

EFEITOS DO HORMÔNIO JUVENIL NA OOGÊNESE DE FÊMEAS  
VIRGENS E ACASALADAS DE *Rhodnius prolixus* Stal, 1859  
(HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)

Tese

Apresentada ao Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação  
da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências,  
na área de Parasitologia Veterinária.

ANA LÚCIA NÓBREGA DOS SANTOS

Rio de Janeiro  
Dezembro de 1980

À minha mãe

"In memoriam"

À meu pai

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade concedida.

À Universidade Federal Fluminense, que através do PRODECA, permitiu a realização deste curso.

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa de estudos recebida.

Ao Conselho nacional de Pesquisas (CNPq) pelos recursos proporcionados ao Laboratório de fisiologia insetos - Plano de Doenças Endêmicas, da Universidade, Federal Fluminense, propiciando a realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao amigo ELOI DE SOUZA GARCIA, agradeço a compreensão, o apoio e o carinho dispensados a mim, durante a realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. ELOI DE SOUZA GARCIA, do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal Fluminense, pela orientação.

Ao Prof. RUBENS PINTO DE MELLO, do Departamento de Biologia Animal, área de Parasitologia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela orientação e auxílio na redação deste trabalho.

Ao Prof. GONZALO EFRAIN MOYA BORJA, do Departamento de Biologia Animal, área de Parasitologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela orientação, críticas e auxílio na redação deste trabalho.

Ao Prof. José JURBERG, por haver, gentilmente, cedido insetos da colônia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, que muito contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Quero deixar, também, agradecimentos aos senhores:

CIRINO OTÁVIO NÓBREGA DOS SANTOS, pela confecção dos gráficos e figuras.

À senhorita DIVA MONTEIRO DA SILVA, pelo trabalho de datilografia,

e também àquelas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

ANA LÚCIA NÓBREGA DOS SANTOS, filha de Otávio Cirino dos Santos e Cinobilina Nóbrega dos Santos; nascida em Queimados, Estado do Rio de Janeiro, em 15 de maio de 1952. Curvou o primário e o primeiro ciclo do curso secundário, no Colégio Manuel Pereira, em Queimados e o segundo ciclo na Escola Normal de Queimados. Em 1972, prestou concurso público para o quadro permanente do Ensino Primário do Estado do Rio de Janeiro, sendo aprovada. Neste mesmo ano fez o exame Vestibular para o curso de Ciências Biológicas da Faculdade Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, concluindo o bacharelado em dezembro de 1975. Durante seu curso universitário, escolheu como especialidade a cadeira de Parasitologia, onde desenvolveu e concluiu, durante os anos de 1974 e 1975, uma monografia necessária à obtenção do grau de Bacharel. Em 1975, fez exame para o curso de Biologia Aplicada, da Escola de Saúde Pública, da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, passando a aluna bolsista. No decorrer do curso escolheu a

área de Parasitologia, onde em 1976, também desenvolveu e concluiu uma monografia referente à área de estudo citada. Em 1977, iniciou seu curso de Mestrado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e em 1979 foi contratada como Professora colaboradora, a nível de auxiliar de ensino da disciplina de Parasitologia, da Universidade Federal Fluminense, havendo publicado trabalhos científicos desde sua entrada para o curso de pós-graduação.

## S U M Á R I O

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO DE LITERATURA	3
III.	MATERIAIS E MÉTODOS	22
IV.	RESULTADOS	31
V.	<b>DISCUSSÃO</b>	55
VI.	CONCLUSÕES	67
VII.	RESUMO	69
VIII.	<b>ABSTRACT</b>	70
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

## I. INTRODUÇÃO

*Rhodnius prolixus* Stal, 1859, é uma espécie de interesse parasitológico devido ao seu hematofagismo e à sua capacidade em transmitir agentes patogênicos, dentre os quais figuram o *Trypanosoma cruzi* e o *Trypanosoma rangeli*. No Brasil, o *T. cruzi* assume grande importância em saúde pública pois é causador da doença de Chagas, moléstia endêmica que atinge milhões de indivíduos, provocando graves conseqüências sociais (DIAS & DIAS, 1978).

Esta espécie, encontrada naturalmente infectada e com hábitos domiciliares, distribui-se desde o México até Argentina (LENT & JUBERG, 1969), sendo largamente infectada e em estudos experimentais devido à sua fácil adaptação ao cativo e à sua alta prolificidade. Na literatura encontram-se vários trabalhos sobre sua biologia e, particularmente, sobre sua fisiologia e controle endócrino (WIGGLESWORTH, 1972).

No presente trabalho procurou-se verificar o efeito de um análogo de Hormônio Juvenil (aHJ) no desenvolvimento

ovariano de *R. prolixus*, submetidos a diferentes condições fisiológicas, tais como o jejum, a alimentação e a presença ou ausência de cópula. A possibilidade de usar-se a produção de ovos de fêmeas virgens como parâmetro indicador de ação hormonal, também foi abordada, já que a maioria dos bioensaios baseia-se na análise de características morfológicas, tornando-se muito subjetivos.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

### A. O CRESCIMENTO NOS INSETOS

Na maioria dos animais observa-se um crescimento contínuo, mesmo que haja períodos de maior ou menor atividade orgânica. Entretanto, nos insetos, a presença de um exoesqueleto não permite este tipo de crescimento, havendo ciclicamente períodos de crescimento interno não visualizado, limitados por períodos rápidos de crescimento externo.

O crescimento dos insetos está ligado ao processo de muda, constando este de estados fisiológicos interdependentes que culminam com a ecdise, ou seja, substituição da cutícula antiga por uma nova. Os períodos sem crescimento aparente entre duas trocas cuticulares são denominados estádios, e apresentam intensa atividade fisiológica. De acordo com o crescimento na evolução para a fase adulta, a cutícula vai apresentando graus de complexidade morfológica, encontrando-se, na maioria dos insetos, um aspecto cuticular larvar ou pupal, totalmente distinto do imaginal (NOVÁK, 1975).

O processo de muda inicia-se com a apólise, que é a ativação das células hipodérmicas. Estas células desagregam-se da cutícula, aumentam em número e tamanho e iniciam a atividade secretora. O espaço entre a cutícula em formação e a cutícula antiga é preenchido pelo líquido da muda que contém enzimas responsáveis pela hidrólise da endocutícula, a qual é reabsorvida e parcialmente usada na ressíntese da nova endocutícula. A dissolução da endocutícula favorece o enfraquecimento da linha ecdisial, que com a pressão de dentro para fora, exercida pelo inseto, rompe-se, permitindo a ocorrência da muda. Após a ecdise, a nova cutícula apresenta-se geralmente maleável e sem cor, tornando-se dura e pigmentada algum tempo depois. Neste período inicial há expansão cuticular, o que mitirá o crescimento interno durante o estágio. A endocutícula continuará a ser depositada lentamente até o início do novo ciclo de muda (WIGGLESWORTH, 1972).

O padrão de desenvolvimento de cada tipo de inseto as diferentes fases de larva, pupa e imago são produzidos e controlados por mecanismos hormonais neuroendócrinos presentes em todos os tipos de insetos.

#### B. SISTEMA REPRODUTOR FEMININO

Durante a fase ninfal encontram-se gônadas rudimentares que aumentam de acordo com as mudas, evoluindo para testículos ou ovários. No último estágio ninfal há o início da di-

ferenciação das células sexuais e durante a fase adulta; além desta diferenciação, observa-se a maturação dos oócitos, a fertilização e a postura (NÓVAK, 1975).

Segundo WICGLESWORTH (1972), o sistema reprodutor feminino consta de dois ovários, que se continuam pelos ovidutos laterais, os quais se ligam para formar o oviduto comum ou vagina, que pode ser diferenciado anteriormente em útero. Associado ao oviduto comum, encontram-se as espermatecas, a bursa copulatrix e as glândulas acessórias. Estas estruturas apresentam grande diversidade nos vários grupos de insetos (Figura 1).

Segundo o mesmo autor, cada ovário é constituído por uma série de tubos contendo oócitos em desenvolvimento, que são os ovariolos. Cada ovariolo apresenta um revestimento epitelial associado a uma camada de tecido conjuntivo e consta de um filamento terminal que liga o ovariolo à parede do corpo, do germário, do vitelário e do pedicelo ovariano. No germário se encontram as células sexuais ou oogônias em processo de diferenciação, e no vitelário observam-se os oócitos em várias etapas de desenvolvimento. Finalmente, tem-se o pedicelo que é um tubo fino, provido de esfíncter e responsável pela saída dos oócitos corionados para o oviduto lateral. Os ovariolos desembocam em uma parte dilatada do oviduto lateral conhecida como cálice (Figuras 1 e 2).

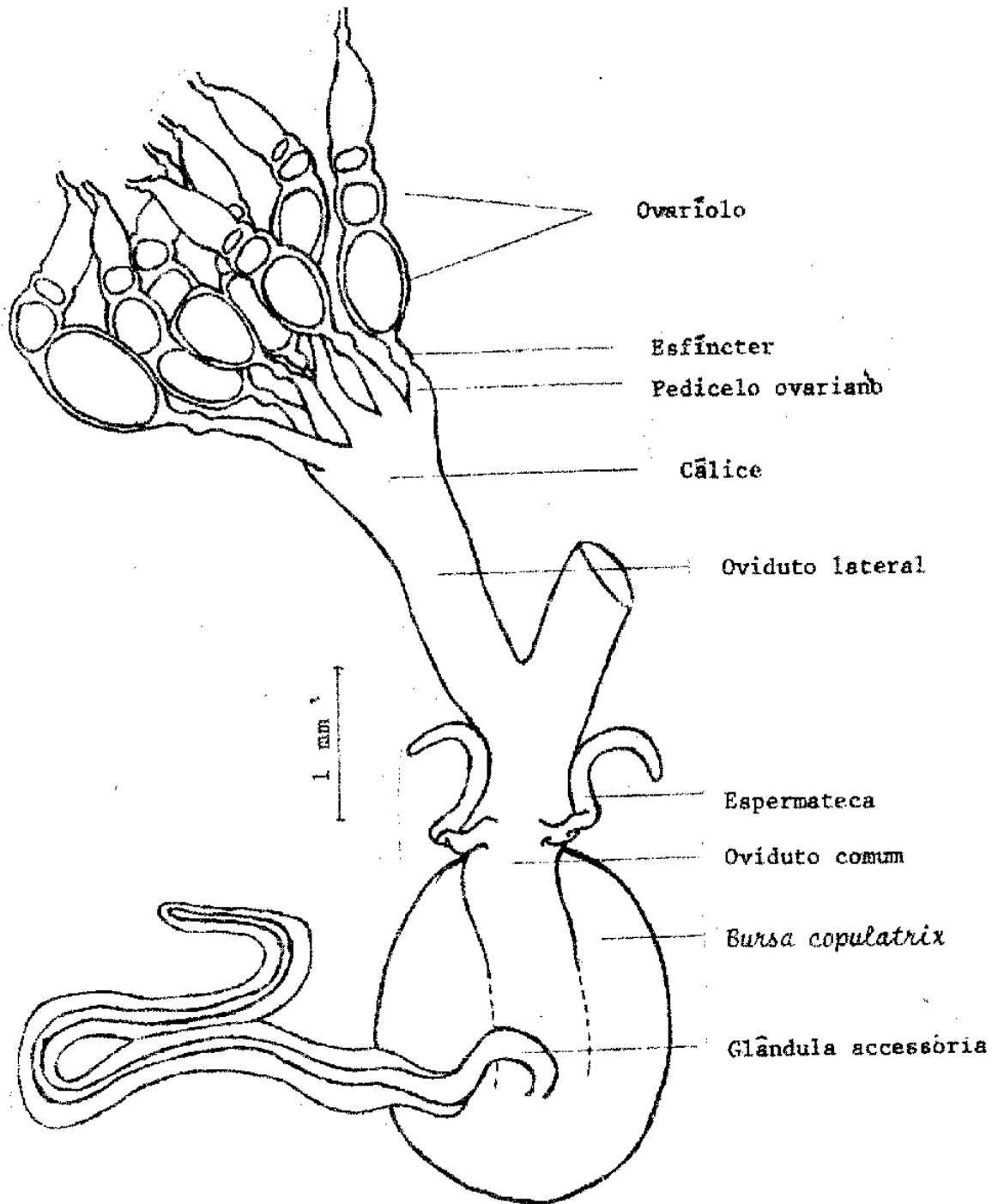


Figura 1. Sistema genital feminino de *R. prolixus* evidenciando-se as principais estruturas.

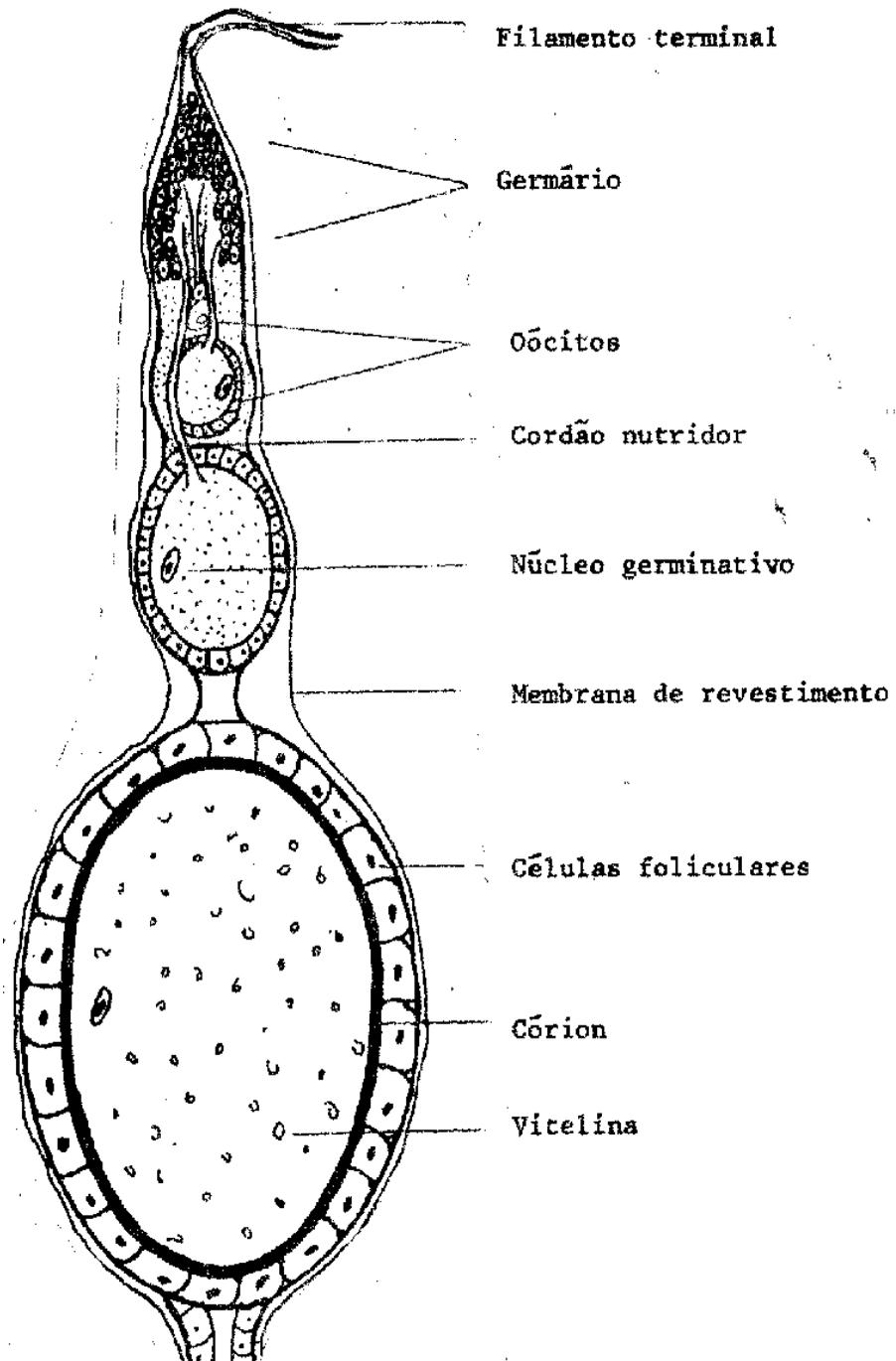


Figura 2. Ovariolo do tipo telotrófico de *R. prolixus* onde são especificadas as principais estruturas (Adaptado de WIGGLESWORTH, 1972).

## 1. Oogênese, fertilização e ovipostura

As oogônias diferenciam-se em células vitelínicas e oócitos, estes são envolvidos por células foliculares, formando os folículos ovarianos. Os oócitos vão aumentando de tamanho à medida que são deslocados para a extremidade posterior do ovaríolo. As células foliculares também aumentam de tamanho demonstrando intensa atividade secretora, embora a síntese de proteína formadora do vitelo, a vitelogenina, esteja a cargo do corpo gorduroso (PAN *et al.*, 1969). A vitelogenina atinge o oócito por passagem entre as células foliculares, determinando o crescimento deste (COLES, 1965; PATCHIN & DAVEY, 1968; SKINNER, 1963).

PRATT & DKVEY (1972c) caracterizam três fases evolutivas durante o desenvolvimento dos oócitos de um mesmo ovaríolo. Na primeira fase, encontram-se oócitos pré-vitelogênicos, que se situam próximos ao germário; têm crescimento estacionário e pouca quantidade de vitelo. Em seqüência, observam-se os oócitos vitelogênicos, que apresentam vitelogênese ativa e crescimento acelerado, e finalmente tem-se os oócitos maduros, nos quais o vitelo e o córion já foram depositados. Os autores também usam a nomenclatura de oócito terminal (oócito T), para o oócito mais desenvolvido de um ovaríolo, e oócitos terminais 1, 2 ou 3 (oócitos T-1, T-2 ou T-3), para os oócitos imediatamente anteriores.

De acordo com o tipo de oogênese, reconhece-se dois

tipos de ovários, o panoístico, onde as células foliculares são as únicas responsáveis pela produção de vitelo e nutrição do oócito, e o meroístico, no qual os oócitos são nutridos pelas células vitelínicas apenas nas primeiras etapas de seu desenvolvimento. Neste caso, se cada oócito tem suas próprias células vitelínicas, o ovário é dito ser meroístico politrófico, caso o oócito permaneça ligado às células vitelínicas por meio de cordões nutridores, tem-se o tipo telotrófico que é encontrado em *R. prolixus* (WIGGLESWORTH, 1972).

Após corionação, o oócito T rompe o folículo ovariano e passa para o oviduto lateral, havendo, ao mesmo tempo, uma ativação nos processos de vitelogênese do oócito imediatamente anterior, que é o oócito T-1 (PRATT & DAVEY, 1972).

Através de contrações rítmicas das paredes do oviduto o oócito maduro é deslocado, atingindo a parte anterior do oviduto comum, onde, na maioria dos insetos, há diferenciação desta região formando uma estrutura orientadora de oócitos, de modo que as micrópilas fiquem em contato com a abertura das espermatecas, o que facilita o acesso dos espermatozóides ao oócito. Após fertilização, os ovos são carregados e depositados em massas ou isoladamente, de acordo com a espécie. Alguns insetos têm secreções especiais das glândulas acessórias, visando proteger os ovos no ambiente, outros formam ootecas no interior do sistema genital (WIGGLESWORTH, 1972).

## 2. Fatores que influenciam na produção de ovos

Vários fatores influenciam na produção de ovos, entre eles verifica-se a temperatura, que na faixa ótima de cada espécie tem efeito estimulante (OKASHA, 1964); e a nutrição que influi decisivamente no desenvolvimento de ovos, encontrando-se insetos, onde o número de ovos está diretamente relacionado com a quantidade de alimento ingerido (COLES, 1965; FRIEND *et al.*, 1965; REGIS, 1977a). Também a nutrição ninfal possibilita a ocorrência de autogenia em algumas espécies (LEA, 1964; PATTERSON, 1979), e fatores como as secreções internas, produzidas por órgãos neuroendócrinos os humorais (NÓVAK, 1975; WIGGLESWORTH, 1972).

### C. SISTEMA ENDÓCRINO

KÓPEC (1917) mostrou que os insetos possuíam um sistema de controle interno, porém só alguns anos depois, WIGGLESWORTH (1934a,b, 1935 e 1936), com uma série de trabalhos em ninfas de *Rhodnius prolixus*, demonstrou com experimentos que envolviam decaptação, parabiose e transplantes, a existência de um controle hormonal, regulador dos processos de muda. Após estes experimentos clássicos, iniciou-se o estudo da endocrinologia dos insetos, com a descrição de órgãos e hormônios envolvidos nas diferentes atividades biológicas e fisiológicas.

Segundo NOVAK (1975), o sistema endócrino dos insetos está composto basicamente pelas Células. Neurosecretoras, órgãos reservatórios de neurosecreção, como os *corpora cardiaca*, e órgãos independentes, como os *corpora allata* e as Glândulas Protorácicas.

Célula Neurosecretoras (CNS) - são encontrados no cérebro, gânglio subesofágico e gânglios abdominais. Apenas as Células Neurosecretoras Cerebrais (CNSc) serão abordadas pois estão diretamente ligadas aos processos fisiológicos ora estudados.

As CNSc estão reunidas em dois grupos medianos, dispostos simetricamente e próximos da linha de união dos hemisférios do protocérebro; Nestes grupos identificam-se as CNSc do tipo A e as CNSc do tipo A'. São células facilmente visualizadas por serem grandes e possuírem citoplasma leitoso e núcleo escuro. De cada grupo de células parte um nervo interno, o *corporum cardiacarum* I, que se cruzam e atingem o *corpus cardiacum* do lado oposto. Formam, também, um nervo externo, o *corporum cardiacarum* II que atinge o *corpus cardiacum* do mesmo lado (WIGGLESWORTH, 1972). Alguns detalhes do sistema endócrino podem ser observados na Figura 3.

*Corpora cardíaca* (CC) - situados atrás do cérebro, entre o vaso dorsal e o esôfago, e anteriores aos *corpora allata* (Figura 3), os *corpora cardíaca* podem estar fusionados ou pareados, ligando-se aos *corpora allata* e gânglio subesofágico.

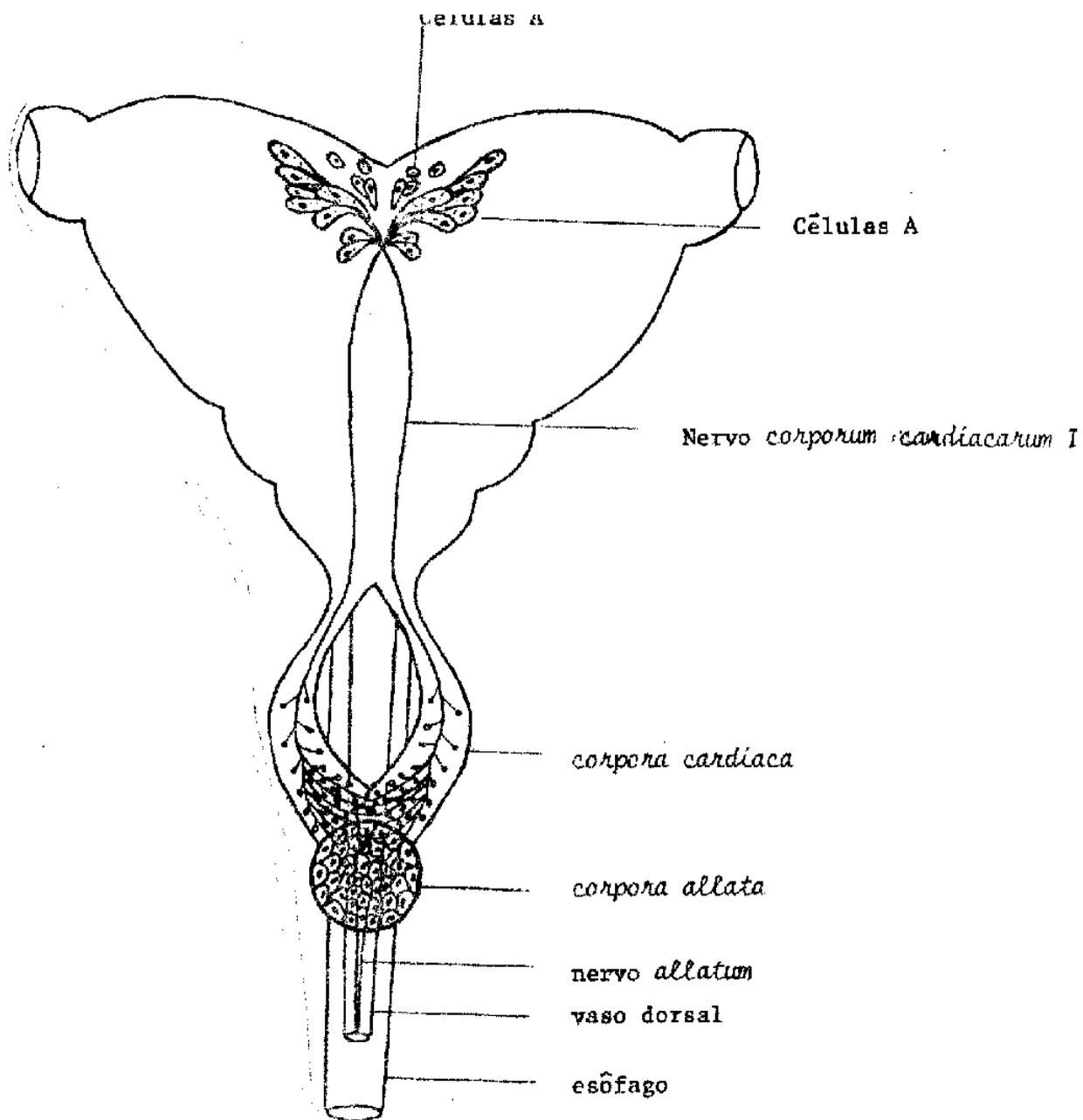


Figura 3. Complexo endócrino cerebral de *R. prolixus*. Evidenciam-se as células neurosecretoras do tipo A e A', os nervos *Corporum cardiacarum*, os *Corpora cardiaca* e os *Corpora allata*. As demais estruturas aparecem para maior referência (segundo Dogra, 1973).

no, através do nervo Allato (NOVÁK, 1975).

*Corpora allata* (CA)- ocorrem em todos os insetos alados, como um par de órgãos glandulares, situados após os *corpora cardíaca* e intimamente associados a estes. Nos Hemiptera, aparecem fusionados, formando uma estrutura única (Figura 3) e nos Apterigota, ocorrem como órgãos primitivos ou mesmo estão ausentes. Os *corpora allata* são responsáveis pela secreção do Hormônio Juvenil (NOVÁK, 1975).

Glândulas Protorácicas - aparecem como órgãos glandulares pareados, situados na área ventro-lateral do protórax, podendo conectar-se com os ramos traqueais ou atingirem o mesotórax. Em *Rhodnius*, estas são do tipo difuso e aparecem como cadeias de células dentro dos lobos internos do corpo gorduroso, ao lado do tubo digestivo (NOVÁK, 1975).

Devido à morfologia e a localização dos vários órgãos que secretam ecdisona, NOVÁK (1975) sugere que estes sejam incluídos, em um grupo denominado de Glândulas Apolíticas.

#### D. HORMÔNIOS RELACIONADOS COM A MUDA, METAMORFOSE E DESENVOLVIMENTO OVARIANO

Os primeiros dados, obtidos sob o controle hormonal em insetos, estavam ligados aos hormônios da muda e metamorfose. Praticamente, só nas últimas décadas, o complexo hormonal dos adultos passou a ser objeto de estudo e pesquisa.

## I. Hormônio de Ativação (HA)

WIGGLESWORTH (1934a,b) demonstrou a presença de um hormônio produzido pelas CNSc e o denominou de Hormônio de Muda, uma vez que este parecia regular o processo de muda. FUKUDA (1940) verificou que o hormônio da muda não agia diretamente neste processo, mas indiretamente através da ativação das GLP. Posteriormente, foi denominado de Hormônio Cerebral e um ano depois de Hormônio de Ativação, ficando estabelecido que o HA agia ativando as GLP, os CA e o desenvolvimento ovariano (WILLIAMS, 1947, 1948).

Em insetos sem GLP ou decaptados, no início do período crítico, a muda não ocorre, a menos que haja reimplante dos órgãos extirpados. Por outro lado, o implante de GLP ativas em abdomens isolados é capaz de levar à muda, enquanto o implante de cérebro não (FUKUDA, 1940; WIGGLESWORTH, 1952, 1964; WILLIAMS, 1952). Recentemente, FURTADO (1979a) verificou que a secreção das CNSc A', age nas GLP estimulando a síntese e liberação de ecdisona.

Vários autores, entre eles THOMSEN (1952), sugeriram que o HA seja necessário para a reativação dos CA, durante os processos de mudas seqüentes, de modo semelhante ao que ocorre com as GLP. A diminuição dos CA, como resultado da extirpação das CNSc do tipo A, veio reforçar as conclusões anteriores (JOHANSON, 1958). Entretanto, o modo de ação nos CA ainda não está esclarecido, pois a ativação destes depende de es-

tímulo anterior, que no caso é o HA, e este atinge os CA por via hemolinfática e nervosa (ENGELMAN, 1957; NAYAR, 1958). Em *Rhodnius* as CNSc são necessárias, pelo menos, durante vinte e quatro horas após a alimentação, para haver ativação dos CA (BAEHR, 1973; BAEHR *et al.*, 1973).

THOMSEN (1952) sugeriu que o HA tem ação indireta no desenvolvimento ovariano, devido à sua influência no metabolismo geral, além de ativar os CA.

Observa-se que a remoção das CNSc leva a uma inibição do desenvolvimento ovariano, redução do corpo gorduroso e ausência de secreção nas glândulas acessórias. Estes efeitos são revertidos por implante de CNSc ativas ou CC ativos mas não por implante de CA (THOMSEN, 1952; HIGHMAN & LUSIS, 1962).

## 2. Hormônio da Muda ou Ecdisona (HM)

Após a demonstração de que as GLP eram indispensáveis para a ocorrência de muda em *Bombyx mori* (FUKUDA, 1940), vários trabalhos surgiram, comprovando a presença destas glândulas ou de órgãos análogos nos diferentes grupos de insetos, dentre eles toma interesse especial o de WIGGLESWORTH (1952), em *R. prolixus*. Com o isolamento e cristalização do HM, extraído de *Bombyx mori*, por BUTTENANDT & KARLSON (1954) houve maior facilidade para estudar-se os processos fisiológicos relacionados com o ciclo de muda.

A ecdisona estimula os processos de muda por ativa-

ção das células hipodérmicas, onde restaura a capacidade de crescimento e síntese proteica, permitindo a formação da nova cutícula (WIGGLESWORTH, 1964). Nestas células há um aumento cíclico do DNA, que acompanha o nível de ecdisona, durante a muda (KRISHNAKUMARON *et al.*, 1965).

A ecdisona apenas induz os processos de muda, pois as características da nova cutícula dependem da presença ou não do HJ (MOROHOSHI & IIJIMA, 1969; MOROHOSHI *et al.*, 1972). Assim, o estímulo no crescimento é dado indiretamente pelo desencadeamento do ciclo de muda, o qual permite aos insetos aumentarem de tamanho, através das trocas cuticulares.

Os ovários, na maioria dos insetos, parecem independe-der da ecdisona, já que estes atingem um máximo de desenvolvi-mento, na fase imaginal, onde as GLP não ocorrem (WIGGLESWORTH, 1955, 1972). Verifica-se, porém, que em mosquitos, normalmente os ovários secretam ecdisona cuja ação é induzir o corpo gor-duroso à secreção de vitelogenina (HAGEDORN *et al.*, 1975). Des-te modo, em *Aedes aegypti*, a inibição da síntese desta proteí-na, que ocorre após uma ovariectomia, pode ser revertida pela administração de ecdisona (HAGEDORN & KUNKEL, 1979). Também, em ninfas de quinto estágio de *Rhodnius prolixus*, observam-se dois picos de ecdisona, o primeiro associado à muda, e o segun-do, relacionado aos processos iniciais de oogênese (BAEHR *et al.*, 1978).

### 3. Hormônio Juvenil (HJ)

WIGGLESWORTH (1936) verificou que a presença de HJ não permitia a ocorrência de metamorfose, descrevendo-o como Hormônio Inibidor. Mais tarde, observou-se que sua ação estava ligada à manutenção das características larvares, quando foi denominado de Hormônio Juvenil, mesmo que este tivesse um papel estimulante no desenvolvimento ovariano de fêmeas adultas (WIGGLESWORTH, 1940).

A tentativa de isolamento químico do HJ, praticamente foi iniciada por WILLIAMS (1956) que encontrou no extrato abdominal de *Hyalophora cecropia*, várias frações com efeito juvenilizante. Também WIGGLESWORTH (1969), tentou relacionar a estrutura química de várias substâncias análogas com o seu efeito em ninfas de *R. prolixus*. Havendo, na literatura, vários bioensaios que buscam padronizar a eficácia destes análogos de HJ, relacionando a dose e a via de administração com o efeito juvenilizante obtido em ninfas de *R. prolixus* (PATTERSON & SCHWAZ, 1977, WIGGLESWORTH, 1963), ou com o efeito estimulante no desenvolvimento ovariano de fêmeas de *Byrsotria fumigata* (BELL BARTH, 1970) e de fêmeas virgens de *Blatella germanica* (PINCUS, 1977).

O HJ age nos insetos como um todo, não evidenciando-se estruturas ou processos bioquímicos independentes deste (NOVÁK, 1975). Além das ações morfogenéticas e gonodotrópicas mais estudadas, verifica-se que o HJ afeta o metabolismo geral,

a histogênese, os tipos de polimorfismo e o comportamento sexual, nos vários grupos de insetos (WIGGLESWORTH, 1965).

WIGGLESWORTH (1940) propôs que nas células hipodérmicas dos insetos haja dois sistemas enzimáticos, um responsável pelas características larvares que seria dependente do HJ, e outro responsável pelas características imaginais, que só funcionaria na ausência deste. Assim, nas pupas de quinto estágio, onde o HJ parece não atingir a concentração efetiva, ocorre a metamorfose (GILBERT, 1962).

O HJ influencia diretamente a oogênese, por ação nas células foliculares ou indiretamente, estimulando a síntese de vitelogenina (ENGELMAN, 1968). Durante a vitelogênese ativa, há o aparecimento de espaços entre as células foliculares, o que permite a passagem de vitelogenina para o oócito (PATCHIN & DAVEY, 1968). O surgimento destes espaços se faz pela redução do volume destas células, sob a ação do HJ (ABU-HAKIMA & DAVEY, 1976).

A extirpação dos CA, causa um acúmulo de oócitos pré-vitelogênicos pois a ausência de espaços entre as células foliculares, não permite a deposição de vitelogenina. Caso haja um reimplante ou administração de HJ, observa-se o restabelecimento da oogênese (DAVEY, 1967; LAZAROVICI & PENER, 1977; PRATT & DAVEY, 1972c). Também "in vitro" nota-se a ação nas células foliculares (DAVEY & HUEBNER, 1974)

Na maioria dos insetos estudados, o HJ realmente con-

trola a síntese de vitelogenina, por ação estimulante no corpo gorduroso, e os efeitos de uma extirpação de CA. podem ser compensados pela aplicação tópica de um análogo de HJ (COLES, 1964, 1965; SRIVASTAVA & TIWARI, 1978). Por outro lado, nos *Diptera* inferiores e alguns *Lepidoptera*, não se observa a necessidade de HJ para a síntese de vitelogenina, sendo esta estimulada pela ecdisona proveniente dos ovários (HAGEDORN & KUNKEL, 1979).

#### E. CONTROLE HORMONAL DA MUDA

STEEL (1975) propôs um esquema de controle da muda em ninfas de *R. prolixus*. Segundo ele, a distensão abdominal causada pela alimentação, ativaria os receptores de distensão, que estimulariam no cérebro a secreção e liberação do HA. O HA, por sua vez, ativa as GLP a produzirem ecdisona, que desencadeia o processo de muda.

A ecdisona tem um "feed-back" positivo para a sua própria produção, e atingindo um máximo, o cérebro deixa de ser necessário como ativador. Concomitantemente, observa-se o declínio da produção de HA. Este declínio se deve a uma inibição causada pela ecdisona a nível de CNSc.

FURTADO (1976), estudando as CNSc A e A' de *Pantronylus megistus*, concluiu, posteriormente, que as secreções das células A, agem diretamente nas células hipodérmicas, enquanto que as secreções das células A', agem indiretamente,

via estimulação das GLP (FURTADO, 1979a). O HA, também é responsável pelo estímulo nos CA, levando estes a produzirem HJ, que age nas células hipodérmicas junto com a ecdisona determinando os eventos da muda (KHAN *et al.*, 1978; WIGGLESWORTH, 1940). O fato do HJ, no último estágio larvar ou pupal, não atingir uma concentração efetiva, não está explicado, pois nestes estádios verifica-se a ativação das CNSc (NOVAK, 1975).

#### G. CONTROLE HORMONAL DA OOGÊNESE

Na fêmea adulta são observados fatores que interferem direta ou indiretamente na ação do HJ, entre eles estão a alimentação e o acasalamento. A maioria dos insetos não madura ovos sem uma prévia alimentação, pois é necessária uma fonte protéica que forneça substrato para a síntese de vitelogenina, ou mesmo para a produção hormonal (ENGELMANN, 1968). Como pode-se observar, em *Triatoma protracta*, o estímulo dos CA, é dado pela alta concentração de proteínas hemolinfáticas e pelas CNSc, sendo estas ativadas pela alimentação (MUNDALL & ENGELMANN, 1977). A cópula também estimula a oogênese, pois as fêmeas virgens de *R. prolixus* produzem e colocam menos ovos do que as acasaladas (COLES, 1965; DAVEY, 1965; UBATUBA *et al.*, 1969).

Segundo PRATT & DAVEY (1972c), nas fêmeas adultas de *Rhodnius*, há dois tipos de controle da oogênese. Um, seria direto e desencadeado pela alimentação, com estímulo nas CNSc e

e posterior ativação dos CA para a síntese e liberação do HJ (ou hormônio gonadotrófico, de alguns autores). O outro, indireto e através da cópula, com a produção de uma miotropina ovariana ou fator miotrópico, que estimula a postura. Devido a ausência de cópula não há secreção de miotropina em fêmeas virgens, o que causa o acúmulo de ovos nos pedicelos ovarianos. Este acúmulo, leva à secreção de uma antigonadotropina que por inibição dos CA ou da ação do HJ, freia a oogênese.

Recentemente, sugeriu-se que na fase adulta haja um sistema de "feed -back" controlador da oogênese, neste o HJ seria inibido pela ecdisona, secretada pelos próprios ovários ou outro tecido. Observa-se que, quando a ecdisona é administrada a fêmeas de *R. prolixus*, há inibição do desenvolvimento ovariano, sendo este restabelecido após a administração de HJ (GARCIA et al., 1979). Outro "feed-back" semelhante, é sugerido para *Diploptera punctata*, onde a presença de ovos retidos no trato genital causa uma inibição do HJ, que é idêntica à inibição obtida por aplicação de ecdisterona (STAY et al., 1980).

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### A. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Os insetos utilizados neste trabalho foram selecionados no quinto estágio ninfal, de colônias de *R. prolixus*, mantidas e criadas na Fundação Instituto Oswaldo Cruz e no Laboratório de Fisiologia de Insetos, da Universidade Federal Fluminense. Estes insetos foram alimentados com sangue humano heparinizado em mamadeira artificial (GARCIA *et al.*, 1975).

Durante toda a fase experimental, os insetos permaneceram no insetário, onde a temperatura média atingida era de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e a umidade relativa do ar era de aproximadamente 70%.

#### B. FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Oito grupos experimentais foram formados com fêmeas acasaladas ou virgens, alimentadas ou submetidas ao jejum e tratadas ou não com um análogo de Hormônio Juvenil (HJ). Estes

grupos foram:

Grupo 1 - Fêmeas alimentadas, não tratadas com HJ e mantidas virgens.

Este grupo constava de trinta fêmeas, alimentadas no vigésimo dia após a muda imaginal, que permaneceram virgens e sem tratamento hormonal. No grupo 1, o desenvolvimento oocitário foi observado nos dias 2, 4, 7 e 10, após a alimentação. Em cada leitura, duas fêmeas foram sacrificadas, seus ovários dissecados e os oócitos T e T-1 medidos. As demais fêmeas foram mantidas para observação da ovipostura.

Grupo 2 - Fêmeas alimentadas, não tratadas com HJ e acasaladas. Para a formação deste grupo utilizou-se a mesma metodologia descrita para o grupo 1, exceto que, as trinta fêmeas foram acasaladas 24 horas após o repasto sanguíneo, e o desenvolvimento oocitário foi observado nos dias 2, 4, 7 e 9 após a alimentação.

Grupo 3 - Fêmeas alimentadas, tratadas com HJ e mantidas virgens. O grupo 3 constava de um total de 120 fêmeas alimentadas no vigésimo dia após a muda imaginal e tratadas 24 horas após, com diferentes doses hormonais (0,1; 0,5; 1,0 e 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ por inseto), sendo trinta fêmeas por dose. Estas fêmeas permaneceram virgens durante o experimento. O desenvolvimento oocitário, de duas fêmeas de cada dose hormonal foi observado aos 2, 4, 7 e 10 dias após a alimentação. Nas demais fêmeas observou-se a ovipostura.

Grupo 4 - Fêmeas alimentadas tratadas com HJ e acasaladas. Este grupo foi formado de modo semelhante ao descrito para o grupo 3, porém suas fêmeas foram acasaladas no dia do tratamento hormonal e o desenvolvimento oocitário observado nos dias 2, 5 e 7 após o repasto sanguíneo.

Grupo 5 - Fêmeas em jejum, não tratadas com HJ e mantidas virgens. O grupo 5 constava de quarenta fêmeas submetidas ao jejum que não receberam tratamento hormonal nem foram acasaladas. O crescimento oocitário foi observado em intervalos de tempo à partir do primeiro dia até o trigésimo dia após a muda imaginal. A ovipostura não foi observada.

Grupo 6 - Fêmeas em jejum, não tratadas com HJ e acasaladas. Este grupo foi formado de vinte fêmeas mantidas em condições similares às do grupo 5, exceto que suas fêmeas foram acasaladas no vigésimo primeiro dia após a muda imaginal, e o crescimento oocitário verificado nos dias 22, 25, 27 e 30 após esta. Também não foi observada a ovipostura das fêmeas do grupo 6.

Grupo 7- Fêmeas em jejum, tratadas com HJ e mantidas virgens. O grupo 7 foi constituído de sessenta fêmeas mantidas em jejum e tratadas com diferentes doses hormonais (0,1: 0,5 1,0 e 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ/inseto), sendo quinze fêmeas por dose. Estas fêmeas permaneceram virgens durante todo o experimento e receberam HJ no vigésimo primeiro dia após a muda imaginal. O crescimento oocitário foi observado nos dias 1, 4, 7 e 9 após o tratamento-hormonal, não sendo verificada a

ovipostura.

Gripo 8 - Fêmeas em jejum, tratadas com HJ e acasaladas. A formação do grupo 8 foi semelhante à do grupo 7, com a diferença de que suas fêmeas foram acasaladas no dia do tratamento hormonal, sendo as leituras para verificação do crescimento oocitário, procedidas nos dias 1, 4, 6 e 10 após este.

Para melhor compreensão da metodologia usada na formação dos grupos experimentais, os dados citados neste item aparecem resumidos no Quadro 1.

#### C. FÊMEAS ALIMENTADAS OU SUBMETIDAS AO JEJUM

Para observar-se o efeito da alimentação ou do jejum, as fêmeas recém mudadas de *R. prolixus* foram mantidas em um recipiente de vidro durante vinte dias. Após este período tornou-se fácil identificar as fêmeas autógenas (insetos que desenvolvem ovos sem necessidade de repasto sanguíneo), quando o abdome destas é observado contra uma fonte de luz. As fêmeas autógenas foram eliminadas do experimento.

Com as fêmeas restantes, formaram-se dois lotes. O primeiro, com trezentos insetos, foi alimentado sobre pombos, e o segundo, com cento e oitenta insetos, permaneceu em jejum.

As fêmeas alimentadas foram pesadas, em balança analítica Mettler (sensibilidade de 0,1 mg), antes e após o repas-

Quadro 1. Esquema mostrando a metodologia usada na formação dos grupos experimentais.

Fêmeas virgens obtidas à partir de ninfas de quinto es- tádio	(A) Lote com fêmeas alimentadas	Fêmeas sem tratamento hormonal	Fêmeas virgens	Grupo 1
			Fêmeas acasaladas	Grupo 2
		Fêmea com tratamento hormonal	Fêmeas virgens	Grupo 3
			Fêmeas acasaladas	Grupo 4
	(B) Lote com fêmeas em jejum	Fêmeas sem tratamento hormonal	Fêmeas virgens	Grupo 5
			Fêmeas acasaladas	Grupo 6
		Fêmeas com tratamento hormonal	Fêmeas virgens	Grupo 7
			Fêmeas acasaladas	Grupo 8

to sanguíneo, sendo aproveitadas apenas as fêmeas que ingeriram uma quantidade entre 168,7 e 194,9 mg de sangue.

#### D. ADMINISTRAÇÃO DO HORMÔNIO JUVENIL

Como o Hormônio Juvenil de *R. prolixus* ainda não foi isolado quimicamente, utilizou-se uma substância de efeitos análogos, que foi o Epoxigeranilgeraniol-metil-éster (cedido pelo Dr. Gilbert, da UFRJ).

O análogo de HJ foi aplicado topicamente nos esternitos abdominais dos insetos dos Grupos 3, 4, 7 e 8, com a ajuda de uma micropipeta de 5  $\mu$ l ou seringa de 10  $\mu$ g de HJ. As doses utilizadas foram 0,1; 0,5; 1,0 e 2,5  $\mu$ g de HJ em solução de heptano, perfazendo um volume final de 5,0  $\mu$ l por inseto. Nas fêmeas controles, aplicou-se 5,0  $\mu$ l de heptano (Grupos 1, 2, 5 e 6).

#### E. OBTENÇÃO DE FÊMEAS VIRGENS OU ACASALADAS

Para observar-se o efeito da cópula ou da ausência desta sobre as fêmeas de *R. prolixus*, foi necessária a separação de machos e fêmeas. Esta separação foi feita durante o quinto estágio ninfal, através do método descrito por ESPÍNOLA (1966). Segundo o autor, as ninfas que originarão fêmeas apresentam na borda posterior do oitavo esternito, duas calosidades que projetam-se sobre o nono esternito, de modo que este apresenta-se como duas faixas laterais e estreitas.

As ninfas com características indicadoras de que originariam fêmeas, foram isoladas individualmente em frascos de vidro, onde permaneceram até a muda imaginal. Após a muda imaginal, as fêmeas virgens foram mantidas separadas da colônia, para evitar cópulas acidentais e observar-se o aparecimento de autogenia.

O acasalamento foi feito através da exposição de uma fêmea a dois machos recém alimentados. Considerando-se que a fêmea fora copulada, quando observava-se a presença de espermatóforas em seu frasco, seus ovos eram férteis ou quando havia espermatozóides nas suas espermatecas.

#### F. VERIFICAÇÃO DA OVIPOSTURA

Para verificar a ação da presença ou ausência de cópula e tratamento ou não com HJ sobre a ovipostura de fêmeas alimentadas (Grupos 1, 2, 3 e 4), acompanhou-se o tempo necessário para o início da postura, após o repasto sanguíneo, e o número de ovos postos. Os ovos foram contados e mantidos por vinte dias para a verificação de sua viabilidade.

#### G. VERIFICAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO OOCITÁRIO

Para avaliar o efeito da presença ou ausência de cópula, da alimentação ou do jejum e do tratamento ou não com HJ sobre a oogênese, observou-se o desenvolvimento oocitário das

fêmeas dos oito grupos experimentais. Este desenvolvimento, foi verificado através da mensuração do comprimento dos oócitos T e T-1, em intervalos de tempo após a alimentação, e após a ecdise ou tratamento hormonal, nos insetos submetidos ao jejum.

A mensuração dos oócitos foi possível após a retirada dos tergitos e do tubo digestivo que permitiu livre acesso aos, trato genital. Com o auxílio de lupa Aus Jena e agulhas de dissecação, os ovários foram retirados do abdome, colocados em lâmina de vidros com solução salina à 0,15 M e dissecados. O envoltório ovariano e as traquéias foram removidos, tornando-se possível a observação das células foliculares e dos oócitos. Após dissecação, o comprimento dos oócitos T e T-1 foi medido em microscópio ótico Aus Jena, adaptado com ocular milimetrada e previamente calibrada em lâmina micrométrica da Wild.

Os ovários das fêmeas de alguns grupos foram desenhados usando-se lupa e câmara clara da Wild.

#### H. AÇÃO DO HJ SOBRE A PERMEABILIDADE DAS CÉLULAS FOLICULARES E DOS OVIDUTOS À VITELOGENINA

A resposta das célula foliculares a diferentes concentrações do HJ, foi quantificada, usando-se método descrito por DAVEY & HUEBNER (1974), modificado por SANTOS *et al.*, 1979. A quantidade de corante que fica retida nos espaços entre estas células, re-

presenta a sua permeabilidade à vitelogenina. Para saber - se se os ovidutos poderiam interferir nas leituras, estes foram tratados de modo idêntico aos ovariólos.

Para a execução do teste, os ovários e ovidutos das fêmeas do grupo 1 e 3 foram removidos do abdome dos insetos, colocados em lâmina de vidro e dissecados em salina. Após este procedimento os ovários e ovidutos foram incubados por 30 seg. em uma solução de 0,5% de Azul de Evans em NaCl a 0,15 M. Este corante provinha da Sigma Chemical Company. Seguindo-se à coloração, os órgãos foram lavados em salina durante 15 seg., para retirada do excesso de corante.

A separação dos ovidutos e ovariólos foi feita do seguinte modo: o oviduto comum foi cortado em um plano imediatamente posterior à inserção das espermatecas, e os ovidutos laterais em um plano imediatamente anterior à inserção dos ovariólos. Utilizando-se um homogeneizador de vidro para pequenas amostras, os ovidutos e ovariólos foram homogeneizados, separadamente, em 1 ml de salina que continha 1% de Dodecil-sulfato de sódio (SDS), obtido da Companhia de Produtos Químico Merck.

A leitura do homogenato foi feita em espectrofotômetro Aus Jena estabelecendo-se como unidade colorimétrica:  $U = 0,1 A_{600}$ , onde U, é a quantidade de corante retida entre as células foliculares e que determina uma absorbância de 0,1 em um comprimento de onda de 600 nm.

#### IV. RESULTADOS

##### A. EFEITO DO HORMÔNIO JUVENIL NA OVIPOSTURA DE FÊMEAS ALIMENTADAS

Para observação da ovipostura, usou-se os grupos formados dentro do Lote A (Quadro 1), no qual verificou-se o tempo necessário para o início da postura e o número de ovos postos.

##### 1. Ovipostura de fêmeas virgens e acasaladas não tratadas com Hormônio Juvenil

As fêmeas virgens (Grupo 1) apresentaram um retardo de três dias, para o início da postura e um número médio de ovos por fêmea, bem menor (2 ovos), quando comparadas às fêmeas acasaladas (Grupo 2), cuja postura iniciou-se no décimo sexto dia, após a alimentação, e o número médio de ovos postos foi de 12 ovos por fêmea (Figuras 4, A e B).

## 2. Ovipostura de fêmeas virgens e acasaladas tratadas com Hormônio Juvenil

Observou-se que, após o tratamento hormonal, nos Grupos 3 e 4 houve um aumento no número de ovos, porém o retardo inicial verificado nas fêmeas virgens do Grupo 1, continuou ocorrendo nas fêmeas virgens tratadas (Figuras 4, A e B). Na dose de 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ, a ovipostura das fêmeas virgens aumentou, ficando muito próxima da observada em fêmeas acasaladas não tratadas (Figuras 4, Ac e Be). De modo idêntico, as acasaladas tratadas com a mesma dose, apresentaram um aumento de número de ovos, maior do que 50%, em relação às acasaladas não tratadas (Figuras 4, Bc e Be). Com a dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ, observou-se nas fêmeas virgens, um atraso de três dias para o início da ovipostura, em relação às outras doses, semelhantemente, as fêmeas acasaladas também apresentaram um atraso inicial de dois dias, quando tratadas com a mesma dose (Figuras 4, A e B).

Na Figura 5, onde relaciona-se o número de ovos postos por fêmea com a dose hormonal aplicada, pode-se verificar que o aumento observado em todos os grupos foi proporcional à dose. Tanto nas fêmeas virgens como nas acasaladas, a dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ apresentou efeito inibidor.

### B. EFEITO DO HORMONIO JUVENIL NA OOGÊNESE DE FÊMEAS ALIMENTADAS

O objetivo desta etapa do trabalho foi verificar o efei-

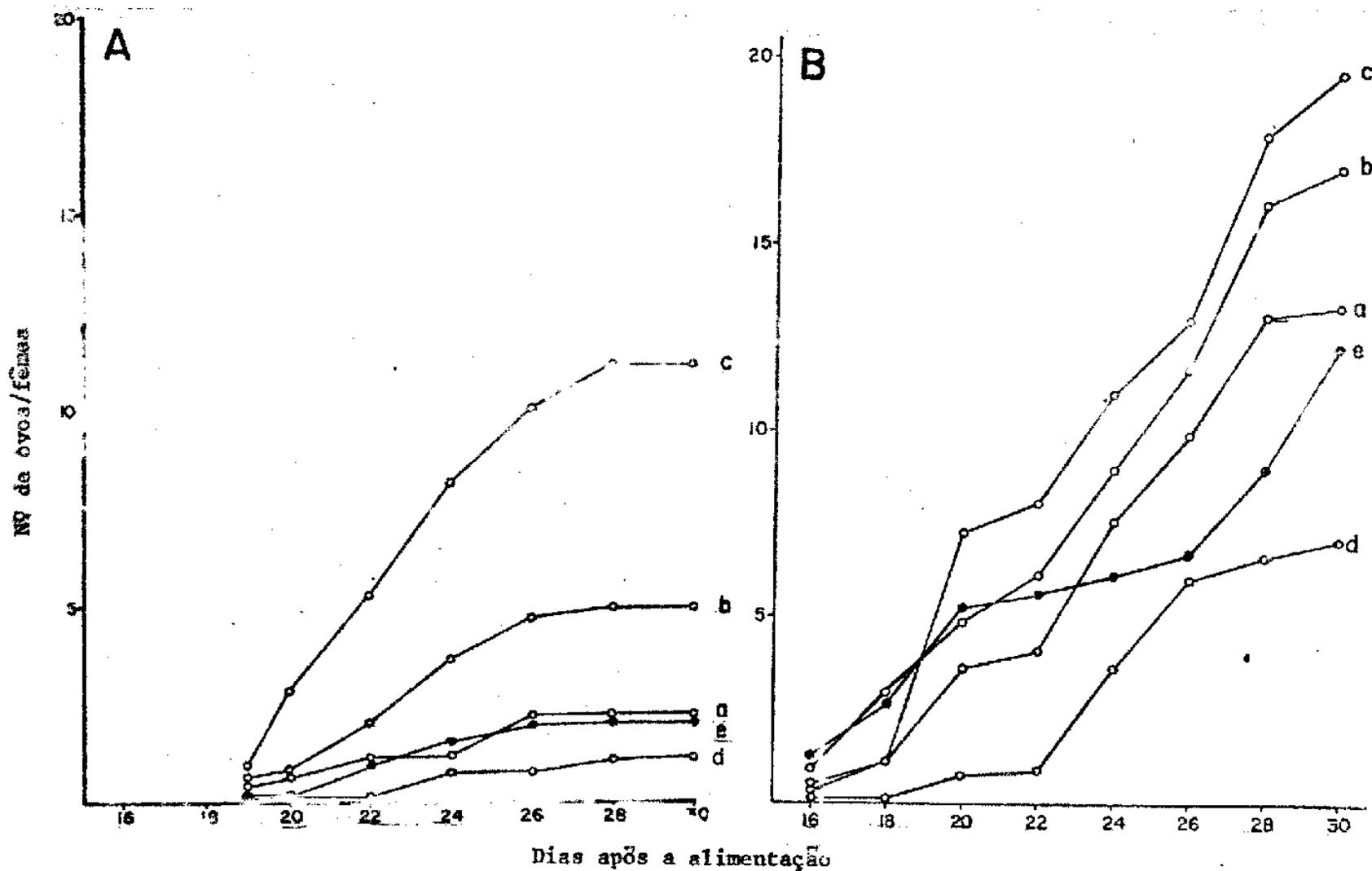


Figura 4. Número médio acumulativo de ovos postos por fêmea de *R. prolixus* durante o primeiro ciclo ovariano.  
 A - fêmeas virgens; B - Fêmeas acasaladas; a) 0,1 µg de HJ; b) 0,5 µg de HJ; c) 1,0 µg de HJ; d) 2,5 µg de HJ, e) Fêmeas sem tratamento hormonal.

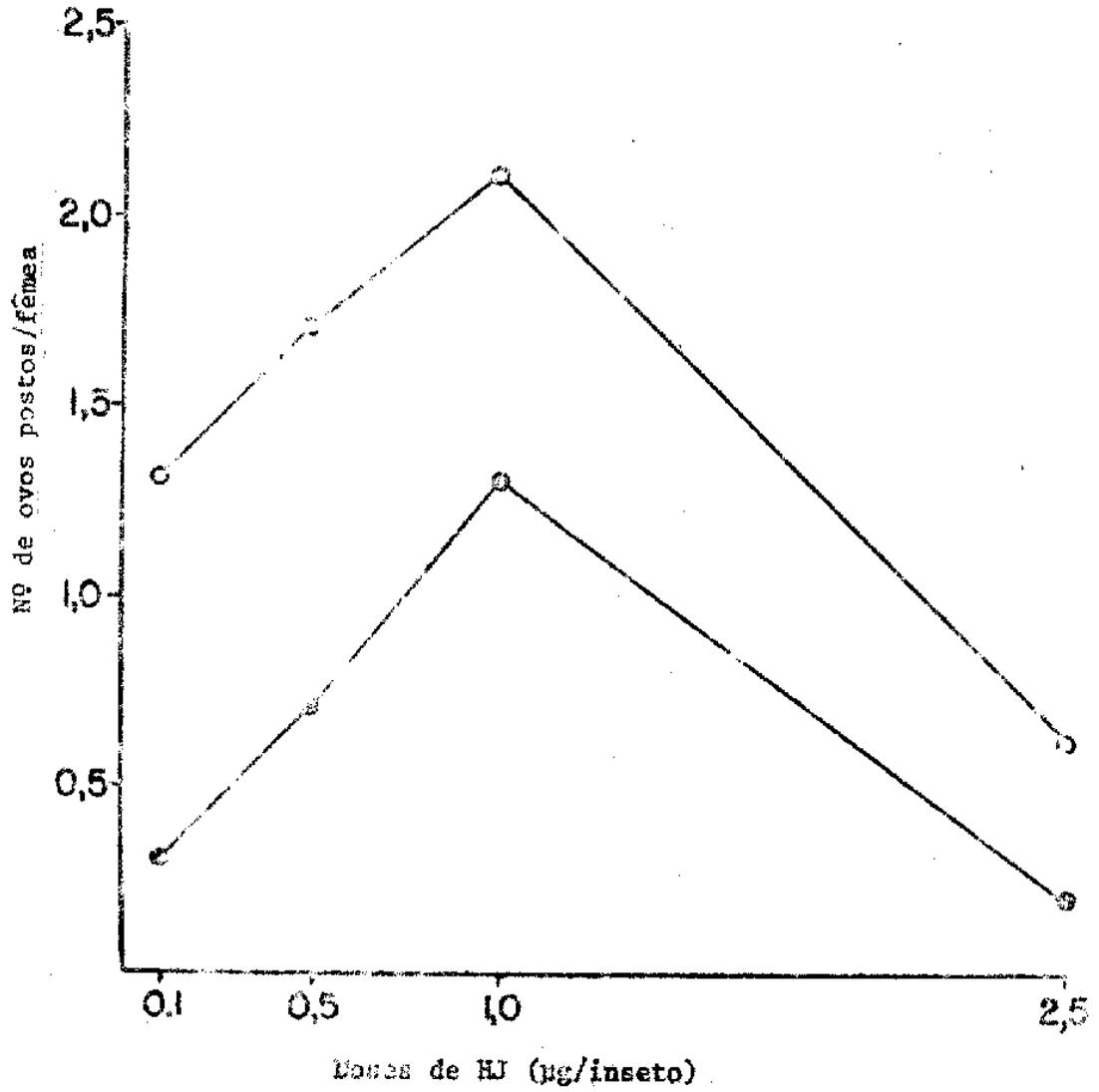


Figura 5. Número médio de ovos postos por fêmea de *R. prolixus*, em relação à dose hormonal aplicada.

- = Fêmeas virgens
- = Fêmeas acasaladas

to do HJ na oogênese de fêmeas, cujo complexo hormonal havia sido previamente ativado pela alimentação. Para isto, nos insetos dos Grupos 1, 2, 3 e 4 (Quadro 1), foram observados: a sincronia no desenvolvimento oocitário, o tempo necessário para os oócitos atingirem a faixa de ativação na pré-vitelogênese e a duração da fase de vitelogênese.

#### 1. Sincronia no desenvolvimento oocitário

O desenvolvimenlo ovariano foi estudado através do comprimento dos oócitos, que serviu como indicador de crescimento. Em um mesmo ovariolo, verificou-se uma sincronia no desenvolvimento oocitário, onde o oócito T-1 permaneceu em pré-vitelogênese, até que o oócito T, entrasse em corionação. Deste modo, só encontrou-se um oócito em vitelogênese ativa em cada ovariolo.

Em intervalos de tempo dentro dos dez primeiros dias após a alimentação, duas fêmeas de cada grupo ou subgrupo, foram sacrificadas, seus ovários dissecados e o comprimento dos oócitos T e T-1 medidos. Estas medidas aparecem dispostas nas Figuras 6 e 7, onde pode-se verificar que os oócitos T-1 só atingem a vitelogênese ( $T-1 > 0,4$  mm), quando os oócitos T entram em corionação ( $T > 1,6$  mm). Assim, os fatores como ausência de cópula, o acasalamento e a presença ou ausência de HJ, isoladamente ou em interação, não interferem na sincronia ovariana das fêmeas alimentadas.

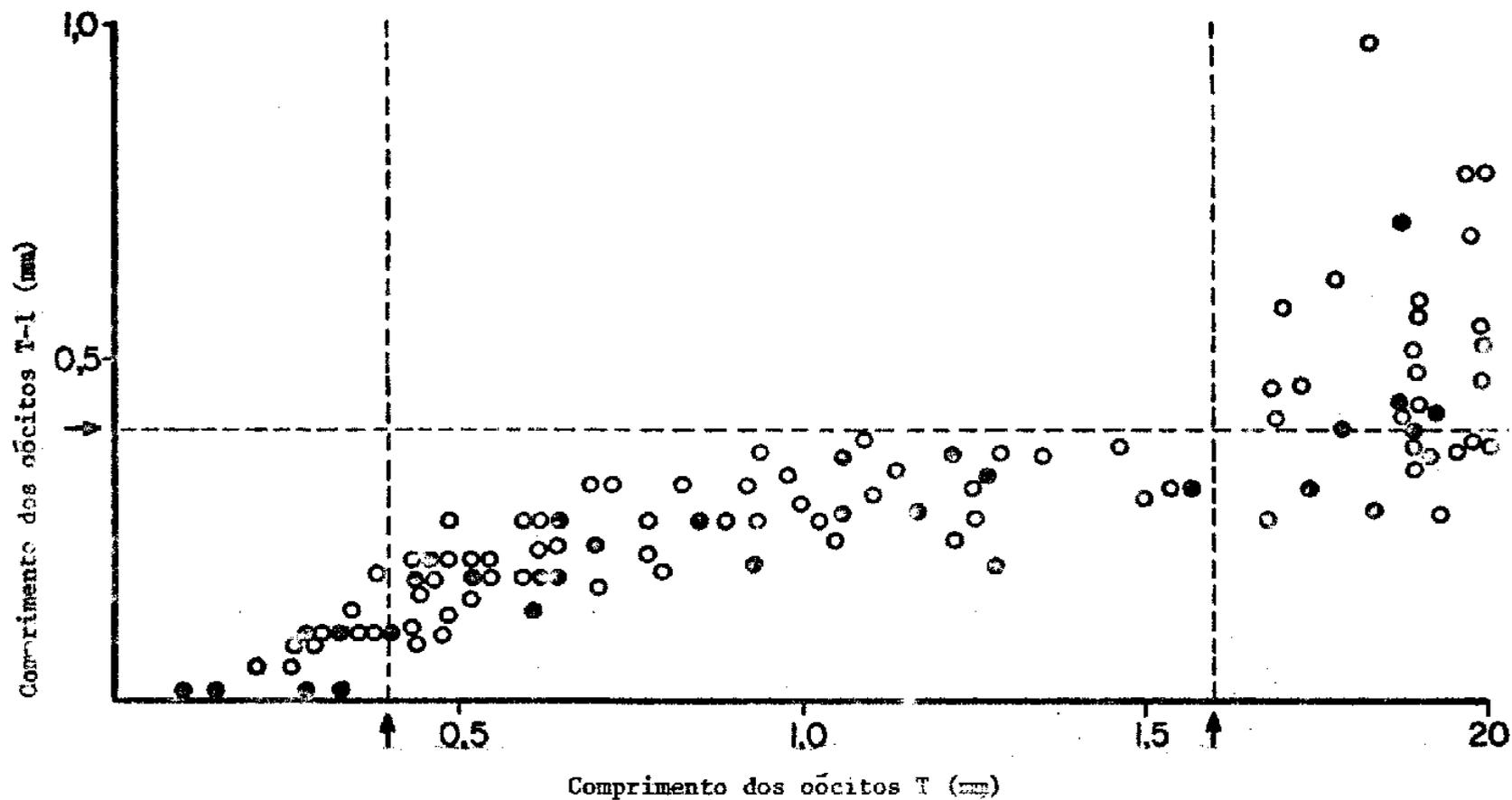


Figura 6. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas acasaladas e alimentadas, de *R. prolixus*.

- = Fêmeas sem tratamento hormonal
- = Fêmeas tratadas com 0,1, 0,5, 1,0 e 2,5 µg de HJ
- ↑ = (em 0,4 mm) = Início da vitelogenese
- ↑ = (em 1,6 mm) = Início da corionação

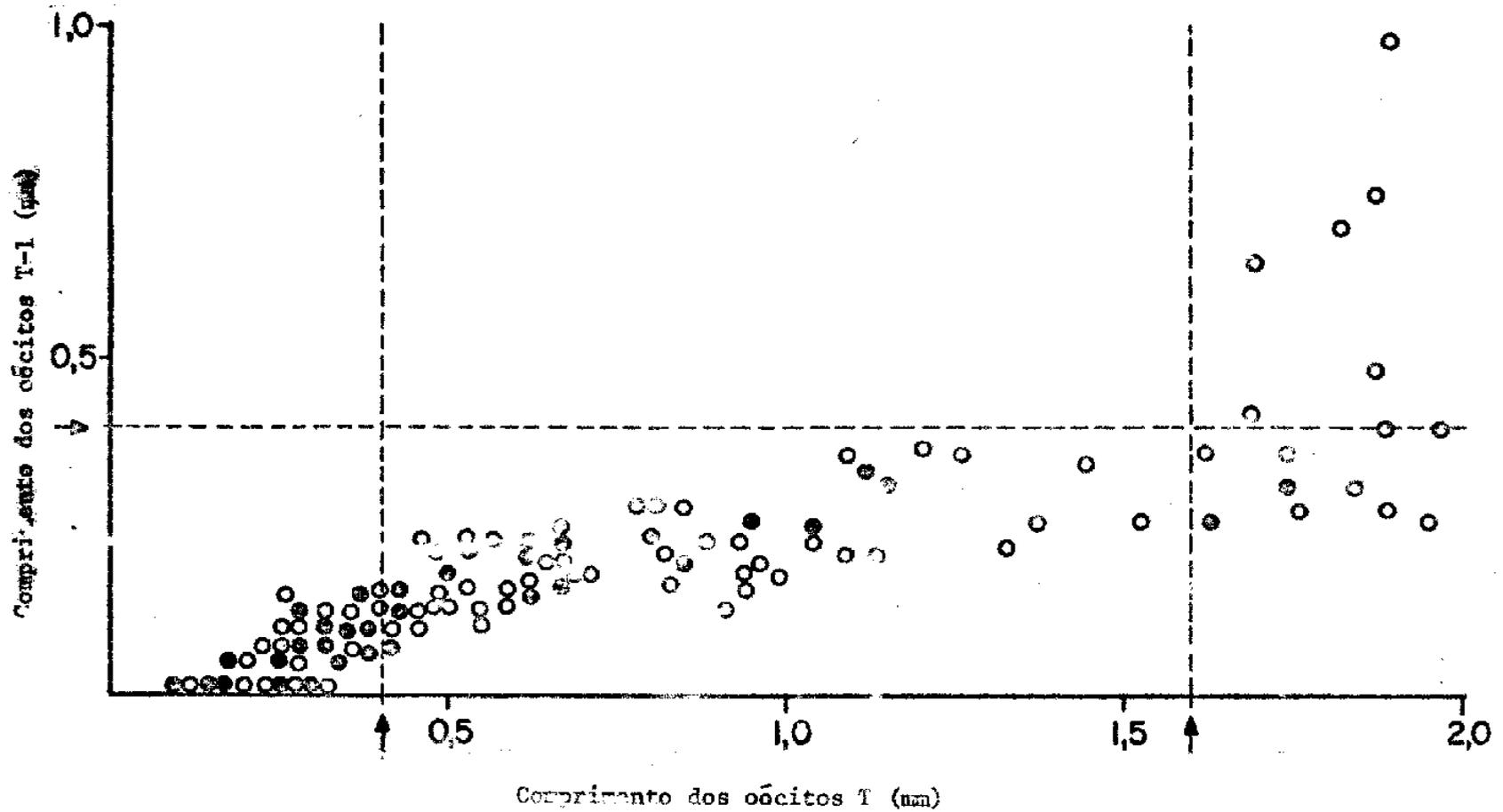


Figura 7. Comprimento dos oócitos T e T-1, de fêmeas virgens e alimentadas, de *R. prolixus*.

- = Fêmeas sem tratamento hormonal
- = Fêmeas tratadas com 0,1, 0,5, 1,0 e 2,5 µg de HJ
- ↑ = (em 0,4 mm) = Início da vitelogenese
- ↑ = (em 1,6 mm) = Início da corionação

2. Crescimento oocitário das fêmeas virgens e acasaladas não tratadas com Hormônio Juvenil

Observando-se as fêmeas virgens do Grupo 1 (Figura 8A) verificou-se que os oócitos T, no quarto dia após a alimentação, já atingiram a faixa de vitelogênese e permaneceram crescendo até o décimo dia, quando apresentaram um comprimento de  $0,75 \pm 0,03$  mm. As fêmeas acasaladas do Grupo 2 (Figura 8B), também apresentaram um crescimento semelhante, porém mais intenso, de modo que, no nono dia, os oócitos T atingiram um comprimento de  $1,26 \pm 0,11$  mm.

Nos dois grupos, os oócitos T-1 permaneceram em pré-vitelogênese, crescendo lentamente (Figuras 8A e B). Alguns oócitos T e T-1 apresentavam-se pouco desenvolvidos e não podiam ser medidos, sendo considerados como valor zero, para o cálculo da média. Durante as observações não foram encontrados oócitos em degeneração e a coloração rósea, característica do vitelo, era normal.

3. Crescimento oocitário das fêmeas virgens e acasaladas tratadas com Hormônio Juvenil

Quando as fêmeas virgens foram tratadas com HJ (Grupo 3), nas doses de 0,1 e 1,0 mg (Figura 9 A e B), observou-se um estímulo no crescimento dos oócitos, de modo que o valor médio do comprimento destes, assemelhava-se ao encontrado nas fêmeas

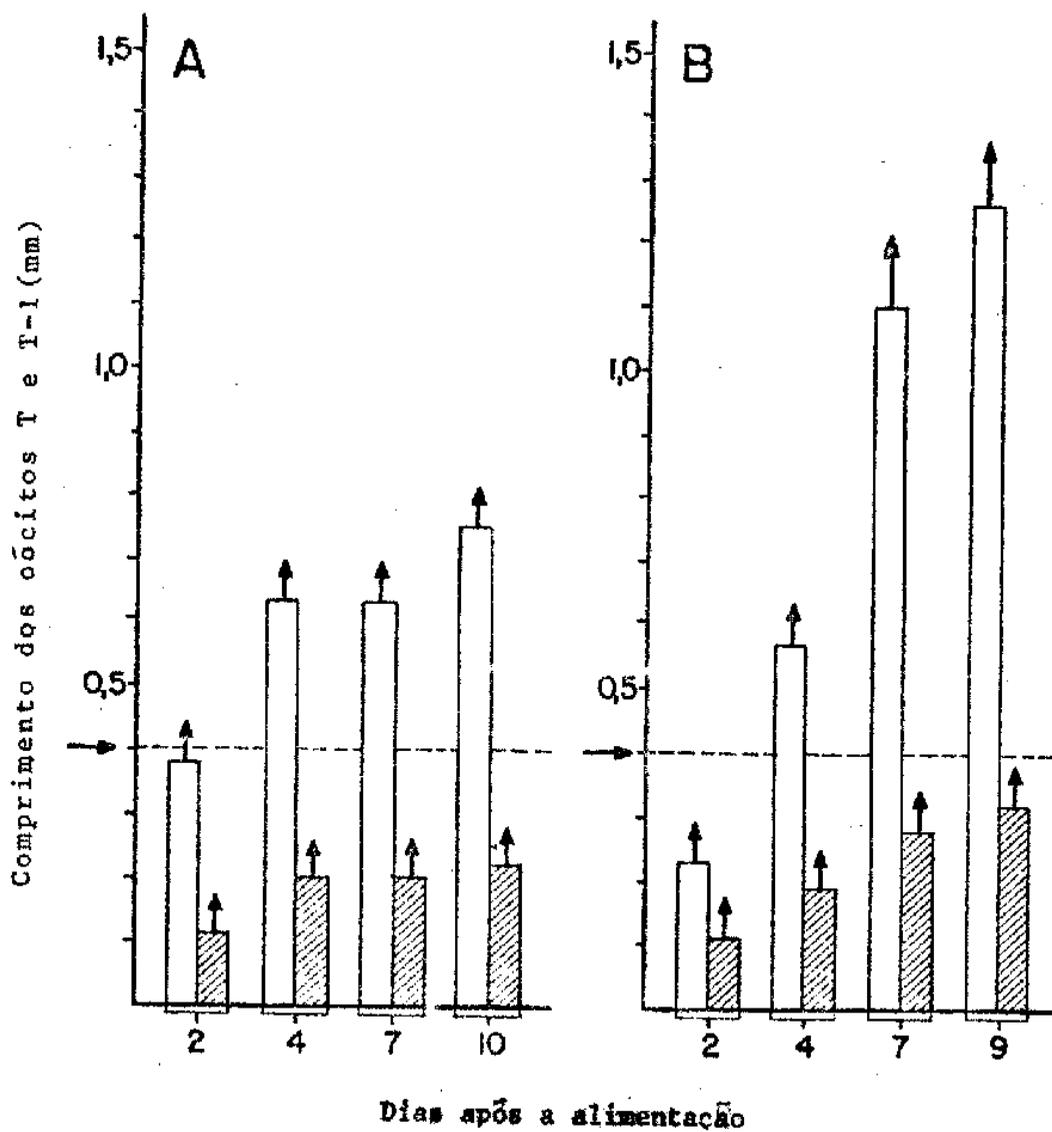


Figura 8. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas de *R. prolixus*, alimentadas no vigésimo dia após a muda imaginal.

A = fêmeas virgens; B = fêmeas acasaladas;  
 ▲ = Início da vitelogênese  
 □ = Oócitos T  
 ▨ = Oócitos T-1

acasaladas sem tratamento hormonal (Figura 8 B). A dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ, apresentou efeito inibidor (Figura 9 C). Devido ao fato de no sétimo dia após a alimentação, já serem observados os oócitos corionados, este dia foi considerado o de maior expressão do efeito do HJ.

Nas fêmeas acasaladas do Grupo 4 (Figura 10 ABCD), observou-se uma aceleração no desenvolvimento ovariano, pois no segundo dia após a alimentação, em todos os grupos, os oócitos T encontravam-se na faixa de vitelogênese.

Já no quinto dia, nas doses de 0,5 e 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ (Figura 10 BC), os oócitos T apresentavam-se em corionação ou maduros nos ovidutos, e grande parte dos oócitos T-1 estava em vitelogênese. Neste dia, na dose de 0,1  $\mu\text{g}$  de HJ (Figura 10 A), não foram encontrados oócitos maduros, porém a maioria dos oócitos T, havia atingido a corionação e os oócitos T-1, apresentavam-se próximos da faixa de vitelogênese.

Na dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ (Figura 10 D), embora os oócitos atinjam a faixa de vitelogênese, observa-se um efeito inibidor, pois o crescimento torna-se lento em relação aos grupos anteriores.

Como a partir do sétimo dia após a alimentação, iniciou-se a ovipostura, nos grupos tratados com 0,1; 0,5 e 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ, não foram efetuadas as leituras, deste e do décimo dia, porque tornou-se difícil a indentificação dos oócitos T ou T-1. Apenas na dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ, a postura iniciou no

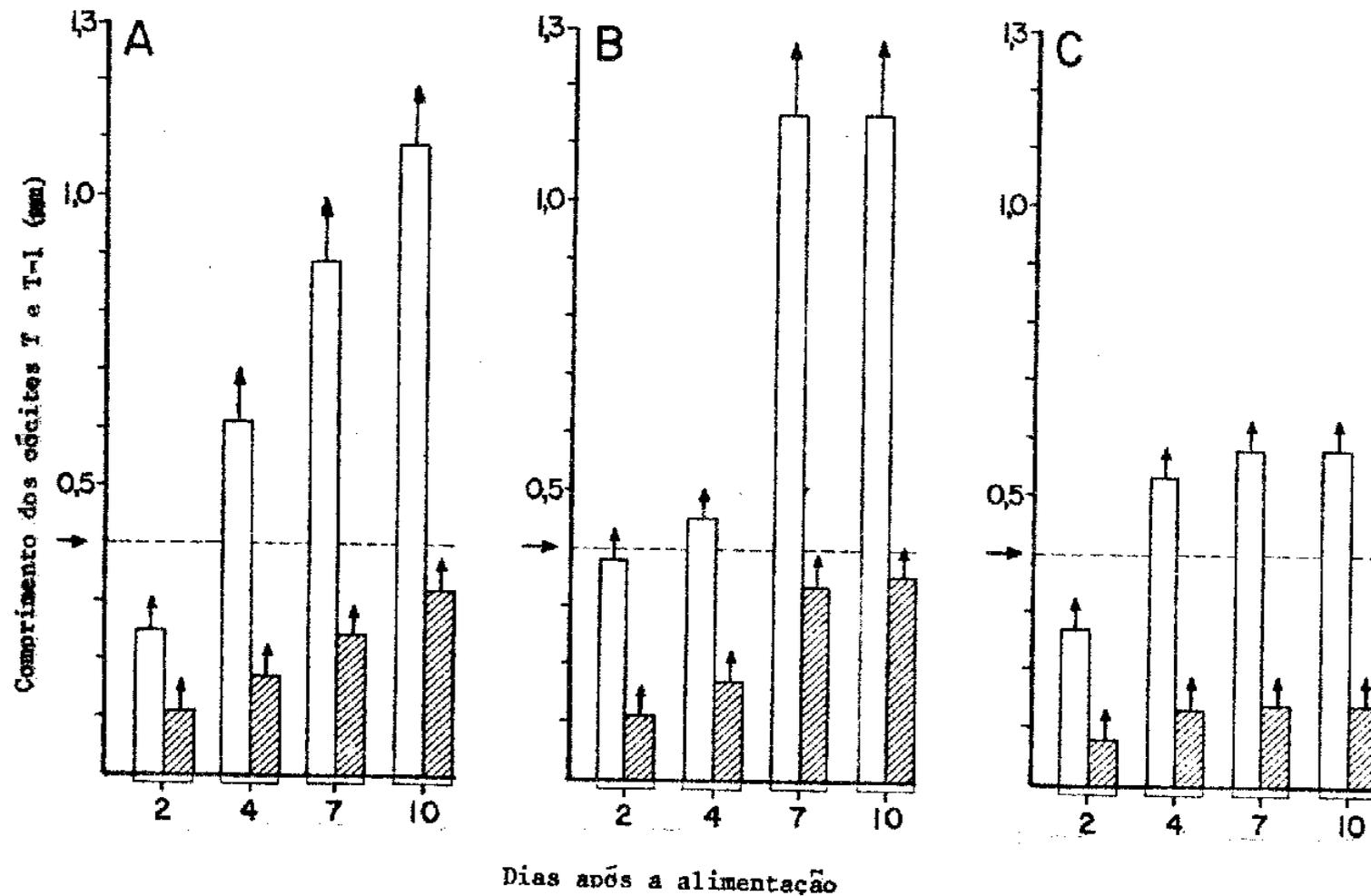


Figura 9. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas virgens de *R. prolixus*, alimentadas e tratadas com HJ.

A = 0,1 µg de HJ; B = 1,0 µg de HJ; C = 2,5 µg de HJ;  
 ↑ = Início da vitelogênese  
 □ = Oócito T  
 ▨ = Oócito T-1

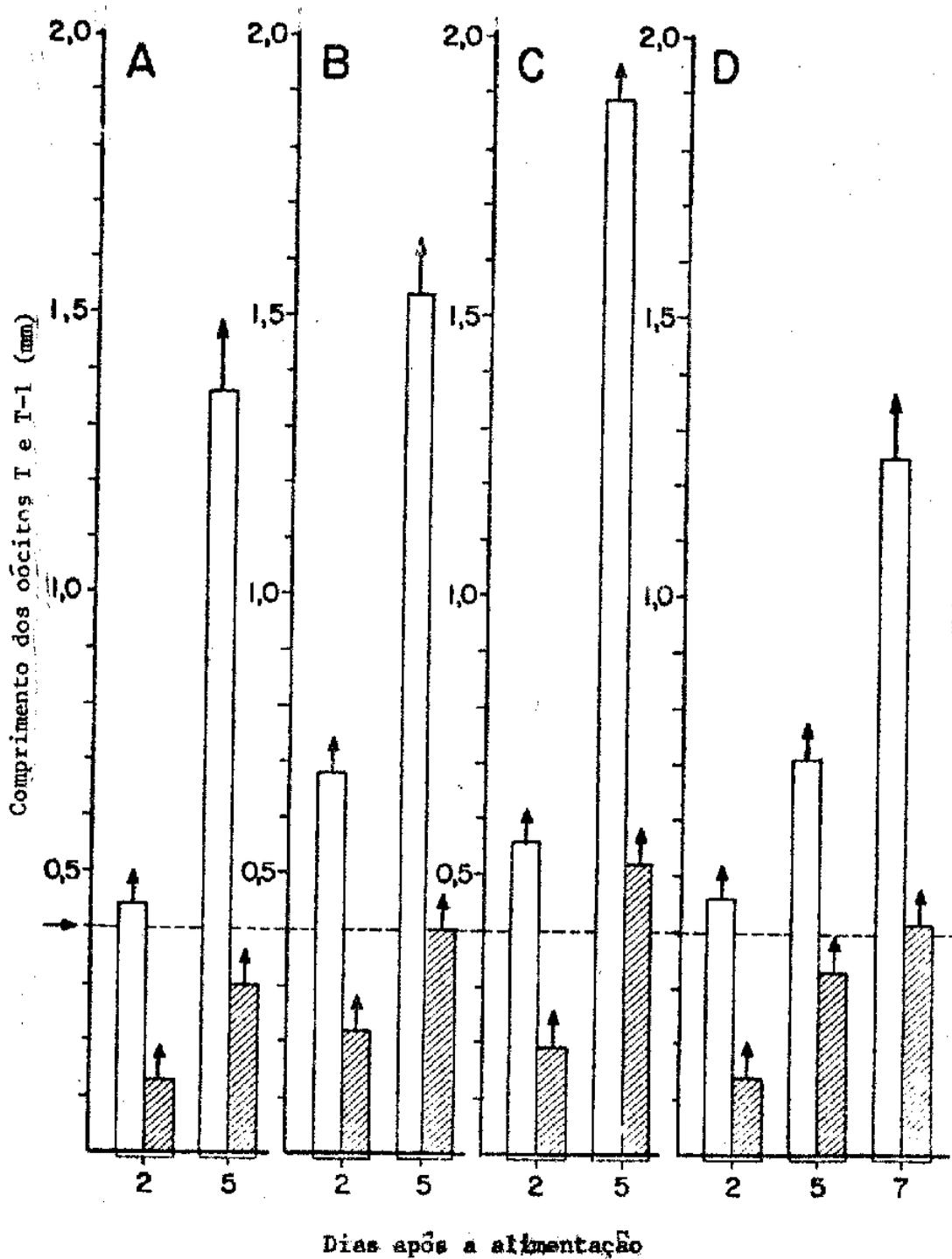


Figura 10. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas acasaladas de *R. prolixus*, alimentadas e tratadas com HJ.

A = 0,1 µg de HJ; B = 0,5 µg de HJ; C = 1,0 µg de HJ;  
D = 2,5 µg de HJ;

↑ = Início da vitelogenese  
□ = Oócitos T  
▨ = Oócitos T-1

décimo dia, pois os oócitos T demoraram para entrar em corionação (Figura 10 ABCD).

Também nas fêmeas dos Grupos 3 e 4, não observou-se degeneração oocitária ou modificação na coloração característica dos oócitos vitelogênicos. Nas fêmeas virgens (Grupo 3), encontraram-se oócitos não mensuráveis, enquanto nas fêmeas acasaladas (Grupo 4), todos os oócitos apresentavam comprimento suficiente para serem medidos.

#### 4. Efeito do Hormônio Juvenil na vitelogênese de fêmeas virgens

Quando comparou-se os resultados obtidos no sétimo dia após a alimentação, nos Grupos 1 e 2, com os resultados dos subgrupos tratados com 0,1 e 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ, do Grupo 3, verificou-se que as fêmeas acasaladas sem tratamento e as virgens tratadas, apresentavam uma percentagem de oócitos T maiores que 0,4 mm, superior à encontrada nas fêmeas virgens não tratadas (Quadro 2, Coluna A).

Observou-se, também, que dentre estes oócitos, a proporção de oócitos em corionação foi maior nos subgrupos tratados e nas fêmeas acasaladas (Quadro 2, Coluna C). Sendo a proporção de corionação, nas fêmeas tratadas com 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ, maior do que a encontrada nas fêmeas acasaladas. Assim, o HJ parece estimular e acelerar o processo de vitelogênese.

O número de oócitos maduros expressa, igualmente, a

aceleração da oogênese, pois, quando observou-se o número médio de oócitos maduros por fêmeas (Quadro 2, Coluna D), verificou-se que as fêmeas virgens tratadas apresentam um número médio, maior que o encontrado nas fêmeas virgens sem tratamento, ou próximo e maior que o das fêmeas acasaladas sem tratamento.

Na Figura 11 apresenta-se um esquema dos ovários de fêmeas virgens tratadas, com 0,1 e 1,0  $\mu\text{g}$  de HJ, e dos ovários de fêmeas virgens e acasaladas sem tratamento, permitindo uma maior visualização do desenvolvimento ovariano das fêmeas virgens, sob a ação hormonal, durante o 7º dia após a alimentação.

#### C. VERIFICAÇÃO DA AÇÃO DO HORMÔNIO JUVENIL NA PERMEABILIDADE DO EPITÉLIO FOLICULAR E DOS OVIDUTOS, A VITELOGENINA

Nas fêmeas acasaladas e alimentadas, o HJ estimula a oogênese através de sua ação nas células foliculares, onde induz o aparecimento de espaços, entre estas, permitindo a passagem da vitelogenina (PRATT & DAVEY, 1972c). Para verificar se o estímulo na vitelogênese das fêmeas virgens e alimentadas, obtido após a aplicação do HJ, era causado pelo mesmo mecanismo de ação, usou-se o teste modificado do Azul de Evans (SANTOS *et al.*, 1979).

O teste foi aplicado aos ovários e ovidutos das fêmeas dos Grupos 1 e 3, no qual verificou-se que, embora os ovidutos retenham certa quantidade de corante, esta não varia, qualquer que seja o tratamento e o desenvolvimento ovariano. O que não ocorre com os ovários, cuja retenção de corante es-

Quadro 2. Efeito do HJ na vitelogenese de fêmeas Virgens de *R. prolixus*, no sétimo dia após a alimentação

Tratamentos	(A) % de oócitos maiores que 0,4 mm*	(B) % de oócitos em vitelogenese* (de 0,4 até 1,6 mm)	(C) % de oócitos em corionação* (1,6 mm)	(D) Número médio de oócitos maduros por fêmea**
Fêmeas virgens controle	82	86	11	1,5
0,1 µg de HJ	93	71	21	3,0
1,0 µg de HJ	97	54	41	5,5
Acasaladas controle	97	67	30	4,0

\* sem significação estatística através do teste do  $\chi^2$

\*\* com significação estatística através do teste do  $\chi^2$ , a nível de 5%.

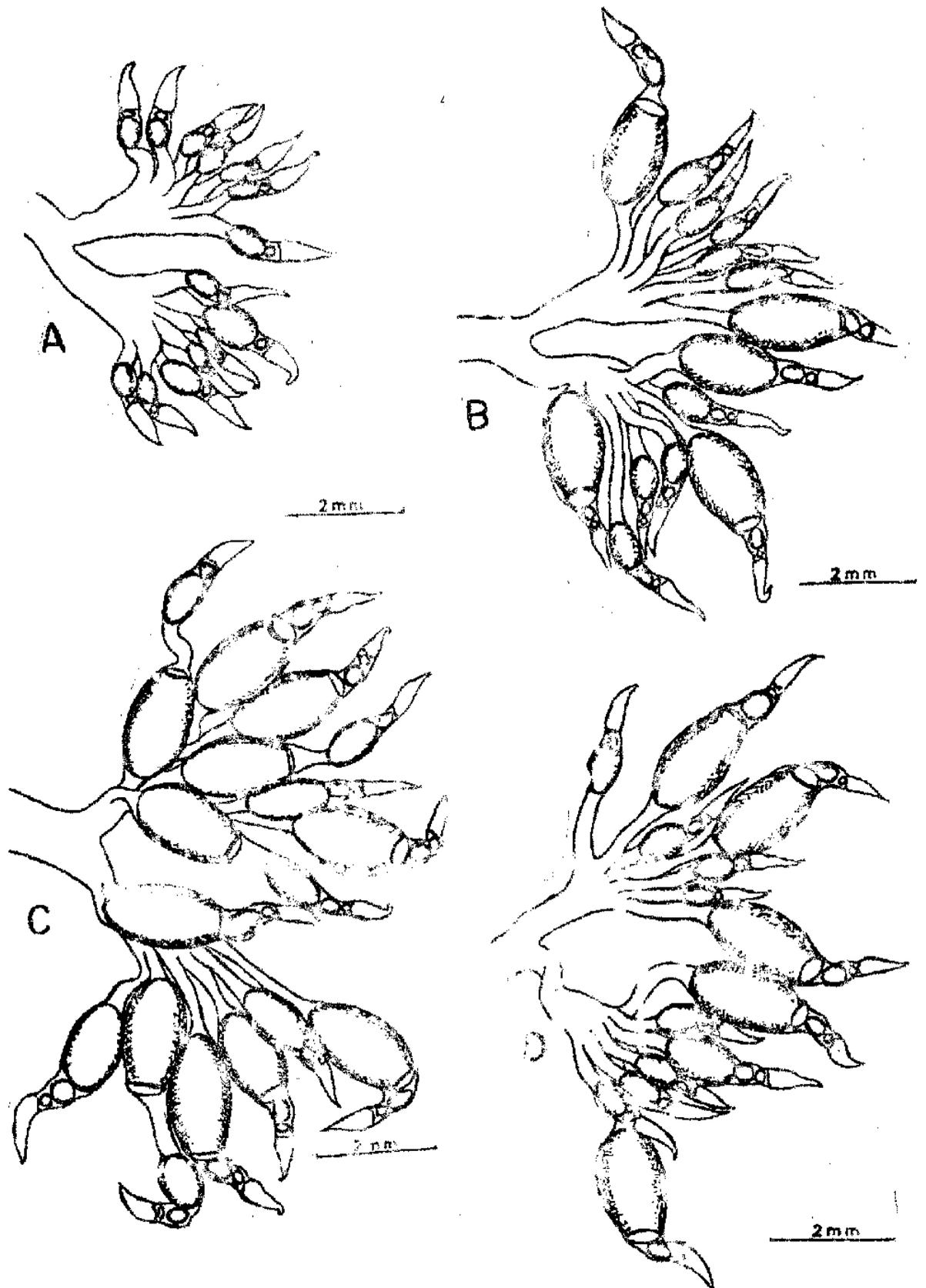


Figura 11. Ovários de fêmeas de *P. prolixus* sob diferentes tratamentos, no sétimo dia após a alimentação

- A = ovários de fêmeas virgem não tratada
- B = ovários de fêmea virgem tratada com 0,1 µg de HJp
- C = ovários de fêmea virgem tratada com 1,0 µg de HJ
- D = ovários de fêmeas acasalada não tratada

tá ligada ao seu grau de desenvolvimento.

Relacionando-se as unidades de permeabilidade (isto é, a absorbância dada pela quantidade de corante retido nos espaços entre as células foliculares), com os dias após a alimentação, observou-se que, quanto mais ativa for a vitelogênese, maior será a quantidade de corante retido, confirmando a ação hormonal a nível de células foliculares (Figura 12).

Na Figura 13, onde relaciona-se as unidades de permeabilidade, com as doses hormonais, verifica-se que a retenção de corante é diretamente proporcional à eficácia das doses aplicadas. Conseqüentemente, pode-se concluir que a ação, nas células foliculares é dependente da concentração hormonal.

#### D. EFEITOS DO HORMÔNIO JUVENIL NA OOGÊNESE DE FÊMEAS SUBMETIDAS AO JEJUM

Neste estudo procurou-se verificar o efeito do HJ em fêmeas virgens e acasaladas, cujo complexo hormonal não havia sido previamente ativado pela alimentação. Os grupos utilizados estão compreendidos no Lote B (Quadro 1).

##### 1. Crescimento oocitário das fêmeas virgens e acasaladas não tratadas com Hormônio Juvenil

A oogênese das fêmeas virgens (Grupo 5), foi observada durante trinta dias, iniciando-se imediatamente após a muda

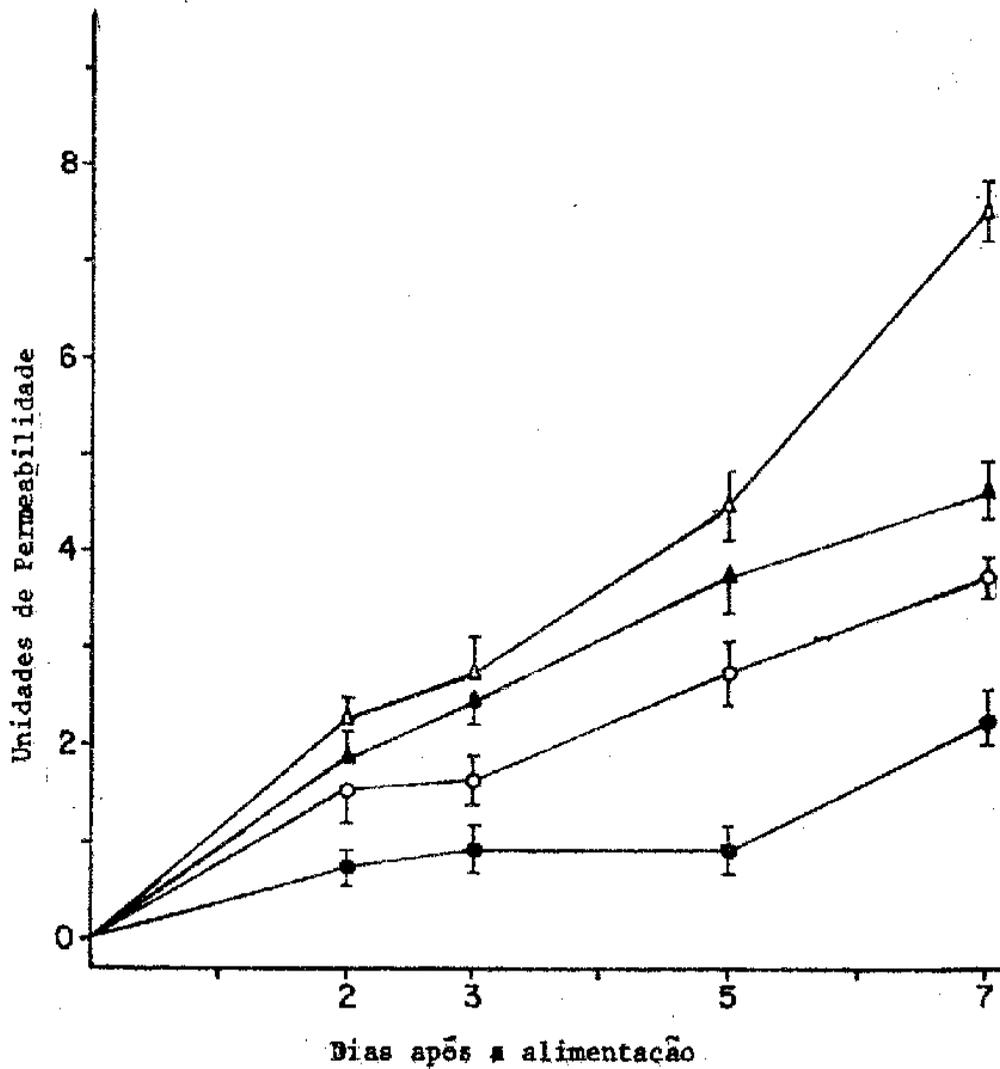


Figura 12. Quantidade de Azul de Evans (Unidades de Permeabilidade) ferida entre as células foliculares, dos ovários de fêmeas vírgens e alimentadas de *R. prolixus*, tratadas com HJ.

- Fêmeas sem tratamento
- Fêmeas tratadas com 0,1 µg de HJ
- ▲—▲ Fêmeas tratadas com 0,5 µg de HJ
- △—△ Fêmeas tratadas com 1,0 µg de HJ

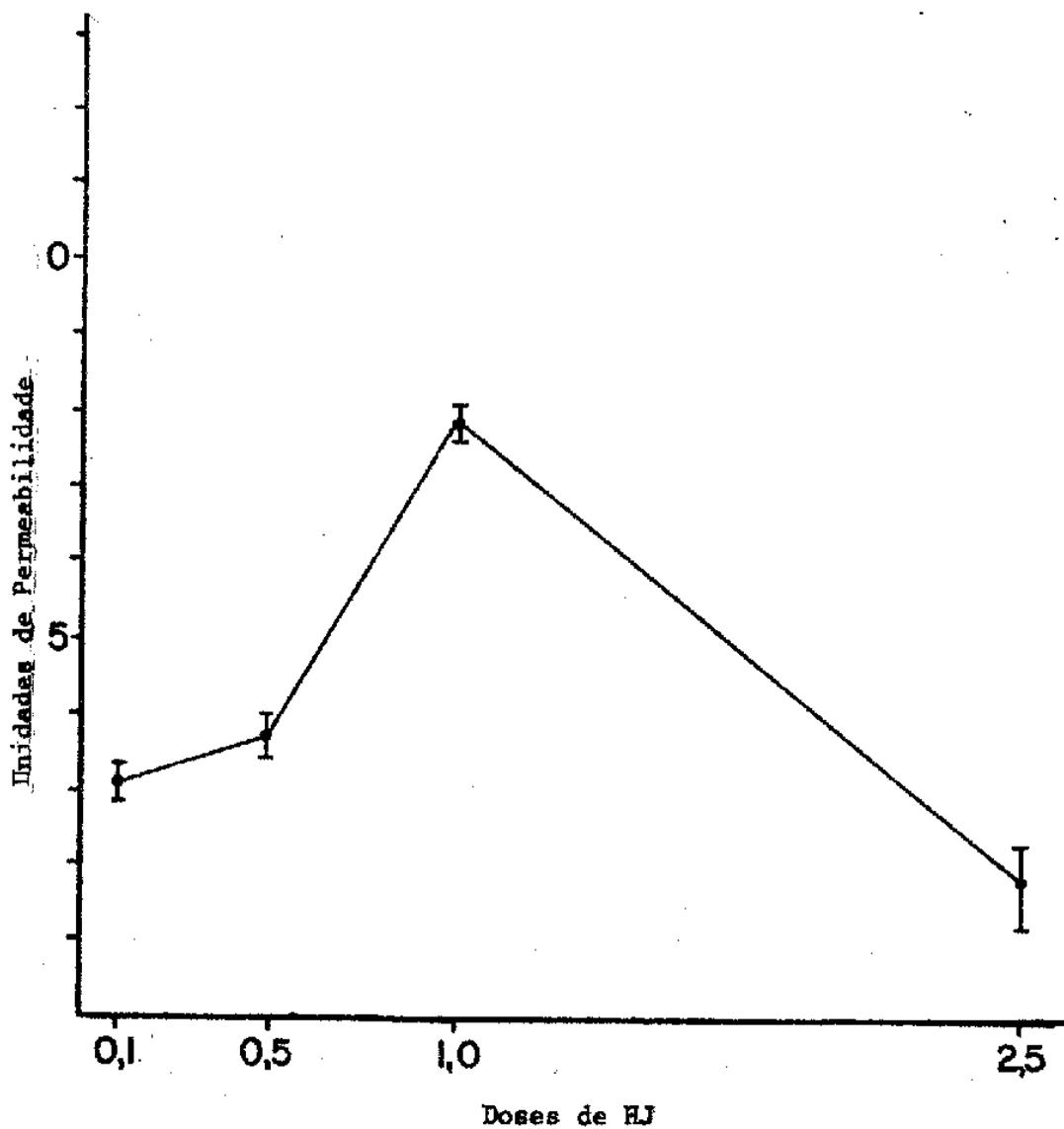


Figura 13. Quantidade de Azul de Evans (unidades de permeabilidade) retida entre as células foliculares dos ovários de fêmeas virgens e alimentadas de *R. prolixus* em relação à dose hormonal aplicada, no sétimo dia após a alimentação.

imaginal. Durante este período, verificou-se que os oócitos T, crescem atingindo a faixa de vitelogênese antes do vigésimo primeiro dia, quando então começam a degenerar, sendo totalmente reabsorvidos. Os oócitos T-1 acompanham o desenvolvimento dos oócitos T e, quando estes degeneram, aqueles permanecem crescendo até um certo tamanho, quando são reabsorvidos (Figura 14 A).

Nas fêmeas acasaladas (Grupo 6), observou-se que os oócitos sofrem o mesmo processo de crescimento e degeneração, porém o crescimento atingido pelos oócitos T é superior ao encontrado nas fêmeas virgens (Figura 14 B), parecendo haver um estímulo maior para a vitelogênese deste oócito.

Nos dois grupos (5 e 6) observou-se que, à partir do vigésimo primeiro dia, embora os oócitos cresçam, há uma tendência, de acordo com o tempo, para a redução deste crescimento. Assim, o comprimento dos oócitos T, no trigésimo dia, é menor que o encontrado no vigésimo primeiro dia.

## 2. Crescimento oocitário das fêmeas virgens e acasaladas tratadas com Hormônio Juvenil

Quando as fêmeas virgens do Grupo 7 receberam as diferentes doses hormonais (no vigésimo dia após a muda imaginal), verificou-se que em todos os grupos houve um estímulo na vitelogênese, pois a maioria dos oócitos T, durante as leituras, apresentavam um comprimento maior que 0,4 mm (Figura 15 ABCD).

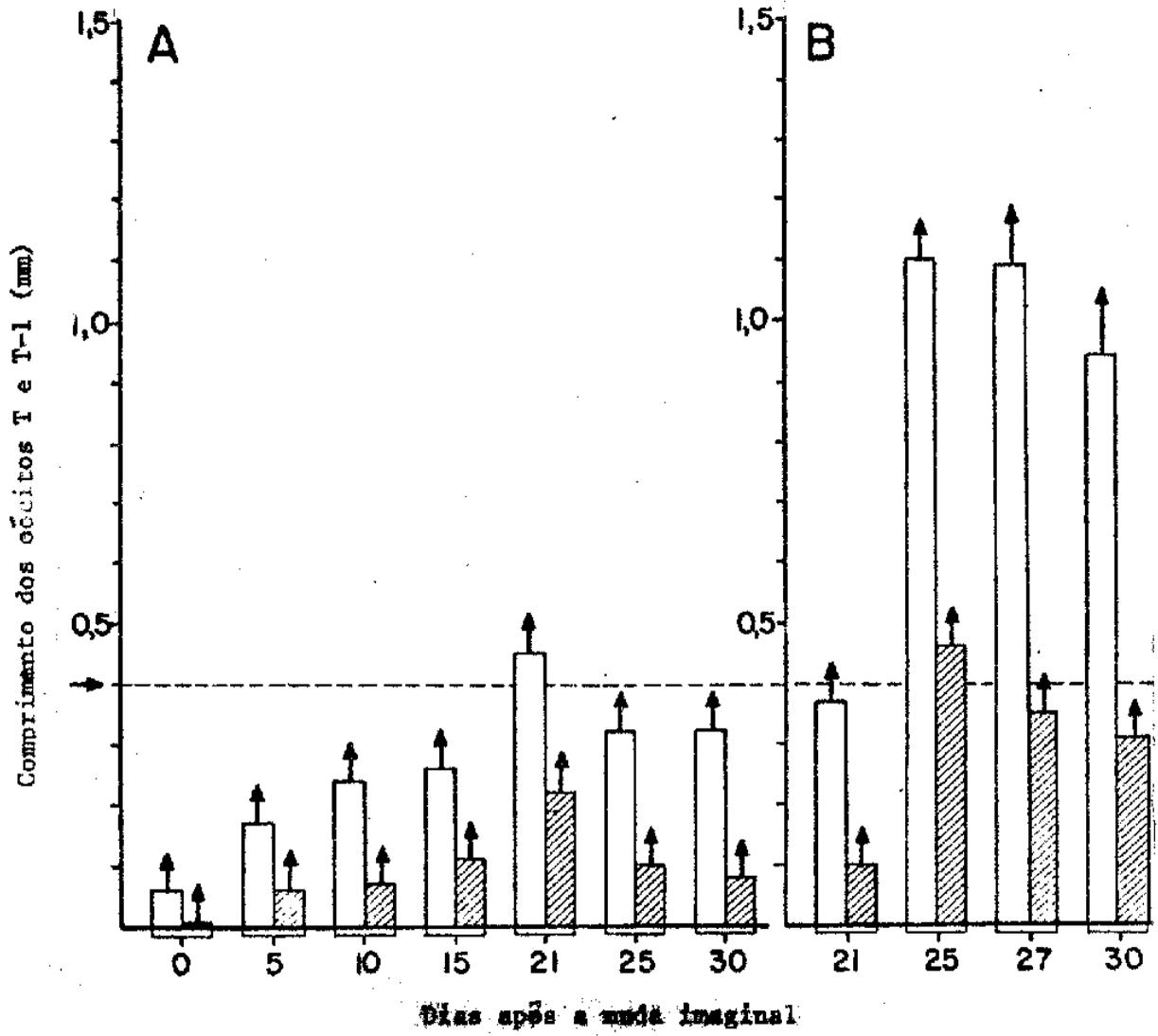


Figura 14. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas de *R. prolixus*, submetidas ao jejum.

- A = Fêmeas virgens; B = fêmeas acasaladas
- ▲ = Início da vitelogênese
- = Oócitos T
- ▨ = Oócitos T-1

O mesmo resultado foi obtido para as fêmeas acasaladas e tratadas (Figura 16 ABCD), onde o comprimento atingido pelos oócitos T foi próximo do encontrado nas fêmeas acasaladas sem tratamento (Figura 14 B).

A degeneração dos oócitos T, à partir de um certo tamanho, e a tendência para a redução do seu crescimento, também foram observadas nestes grupos. A dose de 2,5  $\mu\text{g}$  de HJ, que até então apresentava efeito inibidor, nestes grupos, (Figuras 15 D e 16 D), apresentou efeito estimulante da vitelogênese.

Durante as observações, verificou-se que, embora os oócitos T atinjam a faixa de vitelogênese, não há deposição de córion e o vitelo destes oócitos apresentam-se com uma coloração esmaecida, que não é a característica.

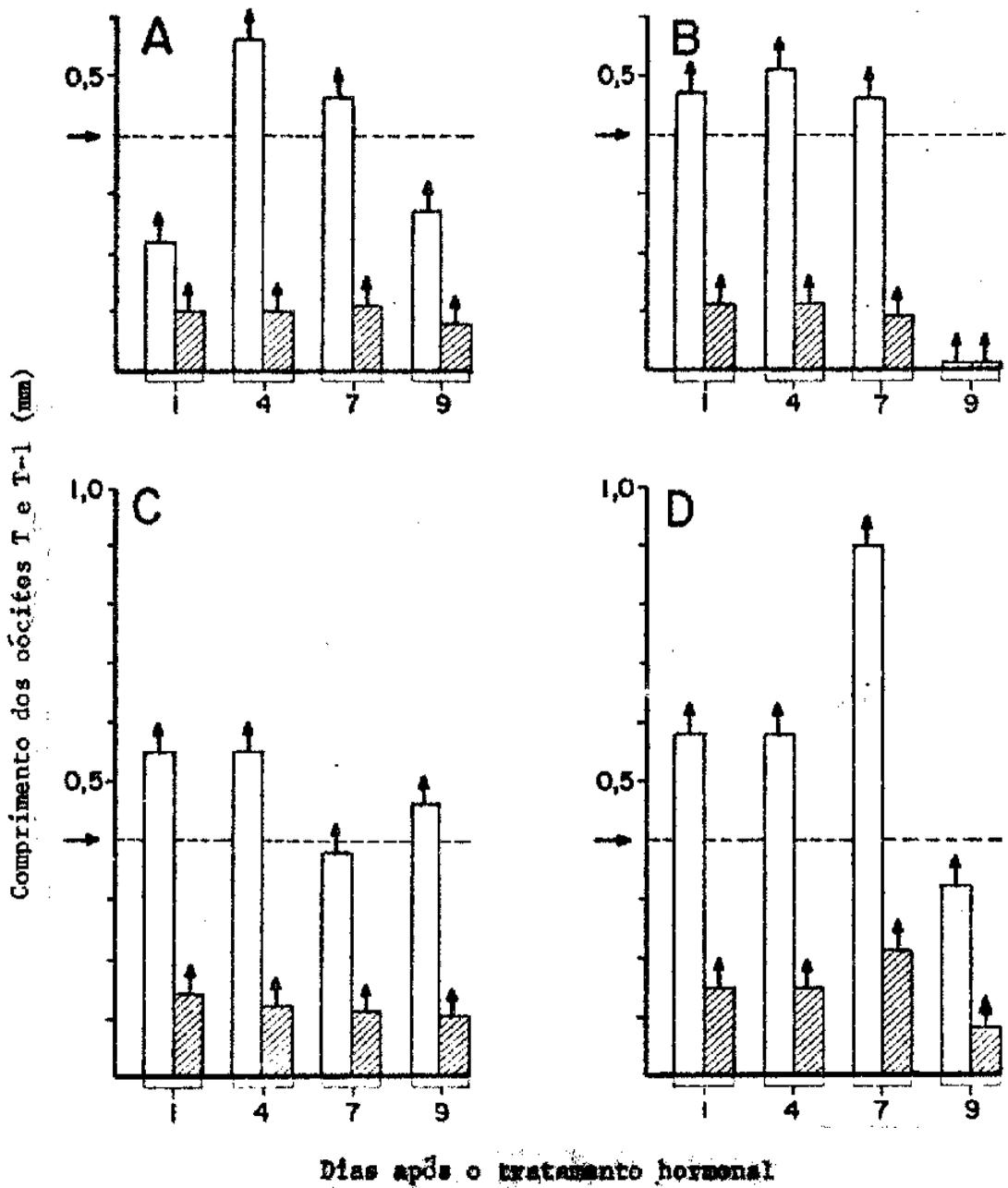


Figura 15. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas virgens de *R. prolixus*, submetidas ao jejum e tratadas com HJ.

A = 0,1 µg de HJ; B = 0,5 µg de HJ; C = 1,0 µg de HJ;

↑ = Início da vitelogênese;

▨ = Oócitos T

■ = Oócitos T-1

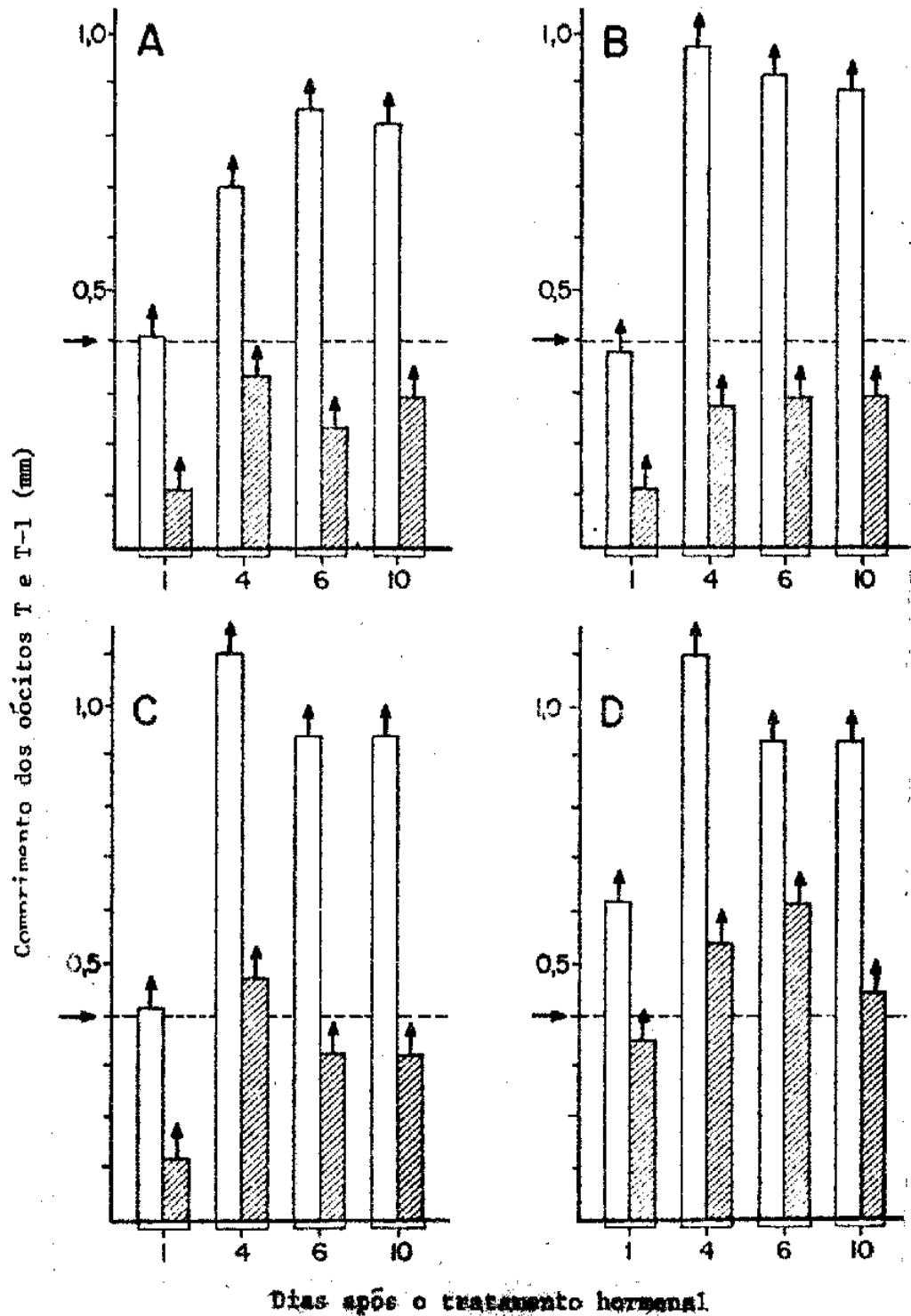


Figura 16. Comprimento dos oócitos T e T-1 de fêmeas acasaladas de *R. prolixus*, submetidas ao jejum e tratadas com HJ.

A = 0,1 µg de HJ; B = 0,5 µg de HJ; C = 1,0 µg de HJ;  
 D = 2,5 µg de HJ;  
 ↑ Início da vitelogênese;  
 □ Oócitos T  
 ▨ Oócitos T-1

## V. DISCUSSÃO

### A. EFEITO DO HORMÔNIO JUVENIL NA OVIPOSTURA DE FÊMEAS ALIMENTADAS

NO presente trabalho, foi verificado que as fêmeas virgens sofreram um atraso no início da postura e colocaram um número de ovos inferior ao das acasaladas. Quando aquelas fêmeas foram tratadas com HJ, o número de ovos postos foi semelhante ao das acasaladas, embora o atraso inicial continuasse ocorrendo. De modo idêntico, o número de ovos postos aumentou nas fêmeas acasaladas, que receberam tratamento hormonal.

Ao que parece, o HJ provoca um aumento na ovipostura das fêmeas virgens, semelhante ao causado pela cópula. Quando estes dois fatores ocorrem juntos na mesma fêmea, observa-se um efeito somatório, sendo o número de ovos postos, praticamente o dobro do encontrado em fêmeas acasaladas controle ou fêmeas virgens tratadas. Baseados nestes dados, pode-se concluir que a cópula, de algum modo, afeta o mecanismo fisio-

lógico do inseto, provavelmente estimulando a ação do HJ.

A verificação de que as fêmeas virgens, além de produzirem e ovipositarem menos ovos, tendem a retê-los no trato genital, já havia sido descrita por outros autores (COLES, 1965; DAVEY, 1965, 1967). Observando-se também, que o implante de espermatecas contendo espermatozóides em fêmeas virgens, tornava-as semelhantes às fêmeas acasaladas (DAVEY, 1965).

O mecanismo pelo qual a cópula influencia a oogênese e a postura em *R. prolixus* não está de todo estabelecido, pois, embora as taxas de vitelogenina hemolinfática sejam iguais, sugerindo que os CA estão ativos, a produção de ovos e a postura ocorrem diferentemente em fêmeas virgens e acasaladas (COLES, 1965). Alguns autores acham que a cópula, apenas influencia o mecanismo da ovipostura (DAVEY, 1965; HUEBNER & DAVEY, 1973; PRATT & DAVEY, 1972,c), enquanto outros admitem que a cópula, estimula a ação do HJ (UBATUBA *et al.*, 1969).

Segundo PRATI & DAVEY (1972c), a cópula induz a produção de um fator miotrópico, pelas CNSc, que estimula a postura. Como em fêmeas virgens não há fator miotrópico, estas tendem a reter seus ovos. A presença de ovos maduros nos pedicelos ovarianos, promove a secreção de uma antigonadotropina, que inibe a ação do HJ, cessando ou atrasando a produção de ovos à partir da segunda metade do ciclo ovariano.

Nestes experimentos, só foram utilizadas fêmeas cujos ovários apresentavam-se sem ovos maduros e, portanto, a produção de antigonadotropina não estava ocorrendo. Assim, o

atraso observado na ovipostura, não pode ser atribuído a uma ação antigonadotrópica. Além disto, o ciclo ovariano das fêmeas virgens tratadas, apresentou-se sem retenção de ovos no trato genital e o número de ovos postos foi idêntico aos das acasaladas.

Como nas fêmeas virgens sem tratamento hormonal, observou-se atraso e ovipostura baixa, conclui-se que a cópula, não se acelera e estimula a postura, mas também influencia os aspectos fisiológicos que dependem do HJ, pois a inibição que ocorre em fêmeas virgens, está ligada à não eficácia do HJ, em uma determinada etapa do ciclo ovariano, que antecede à secreção da antigonadotropina.

A postura das fêmeas tratadas varia diretamente com a dose hormonal usada, e à partir de certa dose ocorre inibição, embora o efeito da cópula não seja mascarado. Esta inibição deve ser atribuída, tanto à concentração hormonal, como aos efeitos farmacológicos ou colaterais provocados pelo análogo de HJ usado.

#### B. EFEITO DO HORMÔNIO JUVENIL NA OOGÊNESE DE FÊMEAS ALIMENTADAS

Para comparar-se a postura de fêmeas virgens e acasaladas, torna-se necessário observar como ocorre a produção de ovos nestas fêmeas, já que um fator depende do outro.

O crescimento oocitário das fêmeas virgens e acasala-

das, tratadas ou não com HJ, apresenta-se coordenado, de modo que em um mesmo ovariolo, só é encontrado um oócito em fase de vitelogenese. Embora cada grupo, de acordo com o seu tratamento, apresente particularidades durante o desenvolvimento oocitário.

Nas fêmeas virgens, os oócitos demoram a entrar em vitelogenese, e esta se faz lentamente. Quando as fêmeas virgens são tratadas com HJ, a oogênese processa-se de modo idêntico ao das acasaladas. E quando estas recebem tratamento, as etapas do crescimento oocitário tornam-se aceleradas, sendo frequente o encontro de ovariolos, onde os oócitos T estão em fase final de corionação, e os oócitos T1 em vitelogenese.

PRATT & DAVEY (1972a), trabalhando com fêmeas de *R. prolixus*, acasaladas normais ou sem CA, observaram que a oogênese das primeiras ocorria de modo sincrônico e contínuo, enquanto das segundas, os oócitos acumulavam-se na faixa de 0,4 mm, indicando que o HJ ativava estes oócitos, permitindo-lhes entrar em vitelogenese. Comparando os dados citados no presente trabalho com os obtidos por estes autores, verifica-se que a oogênese das fêmeas virgens assemelha-se à das acasaladas sem CA, e das fêmeas virgens tratadas com a de fêmeas acasaladas normais.

Como nas fêmeas acasaladas o HJ regula a produção de ovos por ação no epitélio folicular, onde induz o aparecimento de espaços entre as células foliculares (PATCHIN & DAVEY, 1968; PRATT & DAVEY, 1972a,c) o acúmulo de oócitos na faixa

de ativação, observado nas fêmeas virgens, pode ser explicado pela inibição do HJ, que leva à ausência de espaços entre as células foliculares.

A sincronia ovariana ocorre em outros insetos, encontrando-se em *Cyclorrhapha* a presença de um Hormônio oostático que regula o crescimento dos oócitos mais jovens (ADAMS *et al.*, 1968; FRAENKEL & HOLLOWEL, 1979). Em *R. prolixus*, o controle da sincronia ovariana não está claro. Parecendo que nas fêmeas acasaladas, o desenvolvimento oocitário é controlado por um sistema de "feed-back", entre a ecdisona, secretada pelos ovários ou outro tecido, e o Hormônio Juvenil (GARCIA *et al.*, 1979). Nas fêmeas virgens, o controle dos oócitos estaria a cargo da antigonadotropina, também de secreção ovariana (HUEBNER & DAVEY, 1973).

Com relação ao "feed-back" proposto para fêmeas acasaladas, nota-se que este também explicaria a oogênese das fêmeas virgens. Porém, nesta espécie, a ecdisona ainda não foi descrita na fase adulta, e a inibição encontrada foi obtida através da administração de ecdisona exógena. Em outras espécies de insetos, a ecdisona é a responsável pela indução da síntese de vitelogenina (HAGEDORN & KUNKEL, 1979). Fato semelhante pode ter ocorrido em *R. prolixus*, onde o acúmulo de vitelogenina na hemolinfa freitaria os CA, e conseqüentemente inibiria a oogênese.

Quanto à antigonadotropina, questiona-se como seria o controle do crescimento oocitário nas fêmeas acasaladas, on-

de esta não ocorre, e por que dois terços dos oócitos das fêmeas virgens escapam a este controle?

Em *R. prolixus*, a inibição do crescimento oocitário, causada pela presença de ovários contendo ovos maduros, só é conseguida quando aqueles provêm de fêmeas virgens (DAVEY & HUEBNER, 1974; HUEBNER & DAVEY, 1973), em *Triatoma infestans*, espécie afim de *R. prolixus*, a retenção de ovos nos pedicelos ovarianos de fêmeas acasaladas, não causa inibição no desenvolvimento dos outros oócitos (REGIS, 1977b). Estes dados sugerem que a antigonadotropina só seria secretada em fêmeas virgens, porém como observado neste trabalho, a inibição do crescimento oocitário destas fêmeas é anterior à secreção de antigonadotropina e pode ser compensada pela aplicação de HJ.

PRATT & DAVEY (1972c) demonstraram que a previtelogênese das fêmeas virgens ocorre em tempo igual ou menor que o observado em fêmeas acasaladas, e que a vitelogênese daquelas fêmeas torna-se lenta devido à presença de antigonadotropina. Os resultados obtidos neste trabalho são, em parte, discordantes dos anteriores, pois, embora a vitelogênese apresente - se lenta, a previtelogênese ocorre em tempo igual ou maior, havendo uma percentagem menor de oócitos na faixa de ativação. Quando administra-se HJ às fêmeas virgens, observa-se que a percentagem de oócitos em ativação aumenta e a vitelogênese acelera-se, igualando a oogênese destas fêmeas à das acasaladas. Mais uma vez tem-se a indicação de que a cópula está envolvida, direta ou indiretamente com a síntese, a liberação ou a ação do HJ.

Sabe-se que fêmeas originadas de ninfas mal nutridas, não apresentam capacidade autógena, devido à inibição do funcionamento dos CA, que não secretam ou secretam HJ em níveis não efetivos (PATTERSON, 1979). Como nestes experimentos não se usou fêmeas autógenas, pode-se dizer que nas fêmeas virgens a inibição do desenvolvimento oocitário provavelmente deve-se à falta de HJ, pois o restabelecimento da oogênese normal das fêmeas virgens após a aplicação do HJ, suporta nossa afirmação.

PRATT & DAVEY (1972c), tratando fêmeas virgens com Farnesil metil ester (FME), um análogo de HJ, não obtiveram efeitos compensatórios na produção e postura de ovos. Segundo ABU-HAKIMA & DAVEY (1975), durante a oogênese de fêmeas normais, o HJ seria necessário durante a diferenciação inicial e a vitelogenese. Sendo necessário o primeiro contato, para que os oócitos respondessem ao segundo. Em *Panstrongylus megistus*, o HJ é indispensável para o início da fase de previtelogenese (FURTADO, 1979b).

Como foi verificado, aqueles autores administraram o FME no quarto e oitavo dias após a alimentação, enquanto nos experimentos aqui citados o tratamento foi efetuado vinte e quatro horas após a alimentação. Se, como já citado, o HJ é necessário durante duas etapas do desenvolvimento oocitário, esta administração tardia do aHJ, não mais compensaria a ausência hormonal que ocorreu durante a etapa inicial da oogênese.

### C. AÇÃO DO HJ NA PERMEABILIDADE DO EPITÉLIO FOLICULAR

Observa-se que o HJ induz o aparecimento de espaços entre as células foliculares dos oócitos, permitindo a deposição de vitelogenina. Estes espaços surgem por redução do volume celular, que sob a ação do HJ expulsam parte do líquido interno (ABU-HAKIMA & DAVEY, 1976; PATCHIN & DAVEY, 1968). Baseados nestes dados, DAVEY & HOEBNER (1974) propõem um método para a aferição da ação hormonal. Neste método, os ovários são incubados em meio contendo HJ, e posteriormente colocados em Azul de Evans. Após a difusão do corante entre as células foliculares, o epitélio é observado recebendo graus de zero a cinco, de acordo com o tamanho dos espaços, agora evidenciados. Embora este método seja rápido, a ação do HJ é observada em ovários afastados do complexo fisiológico normal, e os valores são atribuídos à partir de uma análise individual. No presente trabalho, confirma-se a modificação deste método proposta por SANTOS et al, 1979 que elimina estas duas variáveis.

Assim, no sétimo dia após a alimentação, quando o efeito hormonal é mais nítido, os ovários foram retirados das fêmeas virgens, corados, homogeneizados e lidos em espectrofotômetro. Verificou-se então que a absorbância obtida variou diretamente com a dose hormonal, e que a dose considerada mais eficaz, coincidiu com a dose que havia igualado a postura das fêmeas virgens com a das acasaladas.

Utilizando esta modificação da técnica do Azul de

Evans, observou-se que, as fêmeas virgens apresentavam espaços intercelulares pequenos. Quando estas fêmeas recebiam diferentes doses de HJ, os espaços aumentavam proporcionalmente às doses indicando que o aHJ usado apresentava uma ação semelhante à do HJ endógeno.

D. EFEITO DO HJ NA OOGÊNESE  
DE FÊMEAS SUBMETIDAS AO  
JEJUM

Observa-se que a maioria dos insetos depende da alimentação para a maturação de ovos, e que em insetos submetidos ao jejum, onde a concentração de proteínas hemolinfática é baixa, não há ativação das células dos CA (ENGELMAN, 1968).

Segundo MUNDALL & ELGELMAN (1977), em *T. protata*, há dois tipos de controle dos CA, um exercido pelas CNSC, ativadas por via nervosa, após a alimentação e semelhante ao proposto para ninfas de *R. prolixus* (STEEL, 1975). O outro seria direto e exercido pela concentração de proteínas hemolinfáticas. Este ocorre em outras espécies de hemíptera ou mesmo em fêmeas virgens de *R. prolixus* (PRATT & DAVEY, 1972c; SRIVASTAVA & TIWARI, 1978).

Assim, verifica-se que a alimentação, por si só, causa um estímulo nos CA. Para evidenciar os efeitos obtidos em fêmeas alimentadas, torna-se necessário o estudo da oogênese de fêmeas em jejum submetidas aos mesmos tratamentos.

Para isto, estudou-se o desenvolvimento oocitário das fêmeas virgens, durante 30 dias, iniciando-se o período de observações, à partir de zero hora após a ecdise. Verifica-se

que neste tempo a maioria dos ovaríolos já apresentavam folículos ovarianos formados, sugerindo que em *R. proxilus* do mesmo modo que em *P. megistus* (FURTADO, 1979b), a fase de diferenciação folicular, inicia-se durante o 5º estágio.

Na oogênese das fêmeas virgens em jejum, os oócitos evoluem até a faixa de ativação, quando param de crescer, degeneram e são reabsorvidos. O mesmo ocorre nas fêmeas acasaladas, porém os oócitos crescem até a metade da fase de vitelogênese antes de serem absorvidos. Dados semelhantes já haviam sido descritos para *R. prolixus* onde foram associados com a ausência de HJ, devido ao não funcionamento dos CA (WIGGLESWORTH, 1936; PRATT & DAVEY, 1972b).

Portanto, pelos resultados obtidos, conclui-se que sob condições de jejum, os CA das fêmeas virgens estão inibidos e os oócitos estacionam na faixa de vitelogênese, enquanto nas acasaladas, a inibição é parcial e os oócitos atingem a vitelogênese. Sugerindo que mesmo durante o jejum, a cópula é capaz de estimular o mecanismo fisiológico relacionado com o HJ.

Nas fêmeas virgens que receberam HJ, o oócitos também crescem até a vitelogênese, antes de degenerarem, embora o comprimento médio atingido seja inferior ao encontrado em fêmeas acasaladas. Nestas, o crescimento oocitário foi igual em todos os grupos e a presença da cópula ou de cópula mais HJ, não determinou efeito somatório.

Nota-se, neste trabalho, que a resposta aos diferentes tratamentos, torna-se igual ou próxima, parecendo que há um limite de ativação nos insetos submetidos ao jejum. Um dos fatores para este limite, seria a depleção cada vez maior das substâncias de reserva, que pode ser observada pela redução de tamanho atingido pelos oócitos, de acordo com o tempo e a coloração esmaecida dos oócitos vitelogênicos.

Analisando os resultados obtidos com fêmeas: alimentadas, nota-se que a fêmea virgem e capaz de produzir ovos, sugerindo que a alimentação, além de fornecer substrato para a formação de metabolitos, deve ser a principal ativadora do sistema endócrino, enquanto a cópula teria um poder de ativação complementar.

Em resumo pode-se dizer que na fêmea normal a cópula e a alimentação determinam um estímulo máximo nos CA, permitindo o crescimento oocitário contínuo. Caso não haja cópula, os CA são ativados parcialmente, e a produção de ovos diminui. Durante o jejum e em ausência de acasalamento, não haveria a estimulação dos CA, determinando a inibição da vitelogenese.

A dose de 2,5  $\mu\text{g}$  que inibiu a oogênese das fêmeas alimentadas, apresentou efeitos estimulantes nos grupos em jejum. É possível, que a falta de ativação do sistema endócrino, causada pela ausência de alimentação, tenha permitido que esta dose funcionasse dentro da faixa fisiológica ou, que os efeitos colaterais ou farmacológicos, não tenham ocorrido, devido ao aspecto fisiológico da fêmea em jejum.

Associando os dados da literatura aos resultados, encontrados neste trabalho, pode-se traçar, sob o ponto de vista especulativo, um esquema hormonal responsável pelo crescimento oocitário.

Assim, durante a fase adulta a alimentação e a cópula promoveriam uma ativação total dos CA, de modo que o HJ ocorresse em nível hemolinfático máximo, estimulando a síntese de vitelogenina e ativando os oócitos em fase de diferenciação e de vitelogênese. A presença de ovos desenvolvidos levaria os ovários a secretarem ecdisona, que por sua vez inibiria os CA e freitaria os processos de oogênese. Por outro lado a inibição poderia ser indireta, através do estímulo da síntese de vitelogenina, e o acúmulo desta proteína na hemolinfa, determinaria não só a inibição dos CA, mas também a parada da digestão e conseqüente desaceleração das CNSc.

Nas fêmeas virgens, os CA seriam ativados parcialmente e o HJ ocorreria em níveis mais baixos, determinando a síntese de vitelogenina e pouca ativação dos oócitos. Os oócitos diferenciados durante o quinto estágio, teriam condições de desenvolver-se rapidamente, enquanto nos demais a vitelogênese se processaria lentamente, causando um acúmulo de vitelogenina na hemolinfa. Este acúmulo associado à secreção de ecdisona pelos ovários, determinaria as inibições já citadas.

## VI. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos do presente trabalho permitem tirar as seguintes conclusões:

1) o aHJ induz um aumento no número de ovos postos, tornando a postura das fêmeas virgens idêntica à das acasaladas;

2) a cópula acelera e estimula a postura, provavelmente influenciando o mecanismo fisiológico relacionado com o HJ, permitindo a produção de um número maior de ovos;

3) a presença ou ausência de acasalamento e tratamento hormonal, não altera a sincronia ovariana, verificando-se que estes aceleram o crescimento oocitário, particularmente durante a previtelogênese e vitelogênese;

4) o crescimento oocitário das fêmeas virgens é mais lento do que o das fêmeas acasaladas. Esta lentidão é compensada pela administração de HJ que restabelece o crescimento normal;

5) a inibição da oogênese das fêmeas virgens provavelmente está ligada a não eficácia do HJ, e é anterior à secreção da antigonadotropina;

6) o HJ age a nível de células foliculares, onde induz o aparecimento de espaços entre estas, permitindo a deposição de vitelogenina e acelerando a vitelogênese;

7) sob condições de jejum, há inibição dos CA, determinando o acúmulo de oócitos na faixa de ativação. A cópula ou a administração de HJ estimulam os CA, permitindo aos oócitos atingirem a vitelogênese antes de degenerarem.

8) a degeneração oocitária provavelmente não está ligada apenas aos níveis baixos de HJ, mas também, à depleção cada vez maior das substâncias de reserva, resultando na diminuição do comprimento atingido pelos oócitos e coloração esmaecida dos oócitos vitelogênicos.

## VII. RESUMO

No presente trabalho estudou-se a oogênese de *R. prolixus* onde observaram-se os efeitos produzidos pela presença ou ausência de alimentação, cópula e administração de HJ, e deu-se enfoque especial ao desenvolvimento oocitário das fêmeas virgens.

Observou-se que a alimentação é necessária como o principal estímulo para a ativação do CA e que a cópula potencializa esta ativação. Com a administração do HJ às fêmeas virgens, obteve-se resultados semelhantes aos encontrados em fêmeas acasaladas sem tratamento hormonal, verificando-se que a cópula estimula direta ou indiretamente a ação do HJ, e que a inibição da oogênese das fêmeas virgens, ocorre em uma etapa anterior à secreção da antigonadotropina.

O estímulo causado na permeabilidade folicular das fêmeas tratadas, indica que o análogo de HJ utilizado mimetiza a ação do hormônio endógeno, o que pode ser aferido através do teste modificado do Azul de Evans.

## VIII. ABSTRACT

In this work we studied the oogenesis in *R. prolixus*, observing the effects of feeding, mating and juvenile hormone. Special attention was given to observe oocyte development in virgin females.

Feeding is the main stimulus for CA activation, and mating potentiates this stimulus.

Application of a JH analogue on virgin females mimics the results of mating on females without hormonal treatment; it is concluded that mating direct or indirectly stimulates the JH production. The inhibition of oogenesis in virgin females is in a step anterior to the secretion of antigonadotrophin.

Permeability of the ovarian follicular cells measured by the Evan's Blue test shows that the JH analogue mimics the endogenous hormone effect.

## IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU-HAKIMA, R. & DAVEY, K.G., 1975. Two actions of juvenile hormone on the follicle cells of *Rhodnius prolixus*, Stal. Can. J. Zool., 55:1187-1188.
- ABU-HAKIMA, R. & DAVEY, K.G., 1976. The action of juvenile hormone on the follicle cells of *Rhodnius prolixus*: The importance of volume changes. *J. Insect, Physiol.*, 22:33-34.
- ADAMS, T.S.; HINTZ, A.M. & POMOVIS, J.G., 1968. Oostatic hormone production in houseflies *Musca domestica*, with developing ovaries. *J. Insect Physiol.*, 14:983-993.
- BAEHR, J.C., 1973. Controle neuroendocrine du fonctionnement du *corpus allatum* chez *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 19:1041-1056.

- BAEHR, J.C.; CASSIER, P. & FAIN-MAUREL, M.A., 1973. Contribution a l'étude des variations naturelles et expérimentales de la protéinémie chez les femelles de *Rhodnius prolixus* (Stal). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 22:146-153.
- BAEHR, J.C.; PORCHERON, P. & DRAY, F., 1978. Dosages radio-immunologiques des hormones juvéniles au cours des deux derniers stades larvaires de *Rhodnius prolixus*. *C. R.S. Acad. Sci. Paris*, 287:523-526.
- BELL, W.J. & BARTH, R.H., 1970. Quantitative effects of juvenile hormone en reproduction in the cockroach *Byrsotria fumigata*. *J. Insect Physiol.*, 16:2303-2313.
- BUTTENANDT, A. & KARLSON, P., 1954. Über die Isolierung eines metamorphose hormones der insekten in kristallisierter form. *Z. Naturf.*, 96:389-391.
- COLES, G.C., 1964. Some effects of decaptation on metabolism in *Rhodnius prolixus* Stal. *Nature, Lond.*, 18:323.
- COLES, G.C., 1965. Studies on the hormonal control of metabolism in *Rhodnius prolixus*, Stal. I - The adult female. *J. Insect Physiol.*, 11;:1325-1330.
- DAVEY, K.G., 1965. Copulation and egg-production in *Rhodnius prolixus*. The role of the spermathecae. *J. Exp. Biol.*, 42: 373-8.

- DAVEY, K.G., 1967. Some consequences of copulation in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 13:1629-1636.
- DAVEY, K.G. & HUEBNER, E., 1974. The response of the follicle cells of *Rhodnius prolixus* to juvenile hormone and antigonadotropin in vitro. *Can. J. Zool.*, 52:1407-1412.
- DIAS, J.C.P. & DIAS, R.B., 1978. Aspectos sociais da Doença de Chagas. Resumos da V Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em Doença de Chagas, 16-26p.
- DOGRA, G.S., 1973. Neurosecretion in *Rhodnius prolixus* and the problem of endocrine control of reproduction. *An. Entomol. Soc. Am.*, 66(5):1011-1021.
- ENGELMANN, F., 1957. Die Störung der Ovarfunktion bei der ovoviviparen Schabe *Leucophaea maderae* Fabr. *J. Insect Physiol.*, 1:257-278.
- ENGELMANN, F., 1968. Endocrine control of reproduction in insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 13:1-26.
- ESPINOLA, H.N., 1966, Nota sobre diferenças sexuais em formas imaturas de Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 26(3):263-267.
- FRAENKEL, G. & HOLLOWELL, M., 1979. Actions of the juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone, and oostatic hormone during oogenesis in the flies *Phormia regina* and *Sarcophaga bullata*. *J. Insect Physiol.*, 25:305-310.

- FRIEND, W.G.; CHOY, C.T.H. & CARTWRIGHT, E., 1965. The effect of nutrients intake on the development and the egg production of *Rhodnius prolixus* Can. J. Zool., 43:891-904.
- FUKUDA, S., 1940. Induction of pupation in silkworm by transplanting the prothoracic gland. *Proc. Imp. Acad. Japan*, 16: 417-420.
- FURTADO, A., 1976. Étude histophyslogique des cellules neurosécrétrices de la pars intercerebralis de larves femelles de *Panstrongylus megistus* (Heteroptera: Reduviidae). *C.R.S. Acad. Sci. Paris*, 283:163-167.
- FURTADO, A., 1979a. Cerebral neurosecretions and regulation of moulting in a haematophagous insect *Panstrongylus megistus* (Heteroptera: Reduviidae). *Experientia*, 35:1123-1124.
- FURTADO, A., 1979b. The hormonal control of mitosis and meiosis during oogenesis in a blood-sucking bug *Panstrongylus megistus*. *J. Insect Physiol.*, 25:561-570.
- GARCIA, E.S., MACCARINI, J.D.; GARCIA, M.L.M. & UBATUBA, F.B. 1975. Alimentação de *Rhodnius prolixus* em laboratório. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 47(3):534-545.
- GARCIA, M.L.M.; MELLO, R.P. & GARCIA, E.S., 1979. Ecdysone, juvenile hormone and oogenesis in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 25:695-700.

- GILBERT, L.I., 1962. Maintenance of the prothoracic gland by the juvenile hormone in insects. *Nature, Lond.*, 193:1205-1207.
- HAGEDORN, H.H.; O'CONNOR, J.D.; FUCHS, M.S.; SAGE, B.; SCHLAELER, D.A. & BOHN, M.K., 1975. The ovary as a source of ecdysone in an adult mosquito. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72: 3255-3259.
- HAGEDORN, H.H. & KUNKEL, J.G., 1979. Vitellogenin and vitellin in insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 24:475-505.
- HIGHMAN, K.C. & LUSIS, O., 1962. The influence of mature males on the neurosecretory control of ovarian development in the desert locust. *Quart. J. Micr. Sci.*, 103:73-83.
- HUEBNER, E. & DAVEY, K.G., 1973. An antigonadotropin from the ovaries of the insect *Rhodnius prolixus* Stal. *Can. J. Zool.*, 51:113-120.
- JOHANSSON, A.S., 1958. Relation of nutritional to endocrine reproductive functions in the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus*. *Nytt. Mag. Zool*, 7:1-32.
- KHAN, T.R.; SINGH, S.B.; SINGH, R.K. & SINGH, T.K., 1978. Neurosecretory control of *Corpora allata* activity in cockroach, *Periplaneta americana* L. *Experientia*, 34:49-51.
- KOPÉČ, C., 1917. Experiments on metamorphosis of insects. *Bull. Int. Acad. Sci. Cracovia* (B), 57-60.

- KRISHNAKARAN, A.; OBERLANDER, H. & SCHNEIDERMAN, H.A., 1965. Rates of DNA synthesis in various tissues during a larval moult cycle of *Samia cynthia ricini*. *Nature, Lond.*, 205: 1131-133.
- LAZAROVICI, P. & PENER, M.P., 1977. Juvenile hormone (JHs) and completion of oocyte development in the african migratory locust: A comparative and qualitative study. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 33:434-452.
- LEA, A.O., 1964. Studies on the dietary and endocrine regulation of antogenous reproduction in *Aedes taeniorhynchus* (Wied.). *J. Med. Entomol.*, 1:40-44.
- LENT, H. & JURBERG, J., 1969. O gênero "*Rhodnius*" Stal, 1859, com um estudo sobre a genitália das espécies (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev. Bras. Biol.*, 29(4):487-560.
- MOROHOSHI, S. & IIJIMA, T., 1969. induction of supernumerous ecdysis by the injection of ecdysone in *Bombyx mori*. *Proc. Japan Acad.*, 45:314-317.
- MOROHOSHI, S.; ISHIDA, S. & SONE, M., 1972. The control of growth and development in *Bombyx mori*. XIII - Effects of ecdysterone on the development of the fifth instar and pupae. *Proc. Japan Acad.*, 48:263-267.

- MUNDALL, E. & ENGELMANN, F., 1977. Endocrine control of vitellogenin synthesis and vitellogenesis in *Triatoma protracta*. *J. Insect. Physiol.*, 25:825-836.
- NAYAR, K.K., 1958. Studies on the neurosecretory system of *Iphita limbata* Stal. V. Probable endocrine basis of oviposition in the female insect. *Proc. Ind. Acad. Sci. (B)*, 47: 233-251.
- NOVAK, V.J.A., 1975. *Insect Hormones*, 2 ed., Chapman & Hall, London, 600pp.
- OKASHA, A.Y.K., 1964. Effects of high temperature in *Rhodnius prolixus* Stal. *Nature, Lond.*, 204:1221-1222.
- PAN, M.L.; BELL, W.J. & TELFER, W.H., 1969. Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science*, 165:393-394.
- PATCHIN, S. & DAVEY, K.G., 1968. The histology of vitellogenesis in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 25:121-129.
- PATTERSON, J.W. & SCHWARZ, M., 1977. Chemical structure, juvenile hormone activity and persistence within the insect of juvenile hormone mimics for *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 23:121-129.
- PATTERSON, J.W., 1979. The effects of larval nutrition on egg production in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.*, 25:311-314.

- PINCUS, D.S., 1977. Juvenile hormone and its assay in virgin adult *Blattella germanica* females. *J. Insect Physiol.*, 23: 73-77.
- PRATT, G.E. & DAVEY, K.G., 1972a. The *corpus allatum* and oogenesis in *Rhodnius prolixus* Stal. I - The effects of allatectomy. *J. Exp. Biol.*, 56:201-204.
- PRATT, G.E. & DAVEY, K.G., 1972b. The *Corpus allatum* and oogenesis in *Rhodnius prolixus* Stal. II - The effects of starvation. *J. Exp. Biol.*, 56:215-221.
- PRATT, G.E. & DAVEY, K.G., 1972c. The *Corpus allatum* and oogenesis in *Rhodnius prolixus* Stal. III - The effects of mating. *J. Exp. Biol.*, 56:223-237.
- REGIS, L., 1977a. Nutrition et fécondité chez *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Thèse 3<sup>o</sup> cycle, Univ. P. et M. Curie, Paris, 91 pp.
- REGIS, L., 1977b. Functional compensatory hypertrophy resulting from spontaneous or induced atrophy disconnecting one of the ovaries of *triatoma infestans* (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 11 (6):961-969.
- SANTOS, A.L.N., GARCIA, M.L.M., RIBEIRO, J.M.G. e GARCIA, E.S., 1979. Studies on the hormonal control of the ovarian follicle permeability in *Rhodnius prolixus*. *Ah. Cong. Internac. da Doença de Chagas*.

- SKINNER, D.M., 1963. Incorporation of protein into oocytes of *Hyalophora*. *Biol. Bull., Wood's Hole*, 125:165-176.
- SRIVASTAVA, K.P. & TIWAR, R.K., 1978. Effect of ovariectomy on the *Corpus allatum* area, gut contents and fat body in red bug *Dysdercus Roenigii*. *J. Exp. Biol.*, 16:107-109.
- STAY, B.; FRIEDEL, T.; TOBE, S.S. & MUNDALL, E.C., 1980. Feed back control of juvenile hormone synthesis in cockroaches. Possible role for Ecdysterone. *Science*, 207:898-900.
- STEEL, C.G.H., 1975. A neuroendocrine feedback mechanism in the insect moulting cycle. *Nature, Lond.*, 253:267-269.
- THOMSEN, E., 1952. Functional significance of the neurosecretory brain cells and the *corpus cardiacum* in the female blowfly *Calliphora erythrocephala*. *J. Exp. Biol.*, 29:137-172.
- UBATUBA, F.B.; MOUSSATCHE, H. & GARCIA, E.S., 1969. Postura de ovos por fêmeas virgens de *Rhodnius prolixus* como teste da atividade de hormônio juvenil de insetos. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 41(4):650.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1934a. The physiology of ecdysis in *Rhodnius*. II. Factors controlling moulting and metamorphosis. *Quart. J. Micr. Sci.*, 77:191-222.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1934b. Factors controlling moulting and metamorphosis in an insect. *Nature, Lond.*, 135:725-726.

- WIGGLESWORTH, V.B., 1935. Function of the *corpus allatum* in insects. *Nature, Lond.*, 137:338.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1936. The function of the *Corpus allatum* in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus*. *Quart. J. Micr. Sci.*, 79:91-119.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1940. Local and general factors in the development of "pattern" in *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Biol.* 17:180-200.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1952. The thoracic gland in *Rhodnius* and its role in moulting. *J. Exp. Biol.*, 29:561-570.
- WIGGLESWORTH, V B., 1955, The breakdown of the thoracic gland in the adult insect *Rhodnius prolixus*. *J.Exp. Biol.*, 32:485-491.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1963. The juvenile hormone effect of farnesol and some related compounds: quantitative experiments. *J. Insect Physiol.*, 9:105-119.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1964. The action of moulting hormone and juvenile hormone at the cellular level in *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Biol.*, 40:231--245.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1965. The juvenile hormone. *Nature, Lond.*; 208:522-524.

- WIGGLESWORTH, V.B., 1969. Chemical structure and juvenile hormone activity. *J. Insect Physiol.*, 15:73-94.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1972. The principles of insect physiology. 7 ed., Chapman & Hall, London, 827 pp.
- WILLIAMS, C.M., 1947. Physiology of insect diapause. II - Interaction between the pupal brain and prothoracic glands in the metamorphosis in the giant silkworm, *Platysamia cecropia*. *Biol. Bull. Woo's Hole*, 93:89-98.
- WILLIAMS, C.M., 1948. Physiology of insect diapause. III. The prothoracic glands in the cecropia silkworm with special reference to their significance in embryonic and postembryonic development. *Biol. Bull, Wood's Hole*, 94:60-65.
- WILLIAMS, C.M., 1952. Physiology of insect diapause. IV- The brain an prothoracic glands as an endocrine system in the cecropis silkworm. *Biol. Bull., Wood's Hole*. 103:120-123.
- WILLIAMS, C.M., 1956. Active extracts of juvenile hormone. *Nature, Lond.*, 178:212-213.