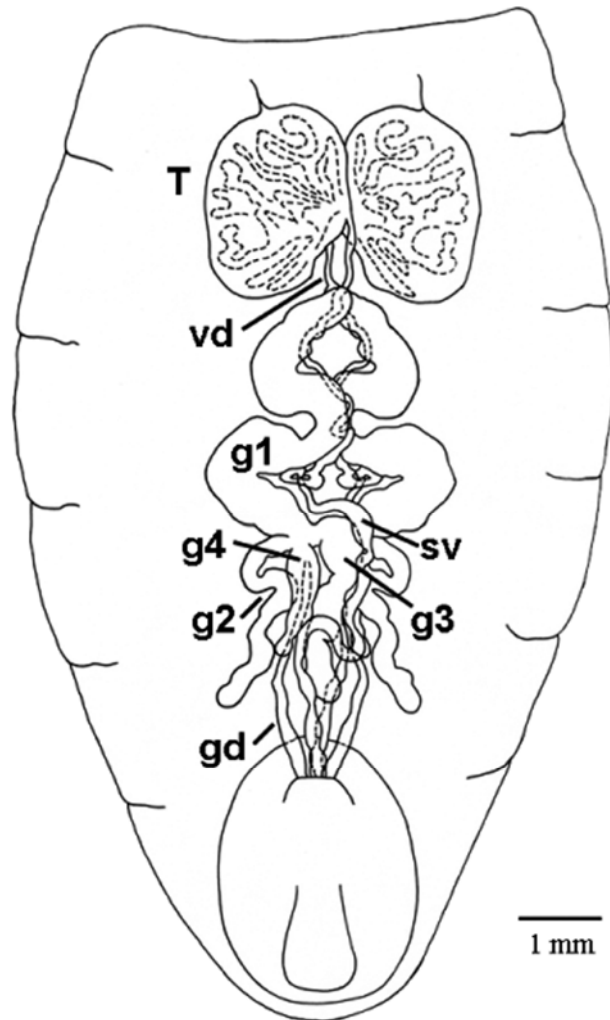


Figure 3: Esquema da genitália interna masculina de *Triatoma brasiliensis* de acordo com o plano do corpo do inseto. Testículos (T), vaso deferente (vd), vesícula seminal (sv), glândula anterior (g1), glândula externa (g2), glândula interna (g3), glândula dorsal (g4), ducto glandular (gd).

mesmo se a vesícula seminal estiver repleta de espermatozóides (Khalifa, 1950).

Em muitos insetos, um espermatóforo é depositado na bolsa copulatória da fêmea durante a cópula, e os espermatozóides então migram para a espermateca onde são armazenados até serem usados na fertilização. Em *R. prolixus* a secreção de três, dos quatro pares de suas glândulas acessórias, forma o espermatóforo, a secreção do quarto par, age diretamente no sistema nervoso das fêmeas fazendo com que os ductos femininos se contraíam e os espermatozóides migrem para a espermateca (Davey, 1958).

A atividade secretora glandular em *Triatoma infestans* depende do estado nutricional do inseto e o estoque de secreção começa somente no sexto dia após a última muda, em insetos alimentados. A vesícula seminal está cheia de espermatozóides até o oitavo dia, porém a primeira cópula, em machos, está associada à necessidade de mais de uma alimentação sangüínea para completar a atividade glandular, ou seja, *T. infestans* só produz secreção suficiente para formar o espermatóforo, com mais de um repasto. Em *Panstrongylus megistus* a formação do espermatóforo é semelhante a *R. prolixus*, machos alimentados ou não, formam o espermatóforo cerca de oito dias após a muda imaginal (Regis et al., 1985). O estoque da secreção nas glândulas em *P. megistus* pode ser visto no segundo dia de vida adulta, independentemente da alimentação. Análises do padrão protéico dessas secreções mostram que os lóbulos dorsal e interno produzem o mesmo tipo de secreção, ao passo que os outros dois lóbulos (anterior e externo) apresentam diferentes padrões de proteínas (Regis et al., 1987).

Deste modo, conhecer a morfologia do sistema reprodutor masculino, com abordagens morfométricas dos folículos testiculares, bem como caracterizar ultra-estruturalmente as células das glândulas acessórias masculinas, e determinar a localização intracelular de proteínas e carboidratos das mesmas, durante o processo de maturação sexual, pode contribuir para o conhecimento taxonômico de Triatominae e os aspectos reprodutivos em diferentes espécies.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

Relacionar as características morfológicas e citoquímicas do sistema reprodutor masculino envolvidas a aspectos taxonômicos e reprodutivos das espécies *Triatoma rubrofasciata*, *T. brasiliensis brasiliensis*, *T. juazeirensis*, *T. brasiliensis macromelasoma* e *T. melanica*.

2.2 Específicos:

1. Caracterizar morfológica e morfometricamente os folículos testiculares nas espécies de *Triatoma*, objeto do presente estudo;
2. Conhecer a ultra-estrutura das células epiteliais das glândulas acessórias, nos primeiros dias de vida;
3. Determinar a localização intracelular de carboidratos e proteínas nas glândulas acessórias.

Resultados

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente estudo estão apresentados na forma de artigos, os quais foram preparados para submissão e/ou já publicados em periódicos especializados:

3.1 ARTIGO 1:

Morphometry of the testis follicles in *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) (Hemiptera, Triatominae). *Animal Biology* 57: 393-400.

3.2 ARTIGO 2:

A comparative study of testis follicles in species of *Triatoma* (Hemiptera, Triatominae). *Animal Biology*. *In press*. To be published in Issue 58, 2008.

3.3 ARTIGO 3:

Fine structure of the male accessory glands of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) (Hemiptera, Triatominae). *Microscopy Research and Technique* 70: 355-360.

3.4 ARTIGO 4:

Ultrastructure of the male accessory glands of two species of *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).

3.5 ARTIGO 5:

Ultrastructural localization of basic proteins and carbohydrates in male accessory glands of two *Triatoma* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae).