

EFEITOS MORFOGÊNICOS DE PRECOCENO II EM NINFAS DE *RHODNIUS PROLIXUS* (STAL, 1859) (HEMIPTERA – TRIATOMINAE)

JOSÉ JURBERG, JANE MARGARET COSTA, TERESA CRISTINA MONTE GONÇALVES,
ELOI DE SOUZA GARCIA & PATRICIA DE AZAMBUJA*

Com o propósito de vir controlar os triatomíneos, vetores da doença de Chagas, por substâncias não convencionais, analisamos a atuação e os efeitos de Precoceno II por tratamento tópico e oral em ninfas do 1º ao 4º estágio de *Rhodnius prolixus*. Com enfoque comparativo entre os dois tipos de aplicação, fizemos uma análise das deformações morfológicas externas, principalmente das estruturas genitais externas de ambos os sexos.

Recentemente, Bowers et al. (1976) obtiveram do extrato da planta *Ageratum houstonianum* dois compostos: 7-methoxi-2,2-dimetilcromeno e 6,7-dimetoxi-2,2-dimetilcromeno, respectivamente denominados Precoceno I e II por induzirem metamorfose precoce e esterilização de fêmeas adultas em Hemiptera e Orthoptera (Bowers et al., 1976; Jurbert, Gonçalves & Oliveira Filho, 1982; Belles & Baldellou, 1983). Estes efeitos têm sido associados à degeneração dos *corpora allata* nas espécies sensíveis (Unnithan, Nair & Bowers, 1977; Bowers & Martines-Pardo, 1977; Pener, Orshan & De Wilde, 1978). Recentemente, Brooks, Pratt & Jennings (1979) e Pratt et al. (1980) apresentaram evidências que o mecanismo de ação de precocenos envolve a conversão destes compostos em epóxidos altamente reativos, os quais se combinam com componentes celulares das glândulas, destruindo a capacidade das células produzirem hormônio juvenil.

Em triatominae foi estudada a ação de Precoceno II por Tarrant & Cupp (1978), Azambuja, Garcia & Ribeiro (1981) em *Rhodnius prolixus*; Oliveira Filho, Pinchin & Santos (1980), Jurberg, Gonçalves & Oliveira Filho (1982) em *Panstrongylus megistus* e Tarrant, Cupp & Bowers (1982) em *Triatoma dimidiata*. Estes autores verificaram que a morfogênese variava consideravelmente entre os estádios das diferentes espécies, sendo que as ninfas mais desenvolvidas tratadas com Precoceno II apresentaram-se deformadas com características mais próximas dos adultos.

Este trabalho tem como objetivo estudar detalhadamente a morfologia dos adultóides obtidos por tratamento tópico e oral de Precoceno II, visando ao encontro de substâncias específicas atóxicas ao meio ambiente para controle dos vetores.

MATERIAL E MÉTODOS

Insetos: foram usadas ninfas de 4º, 3º, 2º e 1º estádios de *Rhodnius prolixus*, obtidas de uma colônia mantida segundo Garcia, Guimarães & Prado (1978).

Sangue e outros reagentes: os insetos foram alimentados com sangue humano e de ovelha, citratado, mantido a 4°C por 4 hora. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

Tratamento com Precoceno II: as 180 ninfas utilizadas foram mantidas em jejum por 20-30 dias, e então alimentadas através de um comedouro artificial (Garcia et al., 1975). O Precoceno II para a aplicação tópica foi diluído em acetona na concentração de 10-30 µg/µl, sendo aplicado 1 µl nos tergitos abdominais. Para o tratamento oral o Precoceno II foi dissolvido em etanol, e adicionado ao alimento na dose de 25 µg/ml de sangue. Experimentos controles mostraram que o álcool na concentração usada (no máximo 0,2% no sangue) e a acetona, não induziram alterações morfológicas aparentes.

RESULTADOS

Os tratamentos tópico e oral por Precoceno II em ninfas do 4º, 3º, 2º e 1º estádios (Figs. 4, 20, 27, 32) induziram em diferentes níveis a formação de adultóides com características mescladas de ninfas e adultos (Tabela I). Em alguns insetos a posição corporal não foi alterada, pois livraram-se totalmente da exúvia (Fig. 24); em outros o processo da muda foi interrompido, ficando os despojos presos na região apical do rostro, antenas, patas e região posterior do abdômen, curvando a cabeça e o tórax ventralmente, impedindo a locomoção, alimentação e provocando a morte (Figs. 5, 21, 28, 31, 33).

Trabalho apresentado na X Reunião Anual de Pesquisa Básica em Doença de Chagas, 1983 e realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – PIDE V.

Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia, Caixa Postal 926, 20000 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

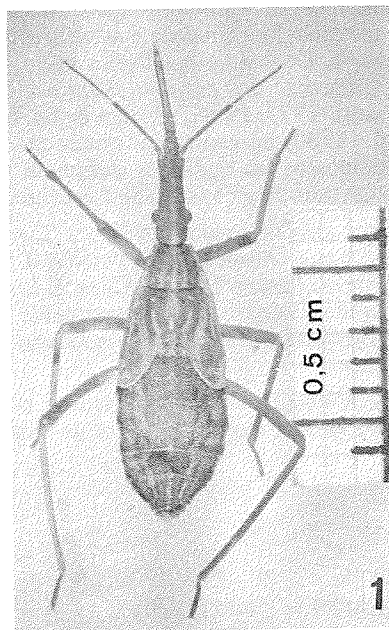
* Departamento de Biologia Geral, UFF, Niterói - RJ.

Recebido para publicação em 2 de janeiro e aceito em 24 de fevereiro de 1984.

TABELA I

Efeitos do Tratamento Tópico (T) e Oral (O) de Precoceno II em ninfas de *Rhodnius prolixus*

Estádio	Tratamento (Dosagem)	Porcentagem de adultóides na muda subsequente
5º		100 52
4º	T (30 µg/µl) O (25 µg/ml)	20 33
3º	T (20 µg/µl) O (25 µg/ml)	23 43
2º	T (15 µg/µl) O (25 µg/ml)	0 100
1º	T (10 µg/µl) O (25 µg/ml)	

*Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) – Fig. 1: ninfa de 5º estágio normal.**4º estágio – Tratamento tópico (30 µg/µl de acetona)**

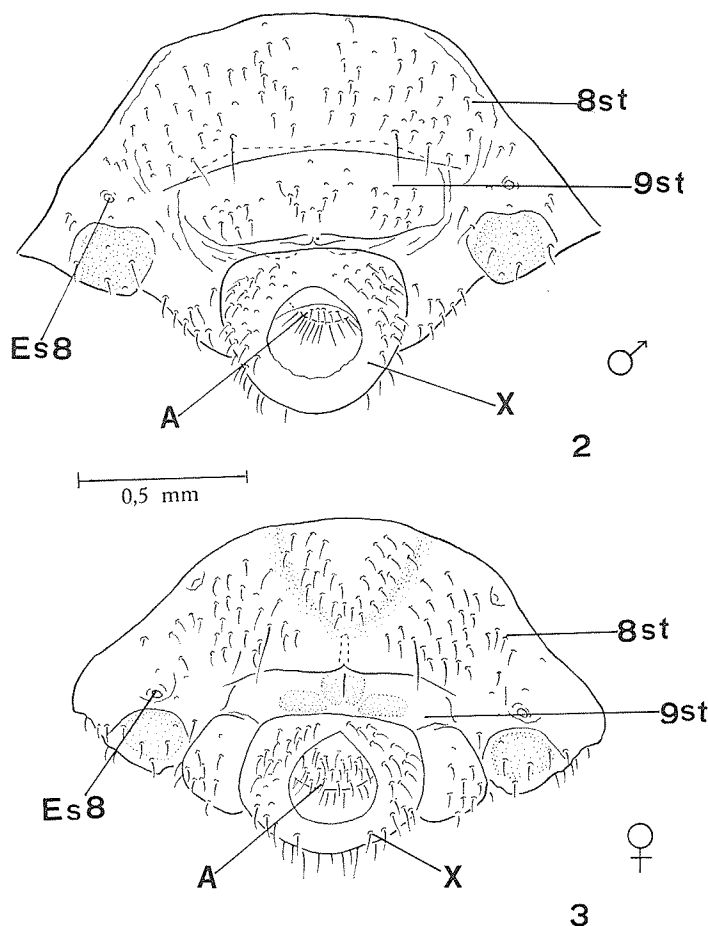
As ninfas de 4º estágio (Fig. 4) induziram a formação de adultóides que excetuando-se as asas braquípteras apresentaram características de adultos com deformações marcantes nas estruturas genitais (Fig. 5), cabeça com coloração castanho-escuro e faixa castanho-clara dorsal, que prolonga-se do ápice do pós-clípeo até o pescoço. Como nos adultos normais, esta faixa ocupa todo o espaço interocular. Ocelos bem desenvolvidos, antenas de cor pardacenta, com o último segmento retorcido ou normal e ápice amarelado. Estiletes maxilares e mandibulares também retorcidos e fora do canal labial em alguns exemplares, impedindo a alimentação destes insetos.

No protórax a separação dos lobos anterior e posterior não é tão nítida como em um inseto adulto, porém observa-se a formação do sulco transversal; carenas dorsais pouco salientes iniciam-se na região apical do lobo anterior até a região mediana do lobo posterior. Este apresenta 3 + 3 faixas longitudinais mais escuras limitadas por listras amareladas não contrastantes como em um inseto adulto. As listras amareladas situam-se nos bordos laterais, nas carenas e na linha mediana, percorrendo todo o pronoto e entre as carenas e os bordos laterais percorrem somente o lobo posterior.

Escutelo sempre presente, com processo apical reduzido e bordos laterais arredondados em alguns exemplares, coloração variando do preto ao castanho claro.

Asas meso e metatorácicas retorcidas, membranosas, não ultrapassando a região anterior do 3º segmento abdominal, de coloração variando do amarelado ao castanho claro.

Patas deformadas, pardacentas, mais escuras nos fêmures e nas tíbias, com tarsos homômeros e trímeros.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 2: 8º e 9º esternitos de ninfa de 5º estágio normal, macho; Fig. 3: 8º e 9º esternitos de ninfa de 5º estágio normal, fêmea. (Es8 – estigma do 8º segmento; A – ânus; 8st – oitavo esternito; 9st – nono esternito; X – décimo segmento).

Abdômen característico de adulto, porém apresentando tonalidade mais escura. Tegumento liso, sem tubérculos setíferos, segmentação bem definida. Conexivo com manchas pretas que ocupam a maior parte de sua área, no sentido longitudinal. Ventralmente, evidencia-se a membrana de dilatação entre o coxíxio e os escleritos esternais.

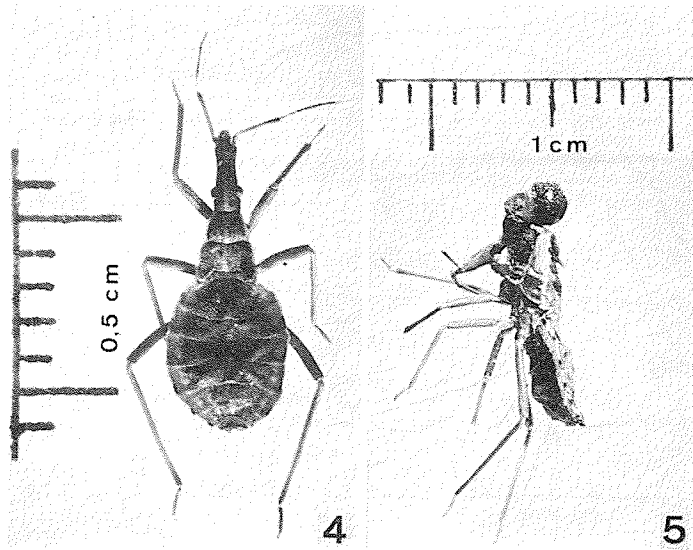
Estruturas genitais mal formadas em ambos os sexos: no macho o 8º segmento e o pigóforo (Fig. 6); apresentaram-se reduzidos em comparação com um adulto normal. Parâmeros deformados, com base membranosa comum, ligada à uma estrutura globosa, esboçando o falo (Figs. 7, 8, 9). Em alguns exemplares, observou-se estruturas arredondadas bem quitinizadas, parecidas com o processo gonoporo (Fig. 8) e aparelho articular (Fig. 9), e em apenas um exemplar observou-se a formação do processo mediano do pigóforo (Fig. 6); na fêmea o 8º esternito, embora deformado, apresentou-se sempre completo, isto é, com gonocoxitos e gonapófises (Figs. 10 e 12); já o 9º esternito apresentou-se também deformado, podendo estar incompleto pela ausência da gonapófise mas tendo sempre presente o gonocoxito 9 (Figs. 11 e 12).

4º estágio – Tratamento oral (25 µg/ml de sangue)

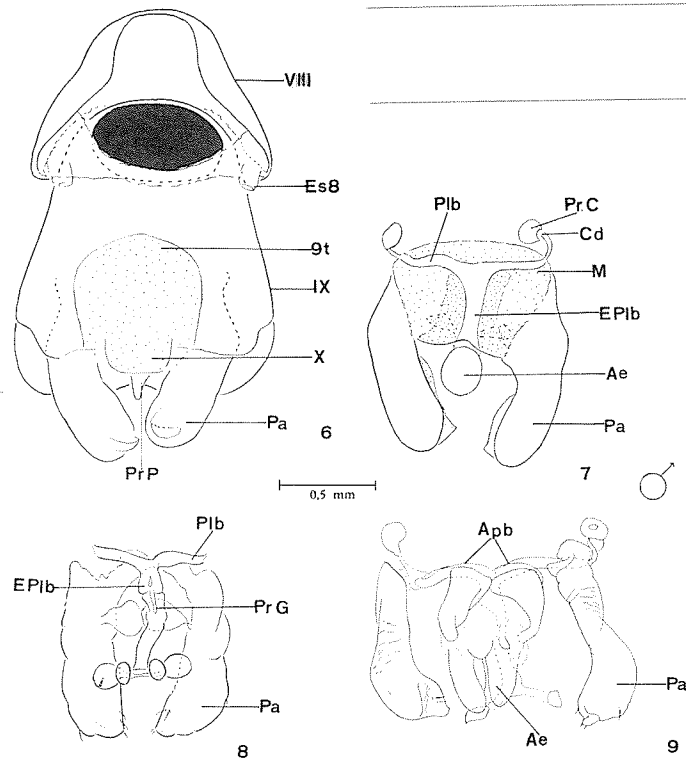
Estes adultóides (Fig. 13) não diferiram no aspecto geral daqueles obtidos pela aplicação tópica. Porém, as estruturas das genitálias de ambos os sexos apresentaram menor grau de variação. Assim como na aplicação tópica, com exceção das braquípteras, a maior parte dos caracteres observados foi de adulto. Porém, encontramos nestes adultóides tarsos homômeros dímeros em doze exemplares e tarsos homômeros trímeros em quatro exemplares.

Na genitália do macho os parâmeros apresentaram-se presos a uma base única, membranosa e em apenas um exemplar observou-se o processo mediano do pigóforo. Na aplicação tópica algumas estruturas apresentaram-se de forma definida; neste tratamento apenas os parâmeros eram identificáveis, as demais estruturas além de deformadas eram de difícil interpretação (Figs. 14 e 15).

Na fêmea, as placas genitais pouco diferiram daquelas resultantes da aplicação tópica (Figs. 16, 17 e 18) com exceção de um exemplar que não apresentou estruturas definidas (Fig. 19).



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 4: 4º estágio normal; Fig. 5: adultóide de 5º estágio, por tratamento tópico.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 6: 8º e 9º segmentos de adultóides de 5º estágio por tratamento tópico; Fig. 7: parâmeros unidos e esboço do falo; Figs. 8 e 9: parâmeros unidos, falo com esboço de estruturas deformadas. (VIII – 8º segmento; IX – 9º segmento; X – 10º segmento; Es8 – estigma do 8º segmento; 9T – 9º tergito; Pa – parâmero; PrP – processo do pigóforo. Esboço das estruturas fâlicas: Ae – edeago; Apb – aparelho articular; Cd – conectivo dorsal; EPlb – expansão mediana da placa basal; M – membrana; Plb – placa basal; PrC – processo capitato; PrG – processo gonoporo).

3º estágio – Tratamento tópico (30 µg/µl de acetona)

As ninfas de 3º estágio (Fig. 20) deram origem a adultóides que apresentaram as seguintes características (Fig. 21): cabeça com faixa amarelada dorsal tão larga quando nos adultos, isto é, ocupando todo o espaço inter-ocular, face lateral castanho escura e ocelos presentes. Antenas pardo claras, mais escuras nos dois segmentos basais.

Pronoto, na maior parte amarelado, com lobo anterior ligeiramente separado do posterior pelo sulco transversal. No lobo anterior existem 2 + 2 manchas castanho escuras: 1 + 1 entre os bordos laterais e as carenas não salientes e 1 + 1 entre estas e uma faixa clara mediana; lobo posterior, pouco desenvolvido de coloração amarelada.

Mesonoto apresentando bordo posterior com processo pontiagudo mediano para formar o escutelo. Tecas alares anteriores enrugadas com manchas escuras subapicais atingindo a região anterior do metatórax. Este é curto, castanho claro, com tegumento liso lateralmente, apresenta expansões membranas constituindo as tecas alares posteriores que não ultrapassam o bordo posterior deste segmento.

Patas pardas, retorcidas ou com aspecto normal, com tarsos homômeros e dímeros.

Abdômen semelhante a um adultóide de 5º estágio, área conexival com manchas escuras, largas na região anterior e finas na posterior de cada segmento; membrana de dilatação presente.

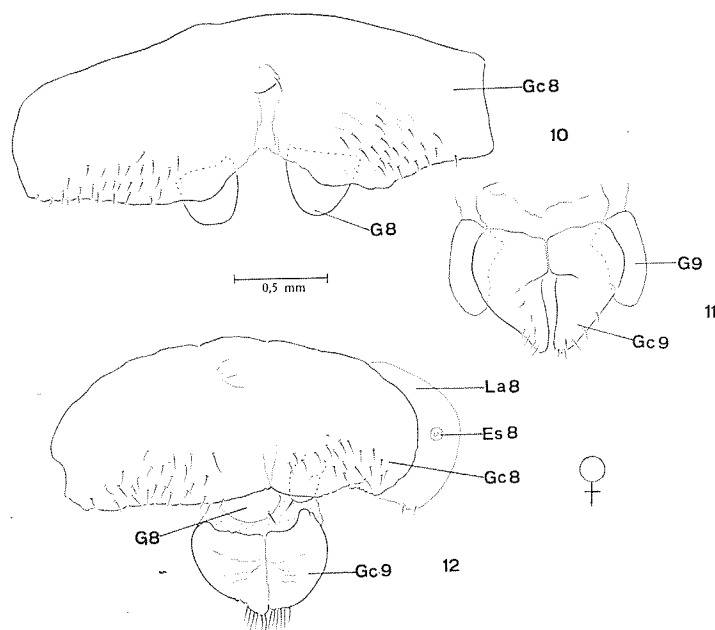
Estruturas genitais de machos e fêmeas sempre presentes, incipientes, sendo possível identificar o sexo externamente (Figs. 22 e 23).

No macho o pigóforo (IX) é globoso de aspecto anormal, tendo posteriormente 1 + 1 parâmeros soldados em base única e membranosa, não havendo formação de estruturas fâlicas (Fig. 22).

A fêmea apresenta chanfraduras nos bordos posteriores do 8º e 9º esternitos, mais evidentes neste último (Fig. 23).

3º estágio – Tratamento oral (25 µg/ml de sangue)

Apresentaram-se semelhantes em relação aos obtidos pela aplicação tópica (Fig. 24) com exceção das estruturas genitais que só se evidenciaram em alguns exemplares (Figs. 25 e 26).



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 10: esboço das placas genitais de adultóides de 5º estágio por tratamento tópico; gonocoxito e gonapófise do 8º segmento; Fig. 11: idem do 9º segmento; Fig. 12: esboço das placas genitais de outro exemplar com ausência da gonapófise do 9º segmento. (Es 8 – estigma do 8º segmento; G 8 – gonapófise do 8º segmento; G 9 – gonapófise do 9º segmento; Gc 8 – gonocoxito do 8º segmento; Gc 9 – gonocoxito do 9º segmento; La 8 – laterotergito do 8º segmento).

2º estágio – Tratamento tópico (15 µg/µl de acetona)

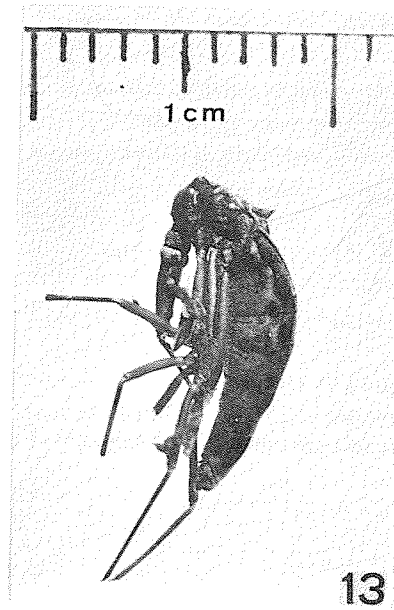
As ninfas de 2º estágio (Fig. 27) deram origem a adultóides com características de ninfa e adulto (Fig. 28): cabeça castanho escura com mancha dorsal quase imperceptível, ocelos ausentes, antenas retorcidas ou com aspecto normal.

Protórax castanho escuro, tegumento liso, sem sulco transversal. Meso e metatórax com expansões laterais membranas, representando as tecas alares. No mesonoto observa-se uma projeção arredondada no bordo posterior, indicando o escutelo.

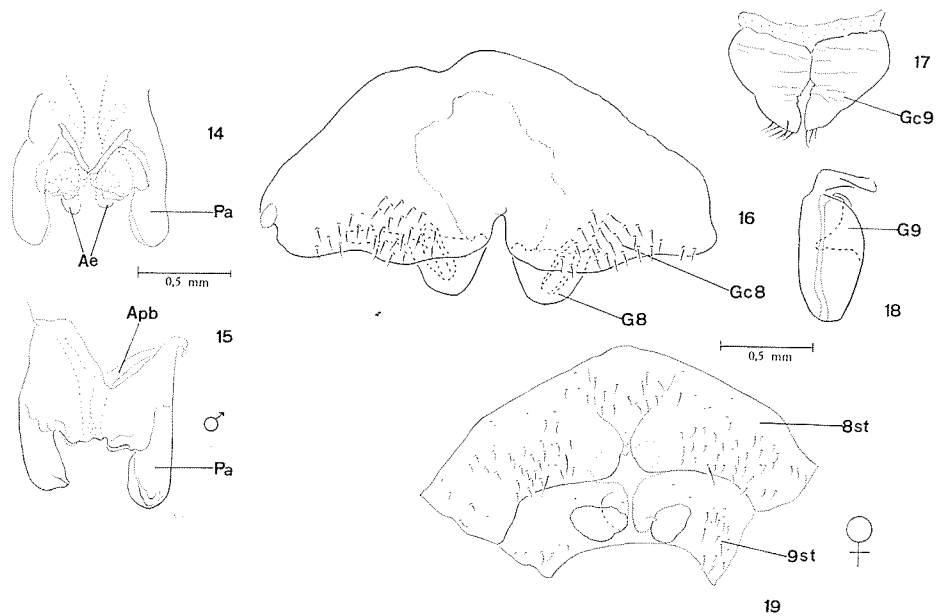
Abdômen castanho escuro, com tegumento semelhante ao de um adulto, sem tubérculo setífero; área conexival representada por manchas escuras, pouco delimitadas, localizadas na região anterior dos segmentos, tanto na face dorsal quanto na ventral, onde evidencia-se a membrana de dilatação.

Os exemplares com características de machos tinham o 8º e 9º segmentos normais, porém, neste último exterioriza-se uma pequena região membranosa, na qual prendem-se 1 + 1 parâmeros deformados e membranosos (Fig. 29).

Nos exemplares que apresentaram características de fêmea, evidencia-se uma chanfradura muito tênue no bordo posterior do 8º e 9º esternitos (Fig. 30).

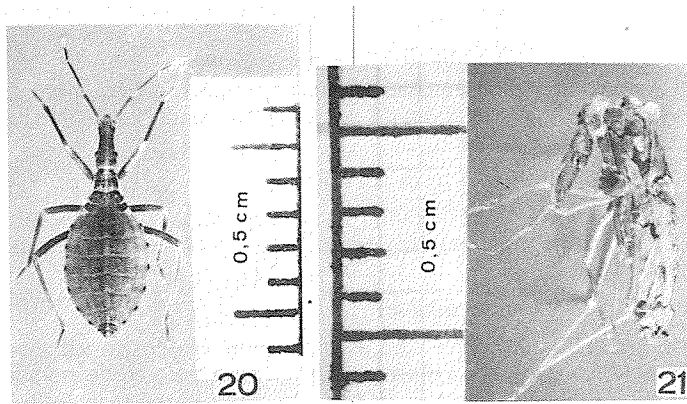


Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 13: adultóide do 5º estágio por tratamento oral.

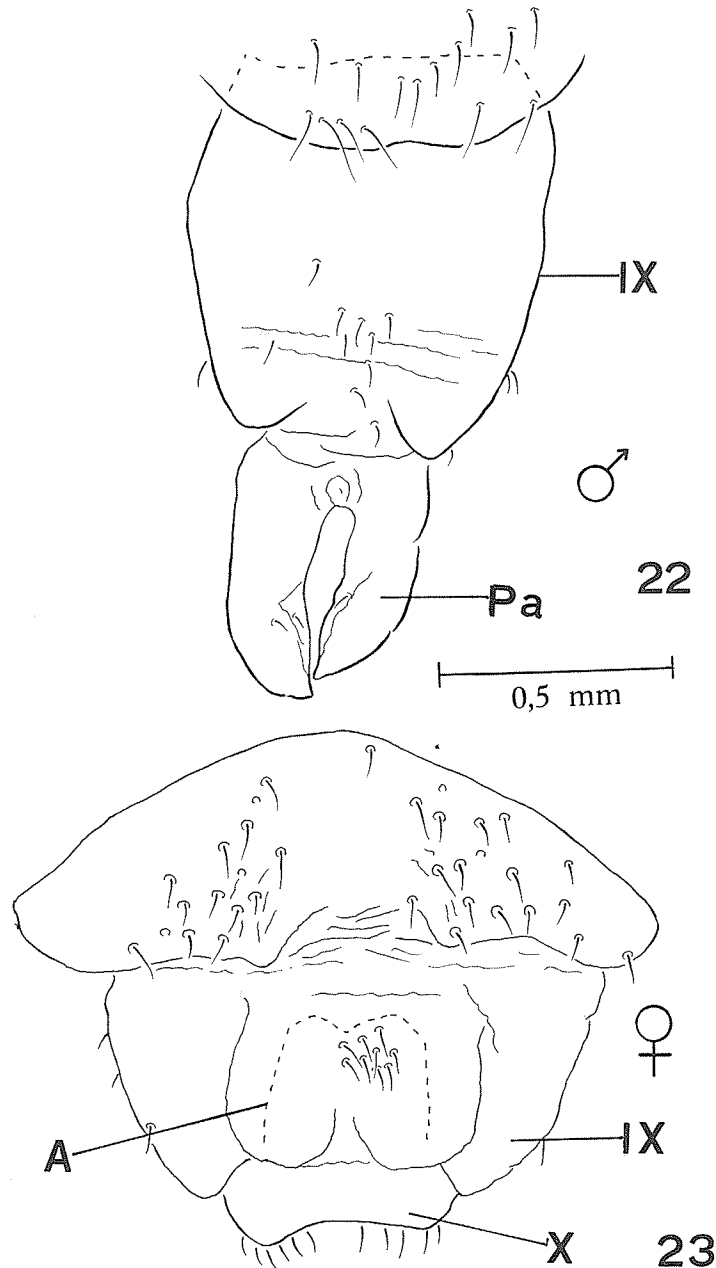


Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Figs. 14 e 15: parâmeros unidos por uma membrana com esboço do falo de adultóide de 5º estágio por tratamento oral; Fig. 16: esboço do gonocoxito e gonapófise do 8º segmento; Figs. 17 e 18: esboço do gonocoxito e gonapófise do 9º segmento; Fig. 19: 8º e 9º esternitos deformados. (Macho: Ae – eedeago; Apb – aparelho articular; Pa – parâmero. Fêmea: G8 – gonapófise do 8º segmento; G9 – gonapófise do 9º segmento; Gc8 – gonocoxito do 8º segmento; Gc9 – gonocoxito do 9º segmento; 8st – 8º esternito; 9st – 9º esternito).

ntos normais, porém, neste
I parâmeros deformados e



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 20: ninfa normal do 3º estágio;
Fig. 21: adultóide de 4º estágio por tratamento tópico.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 22: pigóforo e parâmero de adultóide de 4º estágio por tratamento tópico; Fig. 23: 8º e 9º esternitos da fêmea. (Macho: IX – 9º segmento; Pa – parâmeros. Fêmea; A – ânus; X – 10º segmento).

2º estágio – Tratamento oral (25 µg/ml de sangue)

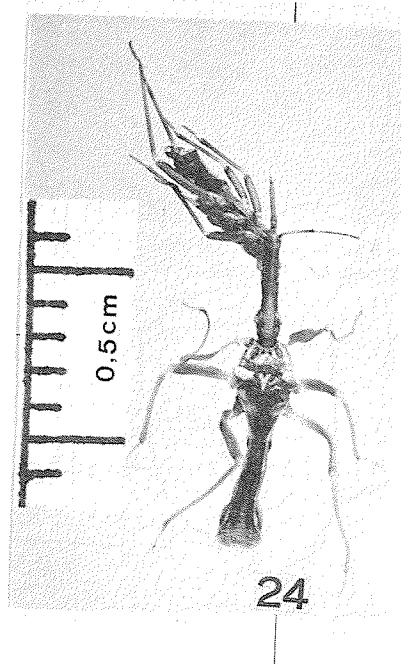
Estes adultóides apresentaram-se semelhantes aos da aplicação tópica, porém não tiveram formação de estruturas genitais em nenhum dos exemplares examinados, sendo os últimos segmentos abdominais característicos de uma ninfa normal de 3º estágio.

1º estágio – Tratamento tópico (10 µg/0,5 µl de acetona)

Nas ninfas de 1º estágio (Fig. 32) quando se aplicava 10 µg de Precoceno II por µl apresentava uma alta mortalidade (100% dos exemplares). Na concentração de 10 µg de Precoceno II/0,5 µl de acetona, não induziu alterações morfológicas.

1º estágio – Tratamento oral (25 µg/ml de sangue)

Este tratamento produziu adultóides com aspectos morfológicos semelhantes (Fig. 33). Estes insetos não apresentaram características de uma ninfa normal de 2º estágio ou de um adulto, trazendo características próprias: cabeça castanho escura com faixa castanho clara dorsal mais longa que numa ninfa de 2º estágio normal. Ocelos ausentes, protórax deformado porém meso e meta normais, sem asas ou vestígio delas. Patas com tarsos homômeros, dímeros. Abdômen normal, porém com tegumento liso, sem tubérculos setíferos. Em alguns exemplares evidencia-se manchas conexivais escuras, discretas, circulares. Estruturas genitais ausentes, sendo estes últimos segmentos como em uma ninfa de 2º estágio normal.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 24: adultóide de 4º estágio por tratamento oral.

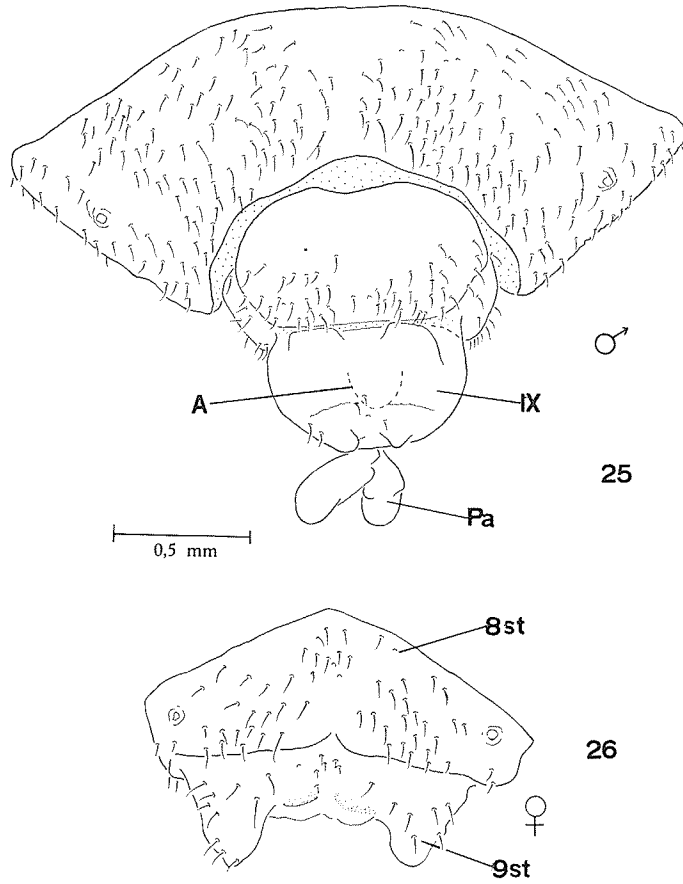
CONCLUSÕES

1 – O tratamento tópico das ninfas em geral apresentou, na formação de adultóides, maior eficiência que o oral, uma vez que do tratamento tópico em ninfas de 4º estágio, obteve-se duas vezes maior produção de áduítóides que pelo tratamento oral (Tabela I), mostrando ser este estágio o mais sensível à ação do Precoceno II.

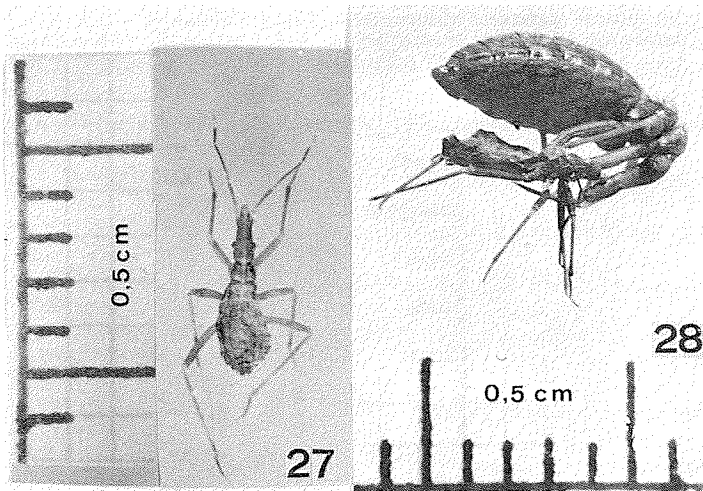
2 – O tratamento tópico provocou um maior grau de desenvolvimento das estruturas genitais que o oral, observando-se a formação destas a partir do 3º estágio (Figs. 29 e 30).

3 – As ninfas do 1º estágio foram altamente sensíveis ao tratamento oral com Precoceno II (100% de indução de adultóides). Entretanto, o tratamento tópico de 10 µg/µl de acetona foi altamente tóxico, causando a morte poucas horas após a aplicação e na concentração de 10 µg/0,5 µl de acetona, não causou nenhuma alteração morfogênica (Tabela I).

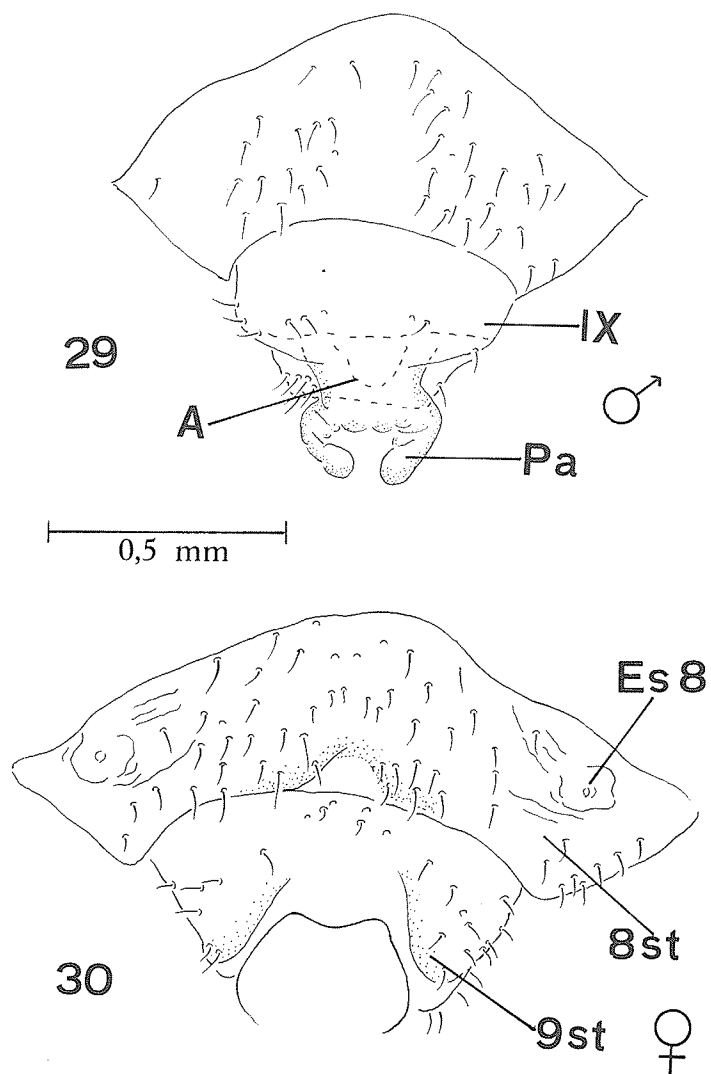
em não tiveram formação



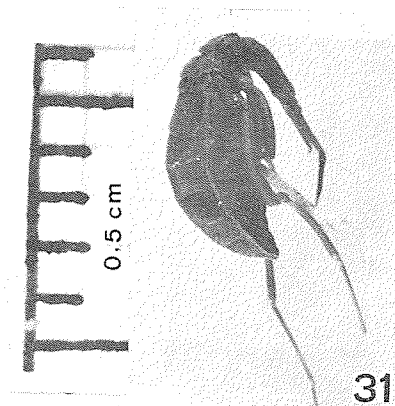
Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 25: pigóforo e parâmeros de adulto do 4º estágio por tratamento oral; Fig. 26: 8º e 9º esternitos da fêmea. (Macho: A – ânus – Pa – parâmeros; IX – 9º segmento. Fêmea: 8st – 8º esternito; 9st – 9º esternito).



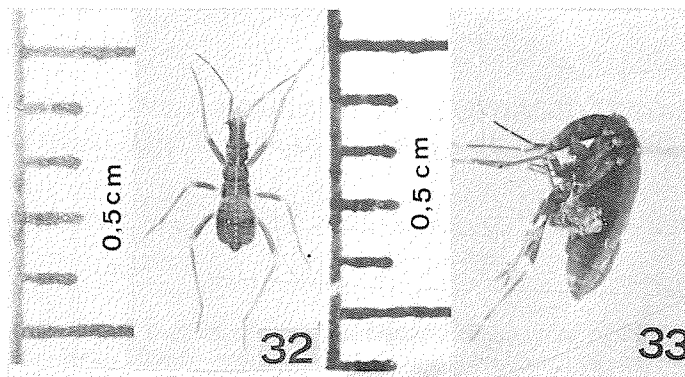
Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 27: ninfa de 2º estágio normal; Fig. 28: adulto de 3º estágio por tratamento tóxico.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 29: últimos segmentos abdominais do macho de adulto de 3º estágio por tratamento tópico; Fig. 30: últimos segmentos abdominais da fêmea. (Macho: A – ânus; Pa – parâmeros; IX – 9º segmento. Fêmea: Es 8 – estigma do 8º segmento; 8st – 8º esternito; 9st – 9º esternito).



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 31: adulto de 3º estágio por tratamento oral.



Rhodnius prolixus (Stal, 1859) – Fig. 32: 1º estágio normal; Fig. 33: adultoide de 2º estágio por tratamento oral.

SUMMARY

The morphogenetic effects of Precocene II in nymphs of 1st-, 2nd-, 3rd-, and 4th- instar of *Rhodnius prolixus* were studied.

A high number of insects underwent precocious metamorphosis by topical treatment (10-30 µg/insect) or adding the drug to the blood meal (25 µg/ml of blood).

Adultoids of 4th- and 5th-instar, obtained by both treatments of 3rd- and 4th-instar, respectively, had mainly fully adult abdominal cuticle, ocelli, three segmented tarsi, rudimentary wings containing adult articulation with the thorax and deformed genitalia while adultiforms of 2nd- and 3rd-instar had very slight imaginal morphological characteristics.

Topical treatment induced a high mortality in nymphs of 1st-instar and Precocene II given orally produced a high number of adultoids in this instar.

The mode of application and the action of Precocene II on different nymphal instars were interpreted.

AGRADECIMENTO

Ao Dr. W.S. Bowers (New York State Agriculture Experimental Station, Cornell University, Geneva, N.Y.) por ter gentilmente cedido o Precoceno II.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZAMBUJA, P.D.; GARCIA, E.S. & RIBEIRO, J.M.C., 1981. Effects of ecdysone on the metamorphosis and ecdysis prevention of *Rhodnius prolixus* induced by precocene II. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 45 :100-104.
- BELLES, X. & BALDELLOU, M.J., 1983. Precocious metamorphosis induced by precocenes on *Oxycareus lavaterae*. *Ent. exp. & appl.*, 34 :129-133.
- BOWERS, W.S. & MARTINEZ-PARDO, R., 1977. Anti-allotropins: inhibition of *corpus allatum* development. *Science*, 197 :1369-1371.
- BOWERS, W.S.; OHTA, T.; CLEERE, J.S. & MARSELHA, P.A., 1976. Discovery of insect anti-juvenile hormone in plants. *Science*, 193 :542-547.
- BROOKS, G.T.; PRATT, G.E. & JENNINGS, R.C., 1979. The action of precocenes in milkweed bugs (*Oncopeltus fasciatus*) and locusts (*Locusta migratoria*). *Nature Lond.*, 281 :579-582.
- GARCIA, E.S.; GUIMARÃES, J.A. & PRADO, J.L., 1978. Purification and characterization of a sulfhydryl-dependent protease from *Rhodnius prolixus* midgut. *Arch. Biochem. Biophys.*, 188 :315-322.
- GARCIA, E.S.; MACARINI, J.D.; GARCIA, M.L.M. & UBATUBA, F.B., 1975. Alimentação de *Rhodnius prolixus* em laboratório. *An. Acad. brasil. Ciênc.*, 47 :537-545.
- JURBERG, J.; GONÇALVES, T.C.M. & OLIVEIRA FILHO, A.M., 1982. Alterações morfológicas provocadas pela aplicação de precoceno II em *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev. Bras. Biol.*, 42 :527-538.
- OLIVEIRA FILHO, A.M.; PINCHIN, R. & SANTOS, C.E., 1980. Activity of precocenes on the Chagas disease vector, *Panstrongylus megistus*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74 :545-547.
- PENER, M.P.; ORSHAN, L. & DE WILDE, J., 1978. Precocene II causes atrophy of *corpora allata* in *Locusta migratoria*. *Nature Lond.*, 272 :350-353.
- PRATT, G.E.; JENNINGS, R.C.; HAMMETT, A.F. & BROOKS, G.T., 1980. Lethal metabolism of precocene I to a reactive epoxide by *Locusta corpora allata*. *Nature Lond.*, 284 :320-323.
- TARRANT, C.A. & CUPP, E.W., 1978. Morphogenetic effects of precocene II on the immature stages of *Rhodnius prolixus*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72 :666-668.
- TARRANT, C.A.; CUPP, E.W. & BOWERS, W.S., 1982. The effects of precocene on reproduction and development of triatomine bugs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31 :416-420.
- UNNITHAN, G.C.; NAIR, K.K. & BOWERS, W.S., 1977. Precocene-induced degeneration of the *corpus allatum* of adult females of the bug *Oncopeltus fasciatus*. *J. Insect Physiol.*, 23 :1081-1094.