

Geometría de las células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae)

Luis Fernando Chaves, Néstor Añez

Laboratorio de Investigaciones Parasitológicas "J. F. Torrealba", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela. E-mail: luchav@ula.ve, nanes@ula.ve.

Resumen

CHAVES LF, AÑEZ N. 2003. Geometría de las células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae). Entomotropica 18(1):1-5.

El presente trabajo fue diseñado con la finalidad de explorar los posibles usos de la geometría de las células del exocorión de huevos de *R. prolixus*. Se empleó la microscopía electrónica de barrido (MEB) para observar huevos de 0 y 20 días de edad, se observó que los patrones geométricos en las distintas zonas del huevo no varían durante su desarrollo y son similares a los de otros insectos.

Palabras clave adicionales: Enfermedad de Chagas, Triatominae, ultraestructura .

Abstract

CHAVES LF, AÑEZ N. 2003. Geometry of exochorion cells of eggs of *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae). Entomotropica 18(1):1-5.

In the present work the scanning electron microscopy (SEM) was used for determining the geometrical patterns of exochorion cells of *Rhodnius prolixus* eggs, these changes were carried out on 0 and 20 days aged eggs, the geometrical patterns obtained by SEM did not vary in our samples and are similar to those of other insect species.

Additional key words: Chagas' disease, Triatominae, ultrastructure.

Introducción

Rhodnius prolixus Stål 1859, en Venezuela es la principal especie transmisora de *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, dolencia limitada al continente americano, que se produce en condiciones naturales por la infección transmitida por vía contaminativa con las deyecciones de los triatominos (Gamboa y Pérez-Ríos 1965).

El punto de control que pareciera ser más efectivo en la disminución de la incidencia de esta parasitosis, es aquel realizado sobre los insectos vectores (Schofield y Dujardin 1997), lo que según especialistas de la Organización Mundial de la Salud (Visschedijk y Siméant 1998) permite estimar la erradicación total de la transmisión de esta enfermedad para el año 2010. Sin embargo, tales predicciones, aunque deseables, parecieran ser muy optimistas si se consideran los reportes de invasiones domiciliarias por nuevas especies de triatominos (Almeida et al. 2000). En este sentido, mientras se logra el objetivo de eliminación de la transmisión vectorial, es necesario continuar con

el estudio de estos insectos, en especial de aquellos estadios relativamente poco conocidos entre los cuales se encuentran los huevos (Barata 1998). El estudio de esta fase del ciclo de vida se ve reforzado si se considera que el criterio de domiciliación de triatominos que impera en la actualidad, se basa fundamentalmente en la detección de ninfas y huevos dentro de los domicilios (Forattini et al. 1970).

En *R. prolixus* los huevos son una fase del ciclo de vida, que desde su postura hasta su eclosión tienen una duración que varía, entre varios factores, según la fuente alimentaria; de esta manera se conoce que cuando tal fuente alimentaria es sangre de conejos está entre los 10 y 37 días, siendo puestos la mayoría entre los 14-16 y 20-22 días (Buxton 1930); cuando se emplean ratones como fuente energética su intervalo de duración está entre 15 y 22 días con una media de $17,69 \pm 0,91$ días (Lent y Valderrama 1977). La fuente alimentaria también influye en el número de huevos puestos por hembra. Con conejos ha sido señalado un

intervalo entre 1 y 28 (Friend et al. 1965), con gallinas es $8,8 \pm 9,8$ (Noriega 1992), con humanos 2,19 si la sangre proviene de mujeres y 9,56 si la misma es de hombres (Aldana et al. 2001).

En relación a la morfología de huevos de especies de triatominos existe información desde el segundo tercio del siglo XX. En este orden de ideas varios trabajos se han realizado empleando la microscopía óptica, entre los cuales se pueden nombrar los siguientes: Briceño-Iragorry (1934) describe que los huevos de *R. prolixus* poseen células poligonales, tal resultado es afirmado por Galliard (1935), Beament (1946) y Barth y Muth (1958). Galliard (1935) además afirma que tales formas poligonales son impresas por las células epiteliales de las glándulas ováricas. Lucena y Rego (1969) encuentran que los polígonos del exocorion de huevos de triatominos pueden variar su número de lados entre 5 y 8, señalando que en *R. prolixus* la superficie de las células del exocorion es granulosa.

Lent y Wydgozinsky (1979) afirman que en triatominos, el aspecto del corión de los huevos es especie específico, encontrándose la excepción de *Triatoma protracta*, especie en la cual varía según la población. Sin embargo, los autores no hacen una descripción extensa al respecto.

Barata (1981) empleó las microscopías óptica (MO) y electrónica de barrido (MEB) para la descripción de los aspectos exocoriales de huevos de especies del género *Rhodnius*, encontrando un mayor potencial en la técnica de MEB, presentando como características de *R. prolixus* las siguientes: células hexagonales con líneas limitantes bien definidas y granulaciones graduadas, irregulares y abundantes con distribución más acentuada hacia los bordes de los embudos.

Recientemente, Zamora et al. (2000) empleando microscopía electrónica de barrido, sugieren la posibilidad que la arquitectura de los huevos de *R. prolixus* podría corresponderse con la de un sólido de Arquímedes, dada la presencia de células poligonales como aquellas que conforman dichos sólidos.

Lo expuesto ha motivado el interés de estudiar los patrones geométricos de las células de las distintas partes de la superficie del huevo de *R. prolixus*, a fin de establecer si la misma presenta cambios durante su desarrollo y evaluar su utilidad como herramienta para determinar la edad de los huevos una vez puestos, empleándose para tal fin la microscopía electrónica de barrido.

Materiales y Métodos

Los ejemplares estudiados de *Rhodnius prolixus* procedían de la Colonia de triatominos del Laboratorio

de Entomología "Herman Lent" del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes. Tal colonia es mantenida bajo las siguientes condiciones: temperatura de 25°C, humedad relativa entre el 70 y 75% y un periodo de 12 horas luz/ 12 horas oscuridad(12:12).

El criterio para la toma de imágenes en el microscopio electrónico de barrido fue escoger huevos de edades conocidas, considerándose para tal fin las dos edades extremas, es decir, huevos recién puestos (0 días), de coloración rosada clara y sin hendidura, y huevos eclosionados (20 días) de color blanco con o sin hendidura. Las imágenes del exocorion de los huevos fueron tomadas en el opérculo (zona cefálica), el borde opuesto o región caudal y la zona media.

El protocolo para la preparación de los huevos fue ejecutado tomando elementos de los propuestos por Rogo et al. (1992), Rosa et al. (2000) y Zamora et al. (2000). El mismo consiste en fijación en glutaraldehído al 5 % durante dos horas a 4 °C, seguido por dos lavados en PBS pH 7,2 a 4 °C, de un minuto de duración; deshidratación en la serie alcohólica : 30 %, 50 %, 70%, 80 %, 90 % y 100 %, diez minutos en cada alcohol. Seguidamente fueron adheridos a un soporte para Microscopía Electrónica de Barrido y fueron secados en una cámara de aspiración durante 14 horas a una presión de 150 mmHg, seguido de un recubrimiento con Oro (Au) en cubridor iónico SPI, con una exposición de 90 segundos de duración, 18 mAmp. de corriente y una presión de 0,3 mbar.

La toma de imágenes fue realizada en el Microscopio Electrónico de Barrido Hitachi (S-2500) del Laboratorio de Análisis Químico y Estructural de Materiales (L.A.QUI.E.M) del Grupo de Física Aplicada del Departamento de Física de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes.

Resultados

Las observaciones realizadas con microscopía electrónica de barrido (Figura 1) permiten afirmar que la única diferencia que se observa entre los 0 y 20 días es un mayor grosor en el borde contiguo a las líneas limitantes de los huevos de 0 días. También se observa que los patrones geométricos, entendiéndose por patrón geométrico la regularidad en la presencia de células poligonales de geometría similar, no varían en el tiempo en las diferentes zonas del huevo. En A, la zona cefálica, se pueden apreciar diversos polígonos: heptágonos, pentágonos y hexágonos; en B y D, la zona media, se observan predominantemente células hexagonales; y en C y E, la zona caudal, el patrón es

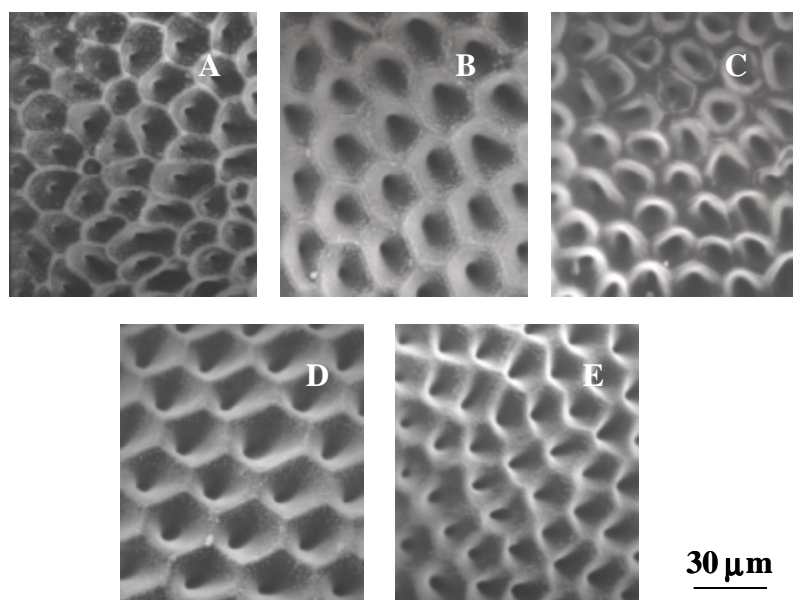


FIGURA 1. Patrones geométricos de células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* de 0 y 20 días de edad. A: Zona Opercular 0 días , B: Zona Media 0 días, C: Zona Caudal 0 días, D: Zona Media 20 días, E: Zona Caudal 20 días.

similar al descrito para la zona cefálica, con presencia de células hexagonales, pentagonales y heptagonales.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran que la distribución de las células poligonales del exocorión de los huevos de *R. prolixus* presentan en sus regiones cefálica y caudal células con formas geométricas de pentágonos, heptágonos y hexágonos y en la media principalmente hexágonos. Se conoce que una distribución similar de células poligonales es indicada por Mascarenhas (1982) para huevos de *R. brethesi* Matta 1919. Barata (1998) afirma que patrones poligonales están presentes en las superficies coriónicas de huevos de todas las especies de la subfamilia Triatominae donde tal fase del ciclo de vida ha sido estudiada.

Sites y Nichols (1999) estudiando huevos de la familia Naucoridae, describen que los mismos poseen patrones de reticulación en los que también se observan formas poligonales que van de las pentagonales a las octagonales, por lo que el carácter de la presencia de células de apariencia poligonal está presente en los heterópteros. Pero este carácter no se restringe sólo a heterópteros. Sierra et al. (1995) en un estudio de huevos de *Lutzomyia gomezi*, Nitzulescu 1931, (Diptera:Psychodidae), describen que la superficie de éstos presenta un patrón poligonal irregular conformado por pentágonos y hexágonos, por lo que puede observarse que este patrón es común a especies de varios órdenes de insectos.

Esta poca variabilidad en las formas poligonales de las células de la superficie del corion de huevos de insectos puede deberse al hecho que esta conformación sea propia del plan de desarrollo de la clase Insecta, es decir forma parte del programa de desarrollo ontogenético propio de esta fase del ciclo de vida de los insectos, pues como señalan Oster & Alberch (1982), los fenotipos son discretos y tienden a agregarse alrededor de temas correspondientes a taxa. Por eso si consideramos la presencia de este carácter en varios órdenes de insectos, lo que implica la agregación de varios taxa alrededor de un plan estructural común, no debería considerarse la geometría de estas células como un carácter de valor taxonómico en niveles inferiores a la clase Insecta.

Si bien se observa una disminución en el ancho del borde contiguo a las líneas limitantes durante el desarrollo post-ovipostura, este cambio no debe ser empleado como una herramienta para determinar la edad de oviposición, pues existe al menos una herramienta más sencilla, basada en los cambios morfométricos que sufren los huevos durante su desarrollo y que permiten la separación de los mismos de acuerdo a su edad (Chaves et al. 2001). De igual modo el ancho de este borde no debe ser considerado para la identificación taxonómica de especies del género *Rhodnius* pues el mismo varía ampliamente durante el desarrollo de esta fase del ciclo de vida de *R. prolixus*. Esto no ocurre con la granulación, la cual no varía durante el desarrollo y puede ser usada como

propone Barata (1981) en la identificación taxonómica de especies del género *Rhodnius*.

Finalmente la distribución de las formas poligonales en los huevos de *R. prolixus*, que efectivamente se asemeja a la de un sólido de Arquímedes (Zamora et al. 2000) posee una explicación estructural. En los polos deben existir formas poligonales diferentes de hexágonos, pues éstas son las que permiten que el huevo posea una topología que le permita cerrarse, tal como ocurre en otros sólidos parecidos a los de Arquímedes, por ejemplo los fullerenos (Chung y Sternberg 1993), mientras que en la zona media pueden existir arreglos formados por células hexagonales, ya que dicho arreglo puede extenderse sobre una superficie plana o curva (Thompson, 1961), lo que permite explicar que los cambios morfométricos durante el desarrollo post-ovipostura ocurran en esta zona como indica Chaves (2001), ya que es la única que posee una geometría formada predominantemente por hexágonos.

Agradecimiento

Expresamos nuestro agradecimiento a Eliézer Lizano por su colaboración en la obtención del material biológico, al Prof. Juan González por su asistencia técnica durante la toma de imágenes con el microscopio electrónico de barrido y al Prof. Daniel Morales por sus oportunos y valiosos comentarios sobre el tema de los sólidos de Arquímedes. Trabajo financiado por los Proyectos G-99000036 del Fonacit; C-1016-00-07-AA y C-1088-01-03-F del CDCHT de la Universidad de Los Andes, bajo la responsabilidad de Néstor Añez.

Referencias

- ALDANA E, LIZANO E, VALDERRAMA A. 2001. Efecto de la alimentación con sangre humana sobre la fecundidad, fertilidad y ciclo biológico de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Biol Trop* 49(2):689-691.
- ALMEIDA C, VINHAES M, ALMEIDA J, SILVEIRA A, COSTA J. 2000. Monitoring the domiciliary and peridomiciliary invasion process of *Triatoma rubrovaria* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95(6):761-768.
- BARATA JMS. 1981. Aspectos morfológicos de Ovos de Triatominae II.- Características Macroscópicas e exocoriais de dez espécies do género *Rhodnius* Stal., 1859 (Hemiptera : Reduviidae). *Rev Saúde Públ* 15:490-542.
- BARATA JMS. 1998. Estruturas macroscópicas e exocoriais de ovos de Triatominae. En : Atlas dos vetores da Doença de Chagas nas Américas. (R.U. Carcavallo, I. Galíndez Girón, J. Jurberg & H. Lent eds.). Vol. II:409-448. Editora Fiocruz : Rio de Janeiro.
- BARTH R Y MUTH H. 1958. Estudos anatômicos e histológicos sobre a sub-familia Triatominae (Heteroptera, Reduviidae) VIII parte: Observações sobre a superfície dos ovos das espécies mais importantes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 56(1):197-208.
- BEAMENT J. 1946. The formation and structure of the micropylar complex in the Egg-Shell of *Rhodnius prolixus* Ståhl. (Heteroptera: Reduviidae). *J Exp Biol* 23(3/4):213-233.
- BRICEÑO-IRAGORRY L. 1934. Contribución al estudio morfológico de los huevos de algunos reduvidos. *Bol Soc Ven Cienc Nat* 2(18):397-400.
- BUXTON P. 1930. The Biology of a Blood-Sucking Bug, *Rhodnius prolixus*. *Trans Ent Soc London* 78(2):227-236.
- CHAVES LF. 2001. Morfometría de huevos de *Rhodnius prolixus* y geometría de células del exocorión como herramienta para determinar la edad de oviposición. [Tesis de Grado]. Mérida : Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. 25 p.
- CHAVES LF, RAMONI-PERAZZI P, AÑEZ N. 2001. Índice Morfométrico y patrón de coloración para estimar la edad de oviposición en huevos de *Rhodnius prolixus*, transmisor de *Trypanosoma cruzi*. *Talleres*. 7:145.
- CHUNG F Y STERNBERG S. 1993. Mathematics and the Buckyball. *American Scientist* 81:56-71.
- FORATTINI OP, RABELLO E, CASTANHO M, PATTOLI D. 1970. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. I.- Observações sobre *Panstrongylus megistus* e suas relações com focos naturais de Infecção em área urbana na cidade de São Paulo. *Rev Saúde Públ* 4:19-30.
- FRIEND W, CHOY T, CARTWRIGHT E. 1965. The effect of nutrient intake on the development and the egg Production of *Rhodnius prolixus* Ståhl (Hemiptera : Reduviidae). *Can J Zool* 43(6):891-904.
- GALLIARD H. 1935. Recherches sur les Réduvidés Hématophages *Rhodnius* et *Triatoma* V.- Morphologie de l'œuf des Triatomes. *Ann Parasit Hum Comp* 13(6):511-527
- GAMBOA J Y PÉREZ-RÍOS L. 1965. El 'rancho' venezolano : su Influencia en la Prevalencia Triatomina Doméstica. *Bol Dir Malaria y San Amb* 5(2):129-140.
- LENT H Y VALDERRAMA A. 1977. Observações em laboratório sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 *R. pictipes* Stal, 1872 e *R. neivai* Lent, 1953. *Rev Bras Biol* 37(2):325-344.
- LENT H Y WYDGOZINSKY P. 1979. Revision of Triatominae (Hemiptera : Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull Amer Mus Nat Hist* 163(3):123-520.

- LUCENA D Y REGO M. 1969. Microestrutura do Exocório de Ovos de Triatomíneos do Nordeste do Brasil. Rev. Inst. Med Trop São Paulo 11(2):87-93.
- MASCARENHAS B. 1982. Triatomíneos da Amazônia : Morfometria do Ovo de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Triatominae). Acta Amazonica. 12(2):661-664.
- NORIEGA F. 1992. Autogeny in three species of Triatominae : *Rhodnius prolixus*, *Triatoma rubrovaria*, and *Triatoma infestans* (Hemiptera : Reduviidae). J Med Entomol 29(2):273-277.
- OSTER G Y ALBERCH P. 1982. Evolution and bifurcation of developmental programs. Evolution. 36(3):444-459.
- ROGO L, KOKWARO M, MUTINGA M, KHAMALA C. 1992. Differentiation of vector species of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) in Kenya by Chorionic sculpturing of their Eggs. J Med Entomol 29(6):1042-1044.
- ROSA JA, BARATA JMS, SANTOS JL, CILENSE M. 2000. Morfologia de ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). Rev Saúde Públ 34(5):538-542.
- SCHOFIELD C Y DUJARDIN JP. 1997. Chagas' Disease vector control in Central America. Parasitology Today. 13 (4):141-144.
- SIERRA D, VELEZ I, URIBE S. 1995. Electronic Microscopy of Eggs as a Taxonomic Parameter. Bol Dir Malaria y San Amb 35(Supl. 1):327-336.
- SITES R. Y NICHOLS B. 1999. Egg architecture of Naucoridae (Heteroptera): internal and external structure of the chorion and micropyle. Proc Entomol Soc Wash 101(1):1-25.
- THOMPSON D. 1961. On Growth and Form, abridged edition. Cambridge University Press: Cambridge. 346 p.
- VISSCHEDIJK J Y SIMÉANT S. 1998. Targets for health for all in the 21st century. Wld. Hlth. Statist Quart 51:56-67.
- ZAMORA E, CHAVES LF, ALDANA E, LIZANO E, VALIENTE E. 2000. Estudio anatómico del tubo ovárico de *Rhodnius prolixus* utilizando el microscopio electrónico de barrido (MEB). Acta Microscópica (Supl. 1):132-133.

Recibido: 12-vii-2002

Aceptado: 05-ii-2003

Correcciones devueltas por el autor: 11-ii-2003