

SYSTEMATICS, MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY

Análisis Morfológico de Huevos de *Triatoma barberi* Usinger
(Hemiptera: Reduviidae)ZAHAED EVANGELISTA-MARTÍNEZ^{1*}, JOSÉ L IMBERT-PALAFIX^{2*}, MARCO A BECERRIL-FLORES²,
JUAN V GÓMEZ-GÓMEZ²¹Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, AC Unidad Sureste, México²Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México

* ZEM y JLIP contribuyeron de igual manera en este trabajo

Edited by Neusa Hamada – INPA

Neotropical Entomology 39(2):207-213 (2010)Morphologic Analysis of Eggs of *Triatoma barberi* Usinger (Hemiptera: Reduviidae)

ABSTRACT - *Triatoma barberi* Usinger is a widely recognized vector of the protozoa *Trypanosoma cruzi*. The determination of its presence in the rural houses is made by direct observation of adults, nymphs, exuviae or eggs. For this reason, egg structural characteristics could facilitate the differentiation and identification of species that inhabit such environments. In here, the morphologic characteristics of eggs of *T. barberi* are described and analyzed with special attention to the anterior pole of the egg. The structural analysis of eggs by scanning electron microscopy (SEM) showed the presence of a wide and rough chorion edge, which contain aeropyles and micropyles. A deep spermatic canal between the endochorion and exochorion, and a trabecular network in the interior were also observed. The operculum showed cells with irregular growth and undefined polygonal shape. Externally, the operculum cells forms two rings of projections that surround a single extension located to the center. The cellular projections resemble respiratory horns, although the presence of aeropyles was not observed. The chorion structural characteristics can help to identify and separate close species in the Triatominae subfamily.

KEY WORDS: SEM, operculum, Chagas vector

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoario *Trypanosoma cruzi*, representa un problema de Salud Pública en México y en América Latina, con cerca de nueve millones de personas infectadas con el parásito y cerca de 25 millones de personas en riesgo de infección (WHO Expert Committee 2002). El parásito es transmitido al hombre por los insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae que comprende 140 especies reconocidas, clasificadas en 18 géneros que pertenecen a seis tribus (Galvão *et al* 2003, Costa & Felix 2007, Bérenger & Blanchet 2007), de las cuales 31 están presentes en México y 18 de ellas han sido encontradas infectadas por *T. cruzi* (Zárate & Zárate 1985). Es importante mencionar que *Triatoma barberi* se encuentra ubicada dentro de las 10 especies que presentan mayor relevancia epidemiológica por la transmisión del parásito a los humanos (Guzmán-Marín 1990, Guzmán-Bracho 2001, Galvão *et al* 2003).

Triatoma barberi Usinger es considerada la especie endémica más importante en México transmisora de la enfermedad de Chagas por las siguientes razones: por ser de hábitos domésticos y peridomésticos (Zárate 1983, Salazar *et al* 2005), porque generalmente coexiste en la misma casa con otras especies domésticas como *T. dimidiata* y *T. pallidipennis* (Zárate & Zárate 1985) y por presentar amplia

distribución geográfica que abarca 14 estados principalmente en la región central del país (Gúzman-Bracho 2001, Peterson *et al* 2002).

De acuerdo a la experiencia obtenida del trabajo en campo la identificación de especies de triatominos no es un trabajo sencillo, sobretodo porque se dificulta la identificación cuando en lugar de organismos adultos se encuentran organismos en estado de ninfa o bien cuando se encuentran exclusivamente los huevos (Becerril-Flores MA 2008 información personal). Un ejemplo de lo anterior son los estudios que se han realizado en el estado de Hidalgo, en los cuales se han identificado cuatro especies de triatominos a partir de coleccionar exclusivamente organismos adultos, dentro de las cuales se encuentran *T. dimidiata*, *T. mexicana*, *T. gerstaeckeri* y *T. barberi* (Becerril-Flores 2008 información personal, Vidal-Acosta *et al* 2000). Recientemente, en un estudio realizado por nuestro grupo de investigación se determinaron nuevas zonas endémicas de la enfermedad de Chagas en Hidalgo, identificando organismos adultos de *T. barberi*, *T. mexicana* y *T. dimidiata* infectadas con *T. cruzi*, presentándose los aislados más virulentos en *T. barberi* (Becerril-Flores *et al* 2007).

Resulta muy importante identificar y caracterizar las especies de triatominos agrupadas en la subfamilia Triatominae

y de manera particular a las especies del género *Triatoma* que juegan un papel determinante en la transmisión de enfermedades. Por lo anterior, resulta trascendente realizar estudios de morfología y estructura anatómica de estos insectos empleando técnicas de microscopía óptica y electrónica que permitan observar diferencias entre las especies y complementarlos con estudios empleando herramientas de bioquímica y genética para reconstruir la filogenia de la subfamilia (Carcavallo *et al* 2000, Hypsa *et al* 2002).

Los estudios morfológicos sobre huevos primordialmente han aportado conocimiento sobre la distinción genérica o específica de los miembros de la familia (Barata 1981, Jurberg *et al* 1986). Estos estudios han sido importantes porque buscan nuevos parámetros para utilizarse en la taxonomía de triatomos, tomando elementos morfológicos de los huevos para elaborar una clave dicotómica y auxiliar en la determinación de una especie (Jurberg *et al* 2002). De hecho, Galliard (1935), señaló la importancia del estudio morfológico de los huevos, considerando que las diferencias en las ornamentaciones externas podrían ser usadas para diferenciar especies.

Tomando en cuenta que en ambientes domiciliarios es más frecuente encontrar los huevos de Triatomos, sus cascarones e incluso exuvias, en lugar de ninfas u organismos adultos (Rocha *et al* 1996), resulta importante estudiar las características morfológicas de los huevos, considerando que existe una exigencia de identificación más precisa de las especies que habitan en México. En el presente trabajo se realizó un estudio por microscopía electrónica de barrido (MEB) de los huevos de *Triatoma barberi*, de manera que las características que presentan incrementan la cantidad de rasgos que puedan ser empleados para lograr su identificación.

Material y Métodos

Insectos. Todo el material empleado en el presente estudio fue obtenido a partir de colonias de *T. barberi* mantenidas en el Laboratorio de Microbiología Molecular de Enfermedades Infecciosas del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Estas colonias se constituyeron a partir de material colectado en la localidad de El Ahorcado como previamente se reportó (Becerril-Flores *et al* 2007). Las colonias se alimentaron una vez por semana sobre ratón y se mantuvieron a una temperatura de 28°C con humedad relativa del 66%. De estas colonias se retiraron los huevos y cascarones para las observaciones.

Microscopía electrónica de barrido. La preparación del material empleado para el análisis estructural se realizó de la siguiente manera: los huevos se fijaron por 48h en solución de ácido cacodílico 0.1M pH 7.3, sacarosa 0.1M, glutaraldehído 2.5%, paraformaldehído 2%, CaCl_2 5 mM y MgCl_2 5 mM. Después de fijados, los huevos se lavaron tres veces con agua destilada por 60 min en cada lavado y posteriormente se deshidrataron con distintas concentraciones de alcohol etílico con la serie 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90 y 96%. Los huevos una vez deshidratados se secaron a 55°C antes de proceder a fijarlos en cinta negra de doble cara pegada en portamuestra de cobre. El material fijado se cubrió con una mezcla oro:paladio en la

proporción 80%/20% (w/w) en un aparato Dentom Vacuum Desk II a 100 mTorr y 20 mA. El análisis estructural de los huevos se realizó en un Microscopio Electrónico de Barrido Joel France, Model 6300.

Resultados

Los huevos de *T. barberi* se caracterizan por presentar coloración blanquecina después de la oviposición, volviéndose transparentes una vez que eclosionan. En promedio, los huevos presentaron 1,94 +/- 0.06 mm de largo y 0.95 +/- 0.05 mm de ancho antes de la eclosión y un tamaño de 1.72 +/- 0.03 mm de largo después de eclosionar. Morfológicamente presentan forma elipsoide (Fig 1a), con el exocorion formado por células poligonales con aspecto acolchonado y sin perforaciones u otro tipo de ornamentaciones, ubicándose células con geometría hexagonal casi en su totalidad hacia la región media y células con geometría pentagonal, hexagonal, heptagonal y octagonal hacia la región cefálica y caudal del huevo (Fig 1b). En el cuerpo del huevo se distinguen dos líneas longitudinales suaves que se continúan paralelamente desde la región apical a la región dorsal (Fig 1c). Internamente y justo debajo del opérculo se encuentra la membrana endocorial que rodea al embrión y que presenta aspecto liso y un arreglo poligonal apenas visible (Fig 1d).

No presentan cuello, pero a diferencia de muchos huevos de triatomos externamente presentan un borde corial ancho y rugoso en donde se observa en la base inferior del borde un orificio que corresponde a la micropila y sobre la línea de eclosión se observan una serie de orificios que corresponden a las aeropilas (Fig 2a). Internamente, el borde corial abre su luz al interior del huevo en un orificio espermático y se observa un canal profundo que corre a lo largo del borde corial y al que se comunican tanto las aeropilas como las micropilas del huevo (Fig 2b).

Comparado con los opérculos de diferentes especies del género *Triatoma*, externamente el opérculo de *T. barberi* está formado por células que presentan crecimiento irregular a manera de proyecciones exocoriales que sobresalen del opérculo y que semejan cuernos respiratorios (Fig 3a). Las proyecciones se agrupan en dos anillos concéntricos; el externo perfectamente definido está formado por 30-40 proyecciones y el interno tiene variación en su número, del cual se observan desde cuatro y hasta 10 proyecciones que rodean la extensión más larga ubicada en el centro del opérculo, que es constante en todos los huevos analizados. A pesar de que las proyecciones operculares semejan cuernos respiratorios, no es clara la presencia de aeropilas u orificios respiratorios en su extremo distal, a pesar de ello se observa entre el anillo externo y el borde opercular una zona formada por una región trabecular sobre la que muy posiblemente se encuentren aeropilas distribuidas a lo largo de esta región (Fig 3b). No se observaron orificios que comuniquen a las proyecciones exteriores con el interior del opérculo, pero si se observó en el borde opercular interno, entre el exocorio y endocorio, la presencia de un canal que presenta una red trabecular que internamente forma un espacio aéreo (Fig 3c).

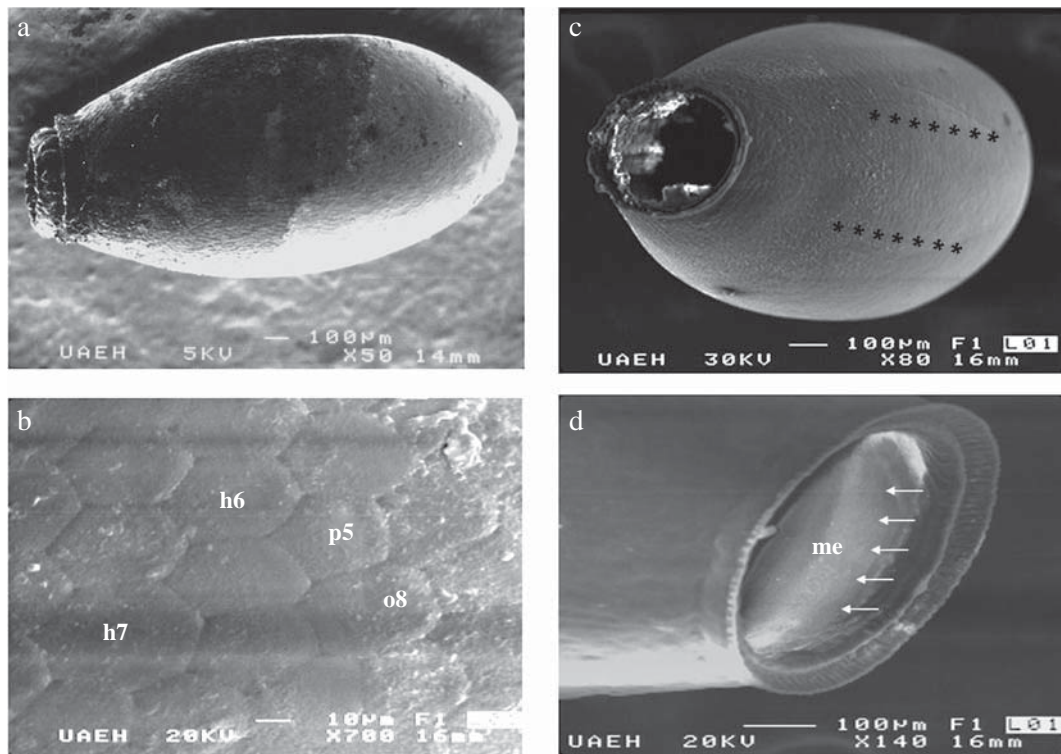


Fig 1 Aspecto general de huevos de *T. barberi* estudiados por MEB. a) vista de perfil donde se observa hacia la región anterior el opérculo con proyecciones exocoriales (50x). b) células poligonales cercanas al borde corial; p5 – pentagonales, h6 – hexagonales, heptagonales – h7, octagonales – o8 (700x). c) (*) líneas longitudinales cuya función es participar en la eclosión del huevo y salida de la ninfa (80x). d) membrana endocorial (me) señalada por flechas (140x).

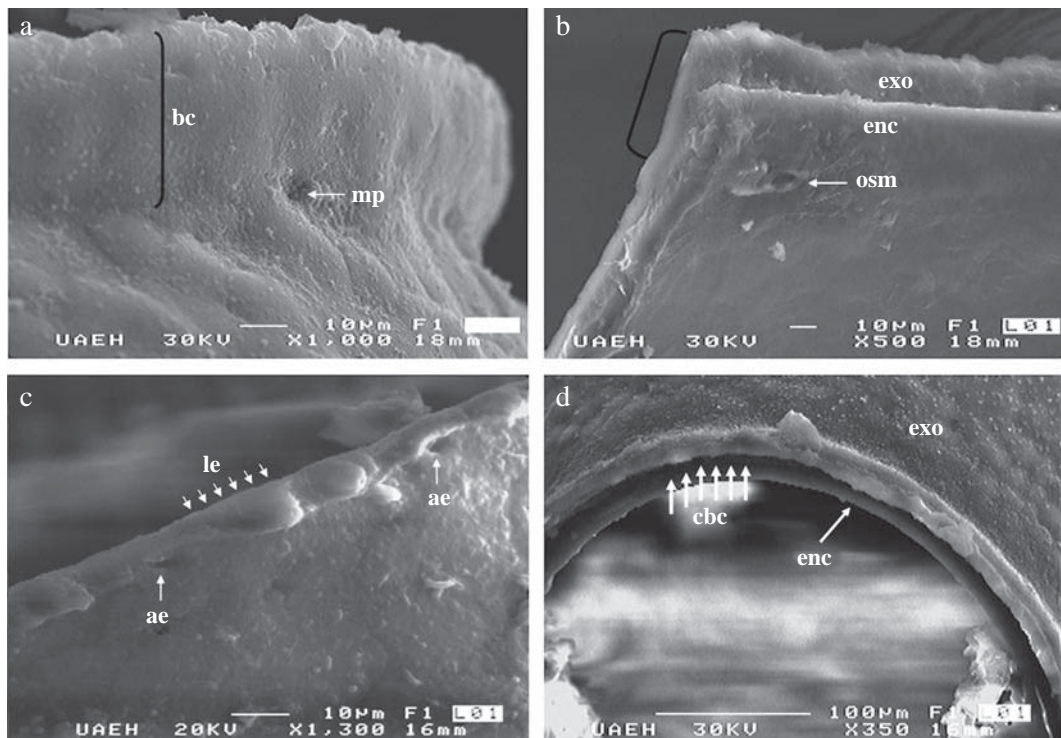


Fig 2 Detalles de la región opercular de huevos de *Triatoma barberi* estudiados por MEB. a) detalle externo del borde corial (bc), se observa micropila (mp) cerca de la base del borde (1000x). b) detalle interno del borde corial, se observa orificio de salida de micropila (osm), así como el endocorio (enc) y exocorio (exo) (500x). c) borde corial externo, se observan aeropilas (ae) sobre la línea de eclosión (le) (1300x). d) canal del borde corial (cbc) formado entre el exocorio y endocorio (350x).

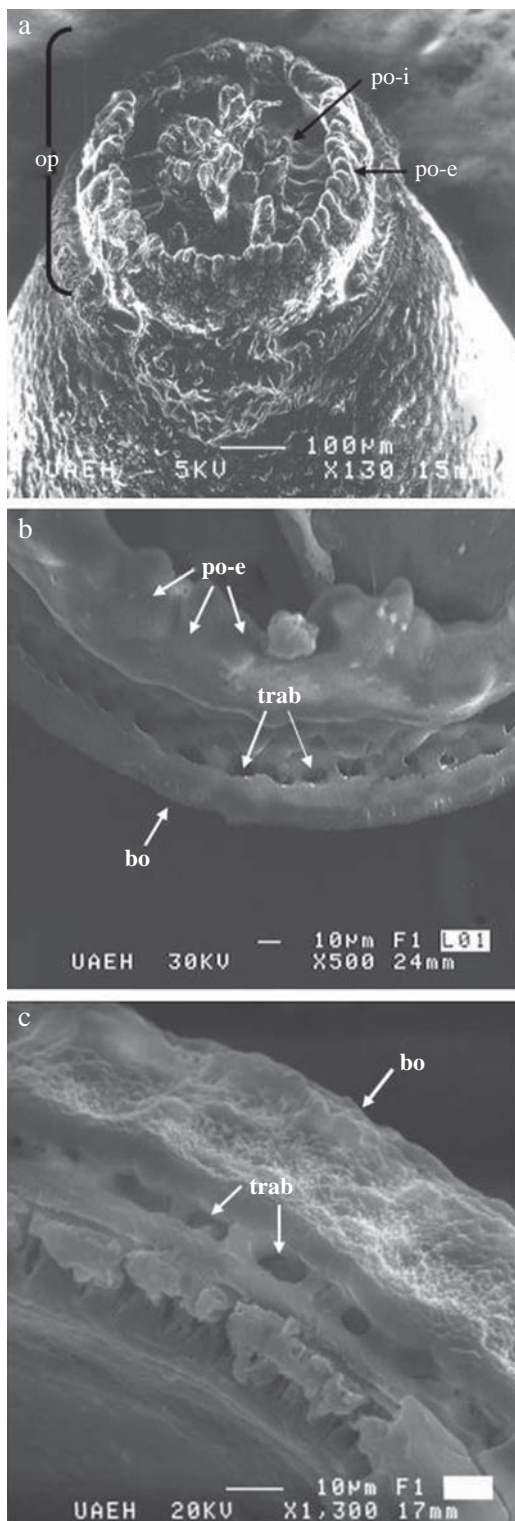


Fig 3 Morfología y estructuras del opérculo. a) detalle del opérculo (op) y los anillos externo (po-e) e interno (po-i) de las proyecciones exocoriales (130x). b) superficie exterior del opérculo, se observan el anillo externo de proyecciones exocoriales (po-e), las trabéculas (trab) y el borde opercular (bo) (500x). c) superficie interna del opérculo, se observan trabéculas (trab) y grandes espacios aéreos que coinciden físicamente con el espacio del canal del borde corial (1300x).

Discusión

De acuerdo a Visciarelli y colaboradores (2004), dentro de la subfamilia Triatominae las características exocoriales ayudan a realizar la identificación de sus géneros, exceptuando al género *Triatoma*, debido a que sus huevos no presentan patrón homogéneo en el exocorio, siendo sólo posible agrupar especies con aspectos morfológicos comunes que caracterizarían a este género. Además, porque existe gran variabilidad entre los géneros y gran homogeneidad entre las especies y porque se observan homologías entre especies de diferentes géneros (Barata 1998). Esta variación en las características morfológicas de los huevos y de los organismos adultos obedece a su evolución y a los diferentes ecotopos donde habitan los géneros de la subfamilia; en el caso de las especies del género *Rhodnius* se encuentran asociadas a palmas, las especies de *Panstrongylus* se encuentran en cavidades y huecos de palmas, en árboles y madrigueras de vertebrados silvestres y las especies del género *Triatoma*, frecuentemente se encuentran en hábitats rocosos y en madrigueras de roedores (Gaunt & Miles 2000).

La hipótesis más aceptada sobre el origen de los triatominos es la que los ubica como un grupo polifilético, definido con base a la alimentación hematófaga que apareció varias veces en la familia Reduviidae y que se apoya en evidencia de estudios ecológicos, taxonómicos, morfológicos, enzimáticos y moleculares que corroboran dicha hipótesis (Tartarotti *et al* 2006). Por ello se podría decir que las diferencias entre los huevos de las diferentes especies es el resultado de su origen filogenético y del hábitat donde se ubica, lo que significa que posiblemente una parte de la subfamilia, es decir, sólo algunos géneros y algunas especies de otros géneros, conformen una subfamilia válida. Lo que es evidente es que se requieren llevar a cabo análisis adicionales de otros caracteres de las especies, incluyendo los caracteres morfológicos. Por eso, resulta interesante que las características ultraestructurales de los huevos conformen una clave taxonómica que pudiera ser utilizada en conjunto con las características de los organismos adultos para lograr una identificación específica del organismo, o en su caso ayuden a discriminar entre géneros cercanos y en algunos casos permita discriminar algunas especies, sobretodo las especies que tienen mayor importancia desde el punto de vista de la Medicina y la Salud Pública.

Existen numerosos estudios sobre la morfología de huevos de miembros de la subfamilia Triatominae, sobre todo de especies localizadas geográficamente en la región de América del Sur. Desde los estudios de Galliard (1935) hasta la actualidad los trabajos se han enfocado en utilizar estructuras morfológicas del huevo para la identificación de las especies. Destaca el estudio realizado por Jurberg y colaboradores (1991), quienes analizaron el exocorio de huevos y la morfología externa de ninfas de *T. nitida* Usinger 1939 mediante microscopía óptica y de barrido con la finalidad de que pudieran ser utilizados para diferenciarla de la especie afín *T. neotomae* Neiva, 1991. Específicamente para los huevos, observan en su cuerpo y opérculo áreas poligonales que en su mayoría son pentágonos y hexágonos,

con pocos cuadrados y heptágonos, son de superficie lisa y sin presencia de perforaciones. Quizá los estudios de Barata (1998) sean los trabajos que de manera general pueden emplearse como base para describir las características que presentan los huevos de *Triatoma*. Los huevos se han podido clasificar de acuerdo a su estructura coriónica, en dos grupos básicos: el I que se caracteriza porque el corion del huevo presenta células hexagonales con perforaciones, el huevo no presenta cuello ni collar y el borde corial es continuo al plano de la cáscara y del opérculo; en el II se encuentran huevos que carecen de estructura coriónica definida, presentan un anillo corial ancho, liso o rugoso y en un plano distinto al de la cáscara y el opérculo. Las características que presentan los huevos de *T. barberi* permitiría proponer un tercer grupo que se caracterizaría por presentar a) un exocorion formado principalmente por células con diseño hexagonal hacia la parte media y por células con arquitectura pentagonal, hexagonal, heptagonal y octagonal hacia las regiones caudal y cefálica, en donde las células carecen de ornamentaciones o perforaciones, b) un borde corial ancho y rugoso ubicado en un plano distinto al de la cáscara y el opérculo y c) el opérculo presenta externamente dos anillos de proyecciones exocoriales similares a cuernos respiratorios, el primero presenta entre 30-40 proyecciones y el segundo entre 4-12 proyecciones que rodean a una proyección central de mayor tamaño.

Recientemente, se implementó el método de Morfometría Geométrica (MG) mediante el Análisis Generalizado de Procrustes (AGP) para analizar morfogeoméricamente huevos de cinco especies del género *Rhodnius*, específicamente a través del análisis de puntos anatómicos de referencia (PAR) localizados en el borde corial y el collar (Paéz-Colasante-Aldana 2008). Los resultados indicaron que a pesar de que los huevos de las especies analizadas eran del mismo tamaño, presentaban una conformación de la configuración geométrica "borde corial-collar" diferente que podría ser útil para discriminar entre especies del género y por lo tanto se podrían revelar diferencias genéticas entre las especies de un mismo género que ayudarían en la caracterización del organismo.

Por otra parte, a pesar de que la utilidad taxonómica de las células poligonales es limitada, al menos para el género *Triatoma*, son importantes para los procesos de formación y desarrollo del huevo, ya que para que cerrarse el huevo requiere de una estructura formada con células poligonales que presenten entre cinco y ocho lados, con células hexagonales localizadas casi exclusivamente hacia la región media y células con figuras geométricas distintas a hexágonos hacia la zona caudal y cefálica (Lucena & Rego 1969, Jurberg *et al* 1991, Chaves & Añez 2003). Nuestro estudio concuerda con lo observado en lo anterior, que observaron que los huevos están formados por células con geometría hexagonal en la región media del huevo y por células con geometría pentagonal, hexagonal, heptagonal y octagonal en los extremos. Asimismo, es importante mencionar que las dos líneas longitudinales laterales que corren a lo largo del huevo pueden estar relacionadas con el proceso de eclosión, ya que en *T. patagonica* están relacionadas con la hendidura dorsal que se acentúa hasta la eclosión de huevos (Visciarelli *et al* 2001).

Diversas especies de triatomíneos de América del Sur presentan ornamentaciones en las células que forman el cascarón y en las células que forman el opérculo, características que han sido empleadas para diferenciar entre especies (Silva *et al* 2005, Obara *et al* 2007a, b). En el caso de los huevos de *T. barberi* no resultaron importantes por el simple hecho de no presentarlas, por lo que se sugiere que la ausencia de estas perforaciones está relacionada a diferentes aspectos ambientales que el insecto ha sorteado durante su adaptación al medio en el que se desenvuelve, un medio que presenta condiciones de baja humedad durante la mayor parte del año y temperaturas que fluctúan de calurosas durante el día y frías durante la noche en la mayor parte del año.

El análisis más detallado de los huevos de *T. barberi* por MEB permitió identificar un complejo micropilar formado por aeropilas y micropilas. En el caso de las aeropilas sus orificios de entrada se localizaron a todo lo largo del borde corial y en el caso de las micropilas se observó un orificio de entrada del espermatozoide por debajo de las aeropilas, pero lo más importante es que se observó el orificio de salida de la micropila en el interior del huevo. De acuerdo a Barata (1981), el complejo micropilar participa en el intercambio gaseoso del embrión con el medio externo a través de las aeropilas y en la penetración del espermatozoide durante la fecundación a través de las micropilas. La presencia de un canal interno y profundo que corre a lo largo del borde corial permite suponer que es en este canal en donde sucede el intercambio de gases con el medio externo y el interior del huevo y donde se da el movimiento del espermatozoide buscando fecundar el óvulo una vez que ha entrado al huevo.

El opérculo del huevo de *T. barberi* resultó ser característico para esta especie, presentando una serie de proyecciones exocoriales en anillo que semejan cuernos respiratorios y cuya función para intercambio de gases no resultó clara, debido a que no fue posible observar aeropilas sobre la punta de estas. En algunas especies de insectos como *Zelus longipes* (Reduviidae) (Wolf & Reid 2000) y *Lygus lineolaris* (Miridae) (Ma *et al* 2002), los cuernos respiratorios y algunos otros elementos presentes en el opérculo de sus huevos forman un sistema respiratorio organizado y complejo. A pesar de que no se observaron aeropilas en las proyecciones del opérculo de los huevos de *T. barberi*, se observó una red trabecular formada por un gran número de espacios localizados entre el anillo externo de proyecciones y el borde corial. La ausencia de aeropilas en las proyecciones operculares que comuniquen al interior del huevo con su medio exterior no descarta que en la red trabecular existan los orificios para llevar a cabo la función de intercambio de gases. De hecho, la presencia de un canal opercular interno en el que se observan espacios trabeculares reforzaría la idea de que a través del opérculo pase el aire para el intercambio de gases, que resulta importante para el desarrollo adecuado de la ninfa del insecto. En este trabajo se describen rasgos morfológicos que permiten diferenciar en su etapa de huevo a *T. barberi* de otras especies de triatomíneos. Asimismo, se presentan detalladamente estructuras que probablemente cumplan una función importante durante el desarrollo del insecto.

Se sugiere continuar con la descripción a nivel fisiológico y estructural del huevo para una mejor comprensión de su embriogénesis.

Agradecimientos

Al M en C Juan Hernández-Ávila y M en C Julio C. Juárez-Tapia del laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido del Centro de Investigaciones en Materiales y Metalurgia por su apoyo técnico con el MEB. Este proyecto recibió apoyo económico del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) con clave UAEH-CA-25.

Referencias

- WHO Expert Committee (2002) Control of Chagas' disease. World Health Organ Tech Rep Ser 905: 1-109.
- Barata J M S (1981) Aspectos morfológicos de ovos de triatomíneos. II. Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do genero *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera-Reduviidae). Rev. Saúde Públ São Paulo 15: 490-542.
- Barata J M S (1998) Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae), p.409-448. In Carcavallo R V, Galíndez-Girón I, Jurberg J, Lent H (eds) Atlas of disease vectors in the Americas. Fiocruz, Rio de Janeiro, vol II, 340p.
- Barth R, Muth H (1958) Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). VIII parte: Observações sobre a superfície dos ovos das espécies mais importantes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 56: 197-208.
- Becerril-Flores M A, Rangel-Flores E, Imbert-Palafox J L, Gómez-Gómez J V, Figueroa-Gutiérrez A H (2007) Human infection and risk of transmission of Chagas disease in Hidalgo State, Mexico. Am J Trop Med Hyg 76: 318-323.
- Bérenger J M, Blanchet D (2007) A new species of the genus *Panstrongylus* from French Guiana (Heteroptera; Reduviidae; Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 102: 733-736.
- Carcavallo R V, Jurberg J, Lent H, Noireau F, Galvão C (2000) Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. Entomol Vect 7: 1-99.
- Chaves L F, Añez N (2003) Geometría de las células del exocorion de huevos de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859). (Heteroptera:Reduviidae). Entomotrópica 18: 1-5.
- Costa J, Felix M (2007) *Triatoma juazeirensis* sp.n. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 102: 87-90.
- Galliard H (1935) Recherches sur les réduvidés hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. V. Morphologie de l'oeuf des triatomés. Ann Parasit Hum Comp 13: 511-527.
- Galvão C, Carcavallo R U, Rocha D S, Jurberg J (2003) A checklist of the current valid species of subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa 202: 1-36.
- Gaunt M, Miles M (2000) The ecotopes and evolution of Triatomine Bugs (Triatominae) and their associated trypanosomes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 95: 557-565.
- Gúzman-Bracho C (2001) Epidemiology of Chagas disease in Mexico: an update. TRENDS Parasitol 17: 372-376.
- Guzmán-Marín E (1990) Los transmisores de la Enfermedad de Chagas. Rev Biomed 1: 144-153.
- Hypsa V, Tiez D F, Zrzavý J, Rego R O M, Galvão C, Jurberg J (2002) Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. Mol Phyl Evol 23: 447-457.
- Jurberg J, Galvão C, Barth O M (1991) Estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma nitida* Usinger, 1939 (Hemiptera, Reduviidae). Rev Bras Biol 51: 365-372.
- Jurberg J, Gonçalves T C M, Costa J M, Souza W (1986) Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 81: 111-120.
- Jurberg J, Silva M B A, Galvão C, Rocha R S, Barbosa H S, Carcavallo R V (2002) Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 vistos através de microscopia óptica e eletrônica de varredura (Hemiptera, Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 97: 209-216.
- Lucena D, Rego M (1969) Microestrutura do exocório de ovos de triatomíneos de Nordeste do Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo 11: 87-93.
- Ma P W K, Baird S, Ramaswamy S B (2002) Morphology and formation of the eggshell in the tarnished plant bug, *Lysus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae). Arthrop Struc Develop 31: 131-146.
- Obara T M, Barata J M S, Silva N N, Ceretti Jr W, Urbinatti P R, Rosa J A, Jurberg J, Galvão C (2007a) Estudo de ovos de quatro espécies do género *Meccus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), vetores da doença de Chagas. Mem Inst Oswaldo Cruz. 102: 13-19.
- Obara T M, Rosa J A, Silva N N, Ceretti W, Urbinatti P R, Barata J M S, Jurberg J, Galvão C (2007b) Estudo morfológico e histológico dos ovos de seis espécies do genero *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). Neotrop Entomol 36: 798-806.
- Páez-Colasante X, Aldana E (2008) Morfometría geométrica del borde corial y del collar de huevos de cinco especies del género *Rhodnius* Stal (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). Entomo Brasilis 1: 57-61.
- Peterson A T, Sánchez-Cordero V, Beard C B, Ramsey J M (2002) Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas Disease, Mexico. Emerging Infec Dis 8: 662-667.
- Rocha D S, Jurberg J, Galvão C (1996) Descrição dos ovos e ninfas de *Triatoma lecticularia* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Entomol Vector 3: 123-135.
- Salazar-Schettino P M, De Haro-Arteaga I, Cabrera-Bravo M (2005)

- Três espécies de triatomíneos y sua importância como vetores de *Trypanosoma cruzi* en México. *Medicina (B Aires)* 65: 63-69.
- Silva A M B, Jurberg J, Barbosa H S, Rocha D S, Carcavallo R U, Galvão C (2005) Morfología comparada dos ovos e ninfas de *Triatoma vanda* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *Triatoma williamsi* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 649-661.
- Tartarotti E, Azeredo-Oliveira M T V, Cerón C R (2006). Phylogenetic approach to the study of triatomines (Triatominae, Heteroptera). *Braz J Biol* 66: 703-708.
- Vidal-Acosta V, Ibañez-Bernal S, Martínez-Campos C (2000) Infección natural de chinches Triatominae com *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. *Salud Pública Méx* 42: 496-503.
- Visciarelli E, Ferrero A, Costamagna S R (2004) Aspectos exocoriales de huevos de *Triatoma patagonica* Del Ponte, 1929 por microscopia eletrónica de barrido. *Entomol Vect* 11: 653-668.
- Visciarelli E, Ferrero A, Picollo M (2001) Caracterización morfológica del desarrollo embrionario de *Triatoma patagonica* Del Ponte 1929 (Hemiptera, Reduviidae). *Entomol Vect* 8: 449-461.
- Wolf K W, Walton R (2000) The architecture of the anterior appendage in the egg of the assassin bug, *Zelus longipes* (Hemiptera: Reduviidae). *Arthrop Struc Develop* 29: 333-341.
- Zárate L G (1983) The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera-Reduviidae) in Mexico. III. Completion of the cycle adult longevity, and egg production under optimal feeding conditions. *J Med Entomol* 20: 485-497.
- Zárate L G, Zárate R J (1985) A checklist of the Triatominae (Hemiptera:Reduviidae) of Mexico. *Int J Entomol* 27: 102-127.

Received 13/X/08. Accepted 05/V/09.
