

ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL EXOCORION DE HUEVOS DE TRIATOMINAE (HETEROPTERA, REDUVIIDAE) MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

E. Aldana*, S. Arriechi, E. Lizano

Laboratorio de Entomología "Herman Lent", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, estado Mérida, República Bolivariana de Venezuela.

*Autor de Correspondencia: aldana@ula.ve, teléfono 582742401312, fax 582742401286.

Recibido: Febrero 2013. Aprobado: Agosto 2013.

Publicado: Noviembre 2013.

RESUMEN

Se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido, la morfología del borde corial y las celdas poligonales de las regiones cefálica, media y caudal de las especies *Meccus longipennis*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus*, *Triatoma infestans*, *T. lecticularis*, *T. sordida*, *T. maculata* y *Eratyrus mucronatus*. Los aeropilos, micropilos, goteras espermáticas y bandas de sellados son de tamaño variables aun en un mismo huevo. Se observaron intervalos de variación similares entre huevos de diferentes especies. Los micropilos y aeropilos se distribuyen respectivamente en la cara externa del borde corial y sobre la gotera espermática, la cual siempre es estrecha. Las celdas poligonales de las regiones cefálica, media y caudal son morfológicamente similares en *M. pallidipennis* y *M. longipennis* y diferentes a las de las regiones cefálica y media de *M. phyllosomus*, las cuales son de textura rugosa. Las celdas poligonales de *Triatoma* y *E. mucronatus*, presentan perforaciones, con patrones de distribución diferentes: en *T. infestans* se observan de forma circular en el centro de las celdas, en *T. sordida*, *T. lecticularis* y *T. maculata* se distribuyen aleatoriamente en el interior de las celdas, mientras que en *E. mucronatus* las perforaciones se encuentran sólo en los vértices de las celdas poligonales. Las especies de *Meccus* no presentan perforaciones en las celdas poligonales. Se concluye que la similitud en el diseño de la ultraestructura del borde corial en la subfamilia Triatominae da cuenta del origen monofilético de este diseño y que las diferencias en el patrón de perforaciones de las celdas poligonales de *Triatoma*, *Eratyrus* y *Meccus* (sin perforaciones) revelan diferencias entre las poblaciones de células foliculares comprometidas en la coriogénesis, a nivel especie-específica en *Triatoma* y *Eratyrus* y genérico en *Meccus*.

Palabras clave: aeropilo, borde corial, celdas poligonales, exocorion, micropilo.

MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE EXOCHORION OF TRIATOMINAE (HETEROPTERA, REDUVIIDAE) EGGS USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

ABSTRACT

The ultrastructure of chorionic edge and polygonal cells of cephalic, median and caudal regions of the species *Meccus longipennis*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus*, *Triatoma infestans*, *T. lecticularis*, *T. sordida*, *T. maculata* and *Eratyrus mucronatus* were analyzed by scanning electron microscopy. The size of aeropyles, micropyles, sperm gutter and sealing bars displayed great differences even in the same egg; similar variation intervals between eggs from different species were also observed. Micropyles were on the outer chorionic edge and aeropyles were on the spermatoc gutter, which was narrow in all subjects studied. The polygonal cells of cephalic, median and caudal regions were morphologically similar between *M. pallidipennis* and *M. longipennis*, but differ from those of the cephalic and median regions of *M. phyllosomus*, which were rough. Polygonal cells of *Triatoma* and *E. mucronatus* have perforations, although with different patterns: in *T. infestans* perforations were circular and located in the center of the cells, while in *T. sordida*, *T. lecticularis* and *T. maculata* they were randomly distributed throughout the cells including the limiting lines, but in *E. mucronatus* the perforations were observed only at the vertices of the polygonal cells. *Meccus* species do not have perforations. It was concluded that similarity of the ultrastructure in the chorionic edge design in Triatominae indicates a monophyletic origin of said design, while variations among polygonal cells perforation patterns in *Triatoma*, *Eratyrus* and *Meccus* (without perforations) suggest differences between follicular cell populations during coriogénesis at the species-specific level in *Triatoma* and *Eratyrus*, but genus-specific in *Meccus*.

Key words: aeropyle, chorion border, exochorion, micropyle, polygonal cells.

INTRODUCCIÓN

La organización estructural del corion está dada por 7 capas, 2 de éstas conforman el exocorion y están compuestas principalmente de material proteico, la capa más externa (exocorion resistente) es la que confiere la rigidez mecánica y un patrón de ornamentación específica a la estructura [1]. El uso de caracteres que comprometen la estructura y organización geométrica del corion tales como: silueta, collar, opérculo, organización geométrica de celdas poligonales, sistema aero-micropilar, gotera espermática, cuello, ornamentaciones ultraestructurales en el cuerpo del huevo) han sido propuestos como herramienta taxonómica a nivel interespecífico en los géneros *Triatoma* [2,3,4,5], *Rhodnius* [6,7], *Meccus* [8,5], *Panstrongylus* [9,10] y *Belminus* [11], a nivel intraespecífico en *T. brasiliensis* [12] e incluso entre subfamilias de la familia Reduviidae como fue observado entre Triatominae y Ectrichodiinae [13]. El uso de las características del huevo como herramienta taxonómica ha mostrado ser válido incluso en aquellos casos de especies muy estrechamente relacionadas filogenéticamente e indistinguibles morfológicamente tanto las formas juveniles como las adultas, como es el caso de *T. maculata* y *T. pseudomaculata* [14]. El objetivo de este trabajo es ampliar el conocimiento de la ultraestructura del exocorion de *T. maculata*, *T. infestans*, *T. lecticularis*, *T. sordida*, *M. longipennis*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus* y *E. mucronatus*, a fin de contribuir con información morfológica de interés como herramienta taxonómica y para la comprensión de la función de las diferentes estructuras de esta capa de la cáscara del huevo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los huevos proceden de la colonia del Laboratorio de Entomología "Herman Lent" de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, mantenida a 28°C, 50% humedad relativa y alimentada con gallina (*Gallus*

gallus domesticus). Los huevos eclosionados fueron lavados tres veces con agua destilada, secados a 26°C y conservados en cápsulas de Petri hasta su uso. Se analizaron 20 huevos de *E. mucronatus*, 21 huevos de *T. maculata* y 4 huevos de *T. infestans*, *T. lecticularis*, *T. sordida*, *M. longipennis*, *M. pallidipennis* y *M. phyllosomus*. Los huevos fueron fijados en una cinta doble adhesiva de grafito sobre un soporte metálico, cubiertos con oro durante 100 segundos con un convertidor iónico SPI-MODULE TM S-2500 a 100 mA. Las micrografías fueron tomadas con un microscopio electrónico de barrido Hitachi S-2500 a 20 keV. Se analizaron los siguientes caracteres: anillo y borde corial (Figura 1); líneas limitantes de las celdas (Figura 2); micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs) (Figura 3); celdas poligonales (cp) (Figura 4). El análisis de la ultraestructura del exocorion se hizo siguiendo la nomenclatura propuesta por Barata [9].

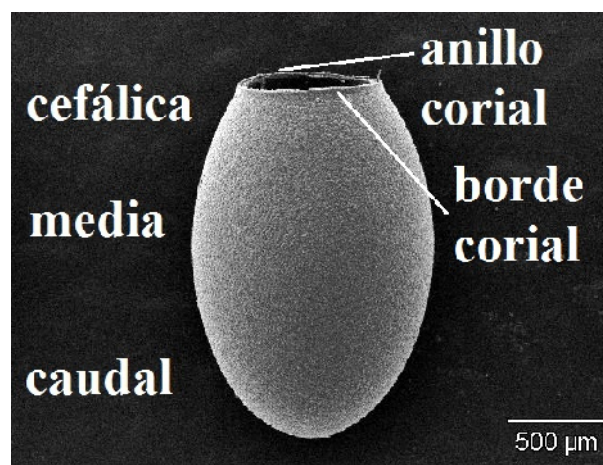


Fig. 1. Huevo de *T. lecticularis* mostrando regiones cefálica, media caudal, borde y anillo corial.

RESULTADOS

Género *Meccus*. En las tres especies analizadas, *M. longipennis*, *M. pallidipennis* y *M. phyllosomus*, se observaron las siguientes características: aeropilos distribuidos a lo largo de la gotera espermática y con un

diámetro que oscila entre 0,7-1,4 μm , micropilos localizados en la cara externa del borde corial de diámetro similar a los aeropilos, la gotera espermática es estrecha, de textura lisa y ancho variable (2,8-7,1 μm), banda de sellado de textura lisa y ancho variable (4,5-25 μm), anillo corial de diámetro variable (0,66-0,75 mm). Las celdas poligonales de textura lisa y teseladas en las regiones cefálica, media y caudal de *M. longipennis* y *M. pallidipennis*; en *M. phyllosomus* las celdas poligonales son de textura rugosa en las regiones cefálica y media, y lisa en la región caudal (Figuras 2-8).

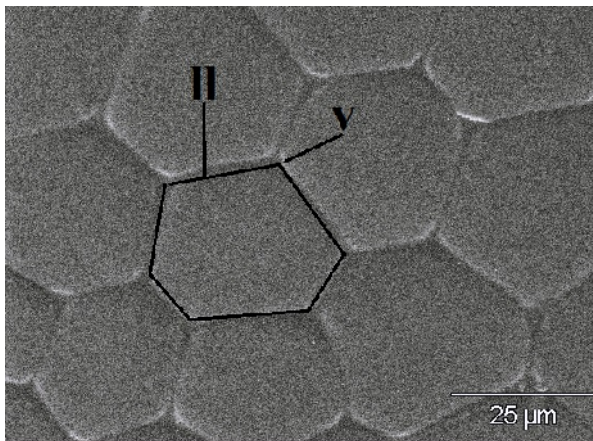


Fig. 2. Línea limitante (ll) y vértice de celdas poligonales de región cefálica de *M. pallidipennis*. poligonales (ll) y vértices de las celdas poligonales (v).

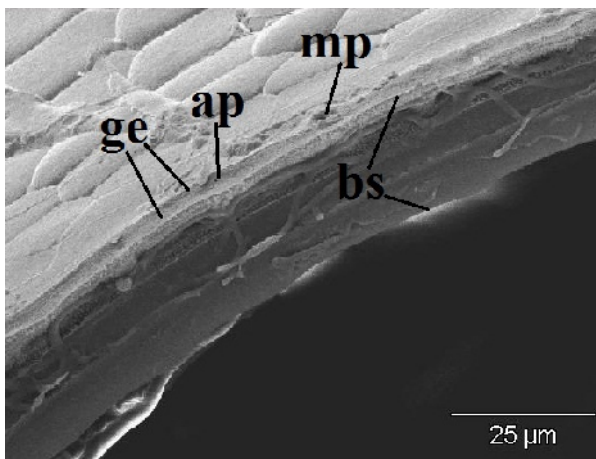


Fig. 3. Detalle del borde corial de *M. longipennis* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs).

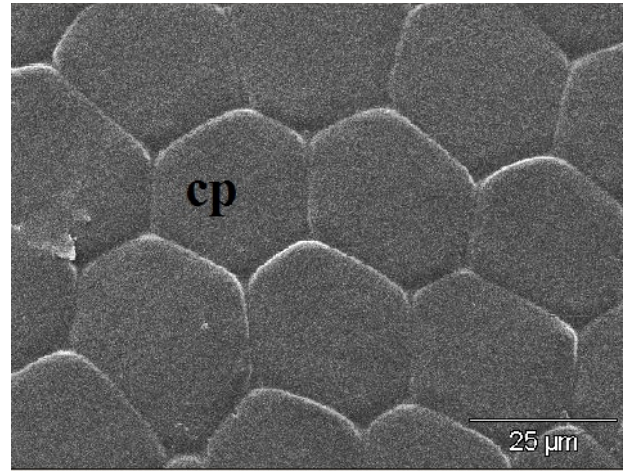


Fig. 4. Celdas poligonales (cp) de región cefálica de *M. longipennis*.

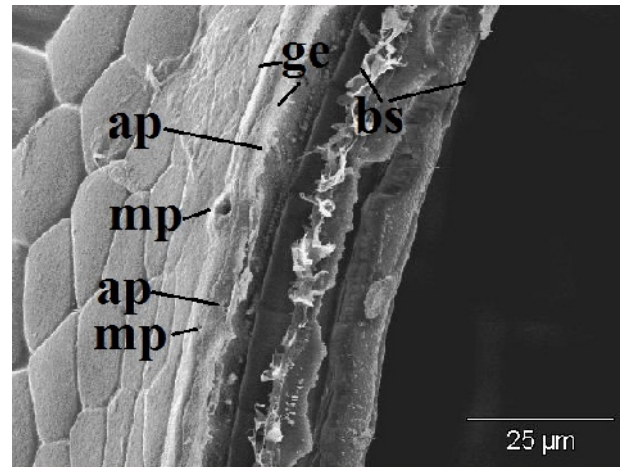


Fig. 5a. Detalle del borde corial de *M. pallidipennis* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs).

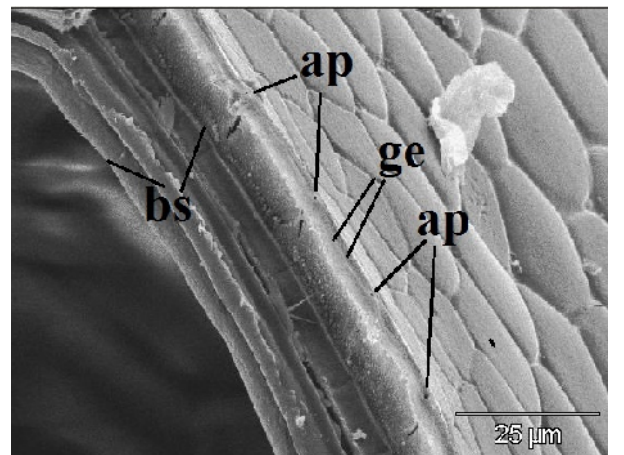


Fig. 5b. Detalle del borde corial de *M. pallidipennis* mostrando, aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs).

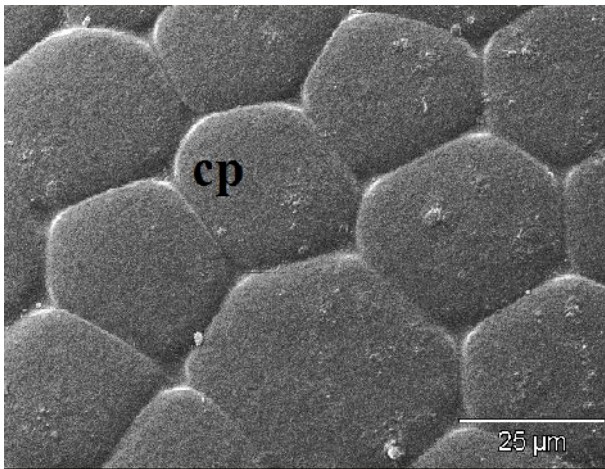


Fig. 6. Celdas poligonales (cp) de región cefálica de *M. pallidipennis*.

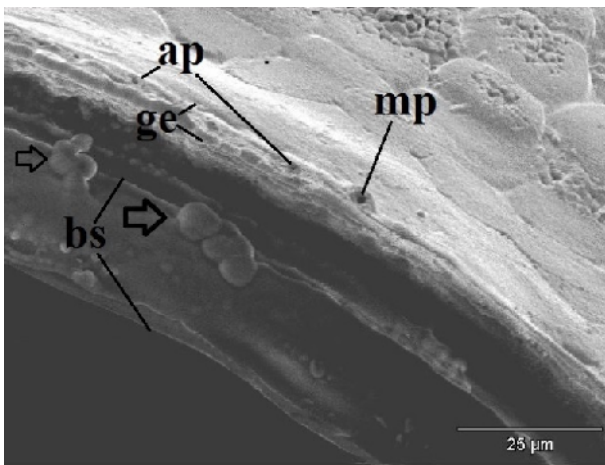


Fig. 7. Detalle del borde corial de *M. phyllosomus* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs). Las flechas indican proyecciones globulares.

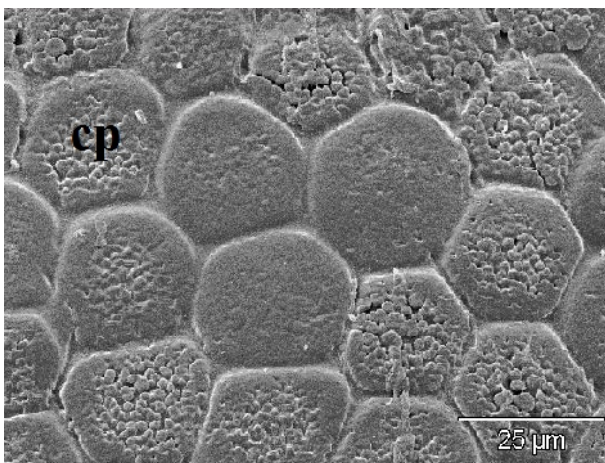


Fig. 8. Celdas poligonales (cp) de región cefálica de *M. phyllosomus*.

Género *Triatoma*. En las cuatro especies analizadas del género *Triatoma*: *T. maculata*, *T. infestans*, *T. lecticularis* y *T. sordida* se observaron las siguientes características: aeropilos distribuidos a lo largo de la gotera espermática y con un diámetro que oscila entre 0,7-1,4 μm, micropilos localizados en la cara externa del borde corial y con un diámetro que oscila entre 0,7-2,8 μm, la gotera espermática es estrecha, de textura lisa y ancho variable (3,5-13,5 μm), banda de sellado de textura lisa y ancho variable (3,5-25 μm), anillo corial de diámetro variable (450-700 μm). Las celdas poligonales están perforadas tanto en su interior como en las líneas limitantes y vértices; las perforaciones del interior de las celdas presentan una distribución aleatoria en las especies *T. lecticularis*, *T. sordida* y *T. maculata*, mientras que en *T. infestans* las perforaciones se distribuyen circularmente en el centro de la celda (Figuras 9-16).

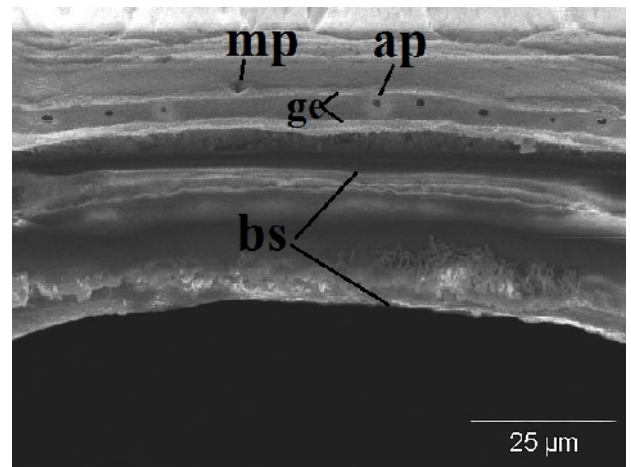


Fig. 9. Detalle del borde corial de *T. infestans* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs).

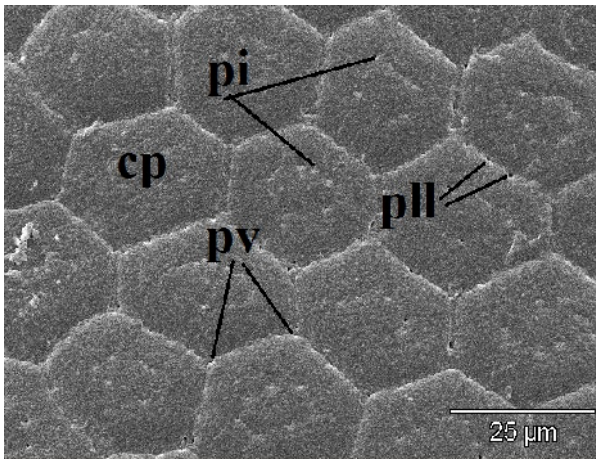


Fig. 10. Celdas poligonales (cp) de región cefálica, perforaciones internas de celdas (pi), perforaciones de líneas limitantes (pll) y perforaciones de vértices (pv) de *T. infestans*.

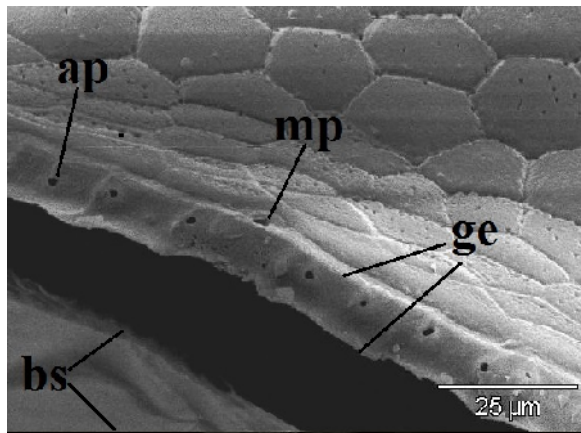


Fig. 11. Detalle del borde corial de *T. lecticularis* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs) desprendida de gotera espermática (ge).

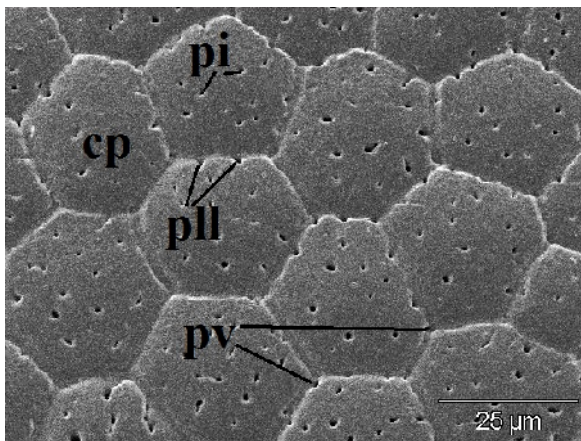


Fig. 12. Celdas poligonales (cp) de región cefálica, se muestran las perforaciones internas de celdas (pi),

perforaciones de líneas limitantes (pll) y perforaciones de vértices (pv) de *T. lecticularis*.

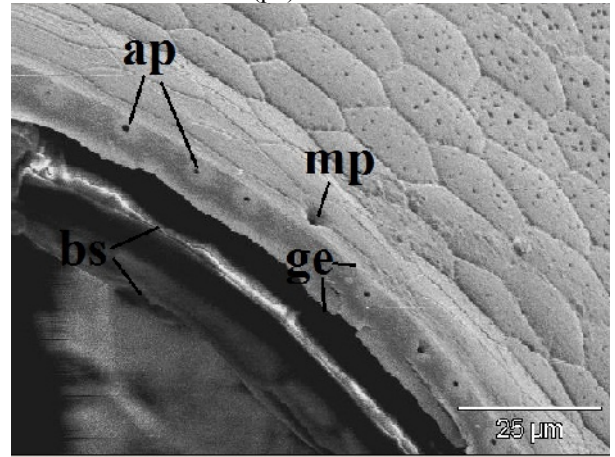


Fig. 13. Detalle del borde corial de *T. sordida* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs) desprendida de gotera espermática (ge).

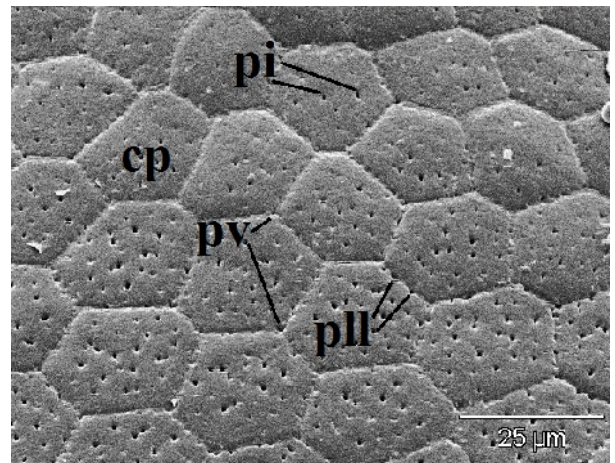


Fig. 14. Celdas poligonales (cp) de región cefálica, con perforaciones internas de celdas (pi), perforaciones de líneas limitantes (pll) y perforaciones de vértices (pv) de *T. sordida*.

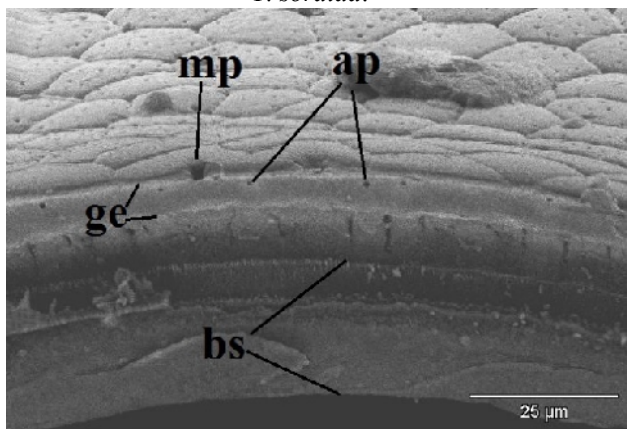


Fig. 15. Detalle del borde corial de *T. maculata* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs).

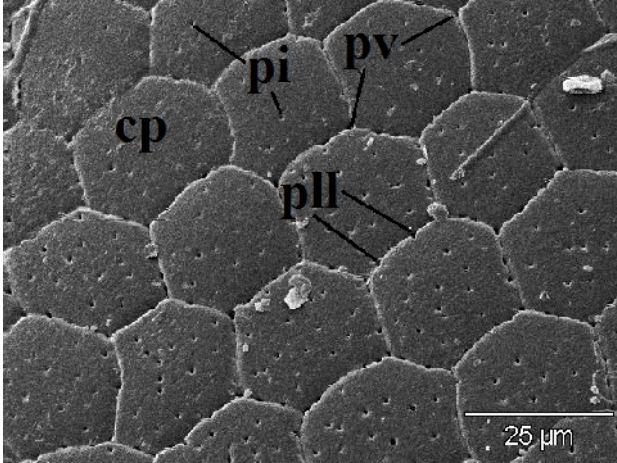


Fig. 16. Celdas poligonales (cp) de región cefálica, perforaciones internas de celdas (pi), perforaciones de líneas limitantes (pll) y perforaciones de vértices (pv) de *T. maculata*.

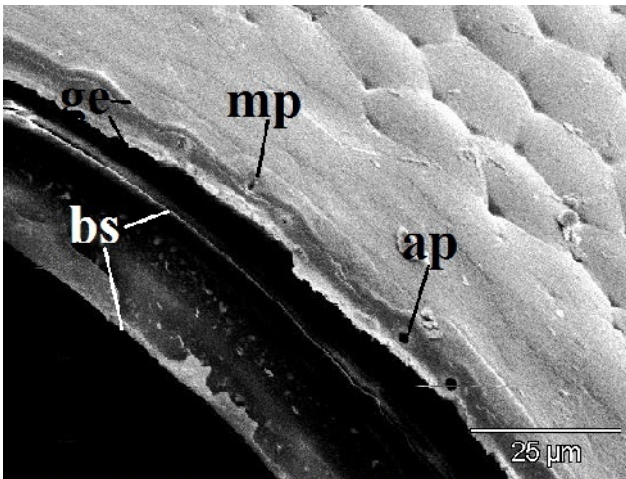


Fig. 17. Detalle del borde corial de *E. mucronatus* mostrando micropilo (mp), aeropilo (ap), gotera espermática (ge) y banda de sellado (bs) desprendida de gotera espermática (ge).

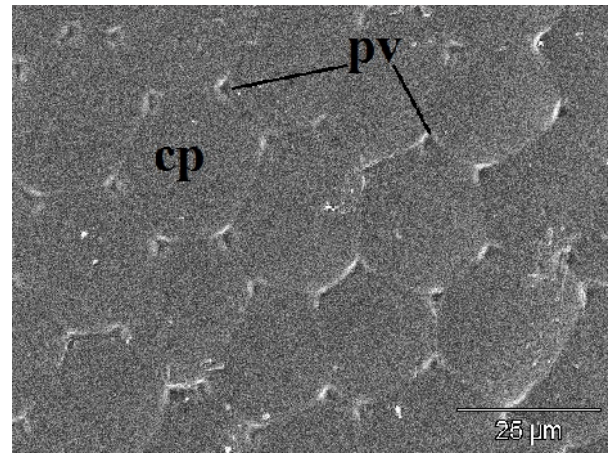


Fig. 18. Celdas poligonales (cp) y perforaciones de vértices (pv) de región cefálica de *E. mucronatus*. *Eratyrus mucronatus*. Los huevos son alargados, tienen forma elipsoidal y son simétricos, se observó que la región caudal es más cónica que la región cefálica, siendo ésta más cilíndrica. Los aeropilos se distribuyen a lo largo de la gotera espermática, con diámetro que oscila entre 0,7-2,1 μm, los micrópilos se localizan en la cara externa del borde corial, con diámetro que oscila entre 0,7-1,4 μm, la gotera espermática es de textura lisa y 7,1 μm de ancho, banda de sellado de textura lisa y ancho variable (19,2-27,8 μm), anillo corial de diámetro variable entre 320-410 μm. Las celdas poligonales lisas, convexas y con perforaciones en los vértices de las celdas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los huevos de los Triatominae, como los de los Reduviidae, poseen opérculo bien diferenciado, además de banda de sellado, corion constituido por exocorion y endocorion, un sistema aeromicropilar bien desarrollado alrededor del anillo corial y una capa aerostática interna continua [13]. Una de las funciones de estas estructuras localizadas en la región cefálica del huevo y en contacto directo con la atmósfera, es la del intercambio de gases con el medio ambiente [15]. A este sistema de estructuras, Valiente (conversación personal) le llamó complejo opercular. En muchos otros grupos de insectos, Hemiptera incluidos y distintos a los

Reduviidae, la función respiratoria del huevo o intercambio de gases, tiene lugar a través del plastrón [16], la cual proponemos en este trabajo como más compleja que el denominado complejo opercular descrito en Reduviidae y Triatominae. El plastrón consiste en un sistema de tráqueas sin conexión directa con la atmósfera. Según Hinton [16] el plastrón es de carácter polifilético dado que está ausente en el ancestro común de diferentes grupos. Sin embargo, el sistema de estructuras a través de las cuales tiene lugar el intercambio de gases denominado por Valiente como complejo opercular, aunque es único en los Reduviidae, muestra variaciones reconocibles a nivel de subfamilias estrechamente relacionadas filogenéticamente [13]. Por consiguiente proponemos que el sistema de estructuras denominado complejo opercular en los Reduviidae, es de origen monofilético, a diferencia del plastrón en otros grupos de insectos el cual ha sido considerado como de origen polifilético [16].

En la subfamilia Triatominae hay un cierto grado de variación en el diseño del complejo opercular, sin embargo los aeropilos y micropilos, implicados respectivamente en el intercambio de gases y entrada de espermastozoides para la fertilización [17, 18, 19], presentan un patrón constante en esta subfamilia. Esto explica que la ultraestructura del denominado complejo opercular descrito en el presente trabajo, es similar en las especies del género *Meccus* (*M. longipennis*, *M. pallidipennis* y *M. phyllosomus*), *Triatoma* (*T. lecticularis*, *T. sordida*, *T. maculata* y *T. infestans*) y *Eratyrus*.

Hasta donde hemos podido conocer, no se han reportado datos de la ultraestructura de los huevos del género *Meccus*, salvo el aspecto de las celdas poligonales descritas por Obara *et al.* [8] en las especies *M. pallidipennis*, *M. picturatus*, *M. phyllosomus* y *M. longipennis*. En cuanto a *M. phyllosomus*, en la presente investigación, se observó que las celdas poligonales en las regiones cefálica y media son de superficie rugosa y

lisa en la región caudal; mientras que las celdas poligonales ilustradas por Obara *et al.* [8] son de textura lisa pero estos autores no señalan a cuál región del huevo corresponde la micrografía. El aspecto rugoso de las celdas de las regiones cefálica y media de *M. phyllosomus*, a diferencia del aspecto liso de las correspondientes celdas de *M. longipennis* y *M. pallidipennis*, tenga quizá su origen en las diferencias en cuanto a una población específica de células foliculares que Ma *et al.* [20] demuestran ser las responsables durante la coriogénesis, del patrón de las celdas poligonales en la región cefálica del huevo del hemíptero *Lygus lineolaris*.

El patrón de perforaciones en las celdas poligonales observado en *T. infestans* coincide con el descrito por Barata ([9]), y en cuanto a *T. maculata* el patrón de perforaciones coincide con el descrito por Gonçalves *et al.* [14]. No conocemos información de otros autores en cuanto al patrón de perforaciones en las celdas de *T. lecticularis* y *T. sordida*, por lo que no podríamos hacer por el momento la comparación de nuestros resultados. No se conoce cuán profundas son estas perforaciones así como tampoco su origen. Tucker & Meats [21] demostraron en *Heteropeza* y *Periplaneta* que los microtúbulos de las células foliculares forman un continuo mecánico capaz de transmitir fuerzas de tensión a través del epitelio folicular, oponiendo más resistencia a la expansión circunferencial que a la del alargamiento del oocito, determinando así la forma elipsoidal del huevo de estos insectos; posteriormente Rittenhouse & Berg [22] encontraron que mutaciones de los genes que comprometen a los microtúbulos de las células foliculares, causan anormalidades en la estructura del corion de huevos de *Drosophyla*. Con base en lo descrito por Tucker & Meats [21] y Rittenhouse & Berg [22], proponemos que las perforaciones observadas en el presente trabajo en los huevos del género *Triatoma* tienen su origen en la presión que ejercen los microtúbulos de las células

foliculares sobre el oocito durante su desarrollo y crecimiento. El hecho que *T. infestans* haya presentado en las celdas poligonales un arreglo de perforaciones circular y concéntrico, diferente a *T. lecticularis*, *T. sordida* y *T. maculata*, las cuales presentan las perforaciones dispersas y aleatoriamente distribuidas, hacen suponer que el arreglo de los microtúbulos sean entonces diferentes en las correspondientes células foliculares. No se conoce la función de las perforaciones señaladas en el género *Triatoma*, así como tampoco su estructura interna. Sandoval et al. [11] estudiando la ultraestructura del corion de los huevos de diferentes especies de *Belminus*, propusieron que la función respiratoria en los huevos de los Triatominos se localiza en el sistema aeromicropilar, es decir, en la región cefálica, mientras que la función mecánica protectora la ejerce el resto del corion; con base en esta hipótesis, proponemos que las perforaciones de las celdas poligonales en el género *Triatoma* podrían tener como función la de conferir al corion la flexibilidad requerida para el crecimiento y desarrollo del embrión.

Hasta donde hemos podido conocer, no se ha descrito la ultraestructura de la cáscara del huevo de *E. mucronatus*, aunque si la de *E. cuspidatus* por Lent & Wygodzinsky [23] y Barata [9]. Según las descripciones de estos autores, las celdas poligonales presentan características similares a las de *E. mucronatus* descritas por primera vez en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y la Tecnología de la República Bolivariana de Venezuela, a través del proyecto N° 2012000781.

REFERENCIAS

[1] Beament, J. W. (1946) "The Formation and Structure of the Chorion of the Egg in an Hemipteran,

Rhodnius prolixus". *Quart. J. Micr. Sci.* 87(348):393-439.

- [2] Rosa J., Barata J. M., Santos J., Cilensec M. (2000) "Morfología de ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae)". *Rev. Saúde Pública.* 34 (5):538-542.
- [3] Silva M, Jurberg J, Barbosa H., Rocha D., Carcavallo R., Galvao C. (2005) "Morfologia comparada dos ovos e ninfas de *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau y Lent, 2002 e *Triatoma williamsi* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae)". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 100(6):649-661.
- [4] Obara M., Rosa J., Silva N., Júnior W., Urbinatti P., Barata J., Jurberg J., Galvao C. (2007) "Estudo Morfológico e Histológico dos Ovos de Seis Espécies do Gênero *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae)". *Neotrop. Entomol.* 36(5):798-806.
- [5] González G., Aldana E., Lizano E., López G. (2009) "Arreglo de los Polígonos del Exocorion de Huevos Ecllosionados de Algunas Especies de los géneros *Triatoma* Laporte, *Meccus* Stal y *Nesotriatoma* Usinger (Heteroptera, Reduviidae)". *EntomoBras.* 2:76-89.
- [6] Páez-Colasante X., Aldana E. (2008) "Morfometría Geométrica del Borde Corial y del Collar de Huevos de Cinco Especies del Género *Rhodnius* Stål. (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae)". *EntomoBras.* 1:57-61.
- [7] Santos C.M., Jurberg J., Galvão C., Rosa J.A., Júnior W.C., Barata, J.M., Obara M.T. (2009) "Comparative descriptions of eggs from three species of *Rhodnius* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 104:1012-1018.
- [8] Obara M., Barata J., Silva N., Júnior W., Urbinatti P., Rosa J., Jurberg J., Galvão C. (2007) "Estudo de ovos de quatro espécies do gênero *Meccus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Vectores da

- doença de Chagas". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 102(1):13-19.
- [9] Barata J. (1998) "Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae)", Rio de Janeiro, Brazil, Editora Fiocruz, pp. 409–448.
- [10] Aldana E., Avendaño-Rangel F., Lizano E., Rodríguez-Bonfante C., Bonfante-Cabarcas R. (2011) "Morphological analysis of *Panstrongylus geniculatus* eggs (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae) from a Chagas' endemic area in the center-west of Venezuela". *Acta Microscopica*. 20(2):103-111.
- [11] Sandoval C. M., Nieves E., Angulo V., Rosa J., Aldana E. (2011) "Morphology of the eggs of the genus *Belminus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) by optical and scanning electron microscopy". *Zootaxa*. 2970:33-40.
- [12] Costa J., Barth O.M., Marchon-Silva V., Almeida C.E., Freitas-Sibajev M., Panzera F. (1997) "Morphological Studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) Genital Structures and Eggs of Different Chromatic Forms". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 92(4):493-498.
- [13] Haridass E.T. (1986) "Ultrastructure of the eggs of Reduviidae: III. Eggs of Triatominae and Ectrichodiinae (Insecta-Heteroptera)". *Proc. Indian Acad. Sci.* 95 (4):447–456.
- [14] Gonçalves T., Jurberg J., Costa G. et al. (1985) "Estudo Morfológico Comparativo de Ovos e Ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Correa & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 80(3):263-276.
- [15] Harrison J., Woods A., Steppen R. (2012) "Ecological and Environmental Physiology of Insects". New York, Oxford University Press, pp. 228-229.
- [16] Hinton, H.E. (1971) "*Polyphyletic Evolution of Respiratory Systems of Eggshell, with a Discussion of Structure and Density-independent and Density-dependent Selective Pressures*". New York, Estados Unidos de América, Academic Press, pp. 17-36.
- [17] Tuft H. (1950) "The structure of the insect egg-shell in relation to the respiration of the embryo". *J. Exp. Biol.* 4:327-334.
- [18] Southwood T. (1956). "The structure of the eggs of the terrestrial Heteroptera and its relationship to the classification of the group". *Trans. R. Soc. Lond.* 108:163-221.
- [19] Beament J.W.L. (1947) "The formation and structure of the micropylar complex in the eggshell of *Rhodnius prolixus* Stal (Heteroptera, Reduviidae)". *J. Exp. Biol.* 23 (3-4):213–235.
- [20] Ma, P., Baird, S. & Ramaswamy, S. (2002) "Morphology and formation of the eggshell in the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera, Miridae)". *Arthrop. Struc. Develop.* 31:131–146.
- [21] Tucker J.B., Meats M. (1976) "Microtubules and Control of Insect Egg Shape". *J. Cell Biol.* 71: 207-217.
- [22] Rittenhouse, K. & Berg C. (1995). "Mutations in the *Drosophila* gene bullwinkle cause the formation of abnormal eggshell structures and bicaudal embryos". *Development*. 121(9):3023-3033.
- [23] Lent H., Wygodzinsky P. (1979) "Vision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease". *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 163(3):123-520.