

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DO CICLO EVOLUTIVO DA **TURGIDA TURGIDA** (RUD., 1819) TRAV., 1920 (**NEMATODA: SPIRUROIDEA**)

HUGO ZAGO FILHO

O ciclo evolutivo da *Turgida* (*Physaloptera*) *turgida* (Rud. 1819) Trav., 1920, foi parcialmente estudado por Alicata (1). Este autor ministrou a exemplares de *Blatella germanica* ovos embrionados do parasita e, 14 dias depois, sacrificando três insetos, encontrou, na cavidade geral, larvas em primeiro e segundo estadios, assim como larvas em muda; no 27.º dia após a infestação, dissecou mais duas baratas e nelas encontrou larvas em terceiro estadio. As diversas larvas foram sumariamente descritas.

Por outro lado, procurando estudar o ciclo do helminto no hospedeiro vertebrado, mas não dispondo de marsupiais, que são os hospedeiros habituais, ministrou larvas em terceiro estadio ao coelho, cobaia, rato, cão, gato e o pinto. Um mês depois sacrificou estes animais. O cão, a cobaia e o pinto mostraram-se negativos; no coelho e no gato observou larvas fixadas à mucosa gastrica, larvas estas idênticas às que havia ministrado aos animais um mês antes; finalmente no rato observou larvas encistadas na parede do estomago.

Estando, pois, o ciclo da *T. turgida* conhecido apenas em parte, isto é, no hospedeiro intermediario, e assim mesmo de um modo incompleto, resolvemos estudar o assunto, aproveitando a circunstancia de ser a *T. turgida* frequente entre nós, pois, de 31 exemplares de gambá, *Didelphis paraguayensis* Oken, 1916, capturados nos arredores da cidade de Ribeirão Preto, S. P., 7 (22,5%) se mostraram parasitados.

Adotamos o nome generico *Turgida* Trav., 1920 e não *Physaloptera* Rud.,

1819, baseados no trabalho de Travassos (4). O diagnostico especifico foi feito pelo numero e disposição das papilas cefalicas e papilas caudais do macho. O diagnostico generico baseou-se no numero de uteros das femeas.

MATERIAL E METODOS

I. HOSPEDEIRO INTERMEDIARIO. Como hospedeiro intermediario usamos o *Gryllus* (*Acheta*) *assimilis* (Fabr., 1775) (**), que, em experiencias preliminares, havia se infestado muito bem. Só empregamos insetos criados em laboratorio pela tecnica que descrevemos em trabalho anterior (6).

Os grilos foram infestados, ministrando-lhes ovos embrionados obtidos pela dissecção de femeas retiradas do estomago de gambás durante a necropsia. Estes ovos eram misturados com pão molhado de modo a se obter uma pasta homogenea que servia de alimento aos grilos.

A tecnica de infestação foi a mesma adotada em trabalho anterior (6), sobre o ciclo evolutivo da *P. praeputialis*. Ao todo infestamos 172 ninfas com dois meses de idade e 319 adultos com seis meses de idade. Estes insetos receberam o seguinte tratamento:

a) Os exemplares adultos foram alimentados manualmente e as ninfas foram deixadas durante 15 horas em contacto com o alimento infestante. Em ambos os casos usou-se o mesmo alimento.

b) Depois da infestação, os grilos

(*) Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. Barretto), Fac. Med. de Ribeirão Preto, U.S.P., S. Paulo.

(**) Em trabalhos anteriores empregamos o nome *Gryllulus* Uyarov, 1935; entretanto, face a *Opinion 299* da I.C.Z.N. (2), passamos a usar a designação *Gryllus* (*Acheta*) *assimilis* (Fabr., 1775).

foram divididos em quatro lotes: dois de ninfas (lotes 15 e 17) e dois de adultos (lotes 14 e 16).

c) Os lotes 14 e 15 foram mantidos em sala aquecida e os lotes 16 e 17 deixados em sala a temperatura ambiente. Procedemos assim para estudar possíveis efeitos da idade e da temperatura sobre a duração do ciclo no hospedeiro intermediário.

d) Nas salas onde os grilos permaneceram durante toda a observação, registramos diariamente a temperatura, figurando no quadro suas médias durante o ciclo.

e) Do lote 14 (adultos conservados em sala aquecida) necropsiamos três grilos de meia em meia hora, a partir do momento da infestação, até observar a eclosão dos ovos e penetração das larvas na parede intestinal; a seguir necropsiávamos três grilos diariamente e 30 larvas foram diariamente estudadas e medidas segundo o diagrama de Cobb.

f) Dos demais lotes, sacrificamos diariamente um exemplar de cada lote, e as larvas obtidas foram comparadas com as retiradas do lote 14 (adultos conservados em sala aquecida).

II. HOSPEDEIRO DEFINITIVO. Como hospedeiro definitivo usamos o gambá *Didelphis paraguayensis* Oken, 1816, que, como dissemos, se mostra frequentemente parasitado. Servimo-nos apenas de animais criados em laboratório e mantidos em local a prova de insetos.

As fêmeas contendo filhotes recém-nascidos, na bolsa marsupial, eram mantidas em gaiolas até a desmama destes. Após a desmama, os filhotes eram conservados em gaiolas idênticas, recebendo, durante dois meses, alimentação consistente em pulmão de mamífero e mamão. Só então eram infestados, usando técnica idêntica a que nos serviu para infestar gatos com larvas da *P. praeputialis* (6).

A infestação consistia na ministração, a cada animal, de número variável de 50 a 150 larvas em terceiro estágio. Empregamos números relativamente grande de larvas por inoculo a fim de assegurar a infestação dos animais. Em virtude da indocilidade destes, não podíamos ter certeza de fazê-los ingerir

um número mínimo desejado. Preferimos não recorrer ao uso de anestésicos a fim de evitar possíveis efeitos destes sobre as larvas ministradas. Após a infestação os animais eram conservados nas mesmas condições. Ao todo infestamos 13 gambás; um foi sacrificado 12 horas depois, a fim de verificarmos a fixação das larvas inoculadas. Os restantes foram sendo sacrificados com intervalos de mais ou menos 20 dias. A partir do 100.º dia, os animais que ainda restavam tiveram as fezes examinadas diariamente pelo método da sedimentação, que havia dado bons resultados para a pesquisa de ovos da *P. praeputialis* no gato (7).

III. ESTUDO DOS OVOS, LARVAS E ADULTOS. As técnicas para obtenção de ovos embrionados ou não e para seu estudo, assim como para estudo das larvas, tanto no grilo como no gambá, foram as mesmas que adotamos em trabalho anterior (6) em que descrevemos o ciclo da *P. praeputialis*. Para facilitar a exposição, lembraremos aqui as medidas efetuadas de acordo com esquema de Cobb:

- A = distância da extremidade anterior à ponta da cauda.
- B = distância da extremidade anterior ao anel nervoso.
- C = distância da extremidade anterior à porção final do esôfago muscular.
- D = distância da extremidade anterior ao poro excretor.
- E = distância da extremidade anterior à junção esôfago-intestino ou seja comprimento do esôfago.
- F = distância da extremidade anterior ao primórdio genital.
- G = distância do anus à ponta da cauda.
- H = largura na altura da junção esôfago-intestino.
- I = largura ao nível da extremidade cefálica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

I. ESTUDO DOS OVOS E DA POSTURA. Os ovos embrionados são elipsoides (fig. 2), possuem casca de duplo contorno e medem $53,5 \pm 1,2 \mu$ de comprimento por $23,8 \pm 1,2 \mu$ de largura (Quadro I). As larvas contidas no in-

terior dos ovos são eliminadas com as fezes do hospedeiro definitivo; possuem esboço de esôfago e intestino e têm individualizada a vesícula excretora (fig. 4). A descrição desta larva faremos adiante.

As fêmeas adultas, quando dissecadas da mucosa gástrica e colocadas em solução fisiológica à temperatura ambiente ou a 37 °C, eliminam única e exclusivamente estes ovos. Em 25 observações, verificamos que as fêmeas neste meio vivem durante 3 a 5 dias e efetuam postura somente nas 10 primeiras horas; embora tenham ovos embrionados nos uteros, não mais os eliminam após aquele prazo.

Os ovos não embrionados não elipsoides (fig. 1), e têm casca de duplo contorno. Medem $50,6 \pm 1,8 \mu$ de comprimento por $24,3 \pm 0,2 \mu$ de largura (Quadro I). No interior destes ovos observa-se uma substância que se modifica segundo a fase evolutiva; nos ovos retirados do extremo distal dos uteros, quando examinados a fresco, esta substância é homogênea; entre os tratamentos uterinos que contém os ovos embrionados e o que tem ovos não embrionados, nota-se uma zona de transição com ovos em várias fases evolutivas. Numa delas, o interior do ovos toma aspecto granuloso, granulos estes que se dispõem regularmente e depois se organizam para formar a larva. (figura 2).

O processo de desenvolvimento do ovo não embrionado é idêntico ao observado na *P. praeputialis* por Zago F.^o (6).

Normalmente os ovos não embrionados não são encontrados nas fezes do hospedeiro. Eles aparecem nas fezes em caso de rompimento de fêmeas em vias de eliminação.

Estes ovos são capazes de se embriionar no meio externo; foi o que verificamos deixando-os em solução fisiológica em frascos fechados ou em fezes, mantidas à temperatura ambiente.

A *Turgida turgida*, comporta-se assim, no que diz respeito à postura e ao desenvolvimento dos ovos, de modo idêntico às espécies de biologia conhecida do gênero *Physaloptera*.

II. O *Gryllus (A.) assimilis* COMO HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO. O *Gryllus (A.) assimilis* infesta-se facilmente com larvas de *T. turgida* através da ingestão de ovos embrionados. Ovos não embrionados quando ingeridos, são eliminados com as fezes.

Os ovos embrionados, uma vez ingeridos, chegam ao reto onde se dá a eclosão; neste local, as larvas penetram na parede intestinal e provocam uma reação tissular que termina pelo encistamento das larvas, processo idêntico a que observamos com a *P. praeputialis* (6).

A resistência do *G. assimilis* infestado é grande, pois, é comum encontrarmos um exemplar albergando 40 larvas. A infestação máxima encontrada no grilo foi de 138 larvas e o maior número por cisto foi de 26 larvas.

A infestação do grilo é estável; mesmo em ninfas infestadas observa-se que as mudas não altera a infestação. A morte observada em alguns exemplares parasitados, nem sempre pode ser atribuída à infestação; parece que ela se deve antes à impropriedade do meio onde eles viviam, uma vez que, em igualdade de condições, verificamos a morte de grilos infestados ou não.

A idade do grilo não têm influência sobre a duração do ciclo; nos do lote 15, o ciclo teve a mesma duração que nos do lote 14 e o mesmo ocorreu com o lote 17 quando comparado ao 16 (Quadro III).

Embora a idade não tenha influência sobre a duração do ciclo, o mesmo não ocorre com a intensidade de infestação, que foi três vezes maior nos adultos que nas ninfas. Em ambas as idades, o índice de infestação foi de 100% e a intensidade de infestação variou de 18 a 138, com a média de 44 larvas, para os adultos, e de 2 a 35, com média de 15, para as ninfas. Parece, porém, que a diferença de infestação observada nas duas idades não corre por conta da maior suscetibilidade dos adultos, mas é devida ao maior volume de pão contaminado ingerido pelos adultos. Pensamos assim por nunca termos observado, nas ninfas em fase inicial de infestação, a eliminação de ovos integros com as fezes, nem larvas mortas.

O sexo não influencia na duração do

ciclo. A temperatura tem, porem, influencia grande; em temperatura mais alta o ciclo se completa em menos dias. Os lotes numeros 14 e 15, conservados em sala em que a temperatura media das maximas foi de 26,2 °C e as das minimas 23,8 °C, o ciclo se completou com 16 dias (Quadros II). Nos lotes 16 e 17, conservados em sala à temperatura ambiente, em que a media das maximas foi de 21,7 °C e a das minimas 19,3 °C, o ciclo se completou em 37 dias (Quadro III).

Se compararmos a duração do ciclo da *T. turgida* nos dois lotes, cuja evolução se deu em sala aquecida (14 e 15) com os dois (16 e 17) cuja evolução se deu em temperatura ambiente, vemos que houve uma diferença de 21 dias entre eles, motivada por uma variação de 4,5 °C em media.

Em natureza, nunca encontramos o *G. (A.) assimilis* albergando larvas de *T. turgida*; dada porem a sua grande suscetibilidade em condições experimentais, sua tolerancia à infestação, a não quitinização do cisto, fenomeno que implica na morte da larva (4), e sua alta intensidade de infestação em condições experimentais, somos levados a crer que aquele inseto deve ser o hospedeiro intermediario natural. O não encontro deste grilo naturalmente infestado talvez tenha sua explicação no seguinte fato: durante o periodo de 1953 a 1955, foram feitas na Fazenda Monte Alegre e seus arredores, local onde este trabalho foi executado, capturas em massa de didelfidas, para a pesquisa de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909; disto resultou a quase extinção de adultos nesta região. Os gambás capturados em 1956 (ano em que este trabalho foi feito) eram todos jovens e as necropsias revelavam formas imaturas do parasita fixados à mucosa gastrica ou então eram negativos.

III. HOSPEDEIRO DEFINITIVO. O gambá *Didelphis paraguayensis*, é o hospedeiro definitivo normal da *T. turgida*, muito embora alguns animais de laboratorio, possam se infestar, como veremos em trabalho futuro.

O gambá infesta-se pela ingestão de larvas em terceiro estadio, mas não se

infesta com larvas em segundo estadio. As larvas em terceiro estadio, são infestantes desde o dia da muda. Uma vez em terceiro estadio, elas são infestantes enquanto durar o grilo.

O modo de fixação à mucosa gastrica e a biologia dos exemplares fixados à mucosa gastrica são identicas aos descritos para a *Physolaptera praeputialis* (6).

IV. ESTUDO DO CICLO EVOLUTIVO. O ciclo evolutivo da *T. turgida* pode ser dividido em dois periodos: a) periodo embrionario e b) periodo pós-embrionario, como sucede com a *P. praeputialis*.

O primeiro periodo refere-se a evolução de helminto no interior do ovo. O segundo periodo, refere-se a evolução do helminto extra-ovo, isto é, começa com a ingestão do ovo pelo hospedeiro intermediario e compreende os seguintes estadios:

- 1 — Primeiro estadio, com duas fases distintas: uma pré-cistica e outra cistica, passando-se ambas no hospedeiro intermediario.
- 2 — Segundo estadio ou estadio cistico, que se passa tambem no hospedeiro intermediario.
- 3 — Terceiro estadio, compreendendo duas fases: uma fase cistica ou latente, que se passa no hospedeiro intermediario, e outra extra-cistica, que se passa no hospedeiro definitivo.
- 4 — Quarto e quinto estadios: ambos se passam no hospedeiro definitivo.

A — PERIODO EMBRIONARIO

Este periodo compreende a segmentação da celula ovo até a formação de uma larva. Observam-se em *T. turgida* fenomenos identicos aos que se passam nos demais nematodeos e que conduzem à formação do ovo larvado. As descrições deste periodo da *P. praeputialis*, que fizemos (6), aplicam-se à *T. turgida*.

O ovo larvado de *T. turgida*, tanto aqueles retirados das porções iniciais dos uteros, como aqueles que são eliminados com as fezes ou em solução fisiologica, possuem uma larva identica àquela que descrevemos adiante e que sai do ovo no reto do grilo.

Q U A D R O I
DADOS BIOMETRICOS EM μ , SOBRE 30 OVOS NÃO EMBRIONADOS E 34
OVOS EMBRIONADOS

	<i>Embrionados</i>		<i>Não embrionados</i>	
	Comprimento	Largura	Comprimento	Largura
MEDIA	53,59	23,77	50,46	24,35
DES. PAD.....	1,23	1,23	1,79	0,20
COEFICIENTE VARIÁVEL .	2,30	5,17	3,55	0,82

B — PERIODO PÓS-EMBRIONARIO

1 — PRIMEIRO ESTADIO. a) *Fase pré-cística*. Os ovos larvados, depois de ingeridos pelo grilo, chegam ao reto, local onde se dá a eclosão.

O tempo que decorre entre o momento da ingestão de ovos pelo grilo e o da eclosão foi, para a *T. turgida*, de cinco horas e meia ou melhor, este foi o tempo gasto para que os ovos ingeridos atingissem o trato retal; logo a seguir deu-se a eclosão. Grilos autopsiados meia hora antes, isto é, com cinco horas após a alimentação infestante, mostraram ainda ovos intatos em trânsito no intestino medio.

Uma vez iniciada a eclosão, passamos a sacrificar grilos de 2 em 2 horas e fixar o reto para corte histológico. Verificamos que a eclosão cessou somente 23 horas e 30 minutos após a alimentação infestante. O prazo relativamente longo, de 18 horas entre inicio e fim da eclosão, é justificado pela contaminação dos tratos intestinais com ovos larvados.

Os grilos sacrificados com cinco horas e meia, mostraram larvas livres na luz retal, ovos larvados e larvas já em penetração na parede retal. Isto permitiu-nos concluir que a penetração das larvas se faz imediatamente após a eclosão.

Morfologicamente uma larva em primeiro estadio, no momento que sai do ovo (fig. 5) caracteriza-se por apresentar três espinhos cefalicos, dois laterais e um mediano, este implantado em nível superior; cauda com curvatura ventral

acentuada quando viva, mas que desaparece ou torna-se pouco evidente após fixação; esofago e intestino com paredes externas vestigiais. O intestino não tem limites nitidos na porção posterior e se mostra interrompido na porção anterior do terço posterior. O esofago não tem bulbo nitido; a glandula excretora é rudimentar e tem forma triangular, com apice voltado para fora.

A penetração da larva na parede retal, se faz ativamente. Decorridas 48 horas após a eclosão, nota-se no esofago um bulbo posterior nitido e a glandula excretora torna-se mais evidente.

As destruições e reações tissulares, provocadas pelas larvas de *T. turgida* no grilo, são idênticas às descritas para *P. praeputialis* (6).

Durante toda a fase pré-cística, permanecem as estruturas acima assinaladas.

No quinto dia de infestação, as larvas retiradas de 5 grilos do lote 14, achavam-se todas encistadas.

A fase pré-cística, teve inicio com larvas apresentando um comprimento medio de $217,15 \pm 6,36 \mu$; no quarto dia após a infestação (ultimo dia desta fase) as larvas mediram em media $245,43 \pm 88,56 \mu$ (Quadro II). Durou esta fase 4 dias. O crescimento medio das larvas em primeiro estadio durante a fase pré-cística, foi de $28,32 \mu$.

Morfologicamente é difícil distinguir uma larva de *T. turgida* na fase pré-cística da larva de *P. praeputialis* nesta mesma fase. Em *T. turgida*, as larvas são mais finas e a cuticula é mais grossa, os espinhos cefalicos são meno-

QUADRO - II

MEDIDAS DIARIAS EM μ , DAS LARVAS EM PRIMEIRO ESTADIO

Dias Dist		FASE PRÉ-CISTICA				FASE CISTICA					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	MD	217,15	232,65	240,38	245,43	303,00	338,68	390,19	425,21	467,29	651,11
	D.P.	6,36	7,26	67,83	88,56	26,66	33,30	27,11	19,01	51,70	151,80
	C.V.	2,92	3,12	28,17	36,08	8,79	9,83	6,95	4,47	11,07	23,31
D	MD	79,04	81,65	82,03	84,95	93,92	105,19	107,56	115,38	116,00	124,56
	D.P.	1,28	1,45	7,40	2,09	27,75	7,35	8,38	3,08	2,88	23,92
	C.V.	1,62	1,78	9,02	2,46	29,55	6,99	7,79	2,67	2,48	19,20
E	MD	104,72	106,87	108,56	111,24	121,29	135,01	160,85	162,61	172,96	236,67
	D.P.	1,68	1,88	2,21	2,67	5,92	86,58	6,48	5,70	14,12	48,37
	C.V.	1,60	1,76	2,04	2,40	4,88	64,13	4,03	3,51	8,16	20,44
H	MD	10,81	12,80	13,19	15,03	24,30	27,06	31,82	32,35	34,58	40,40
	D.P.	1,07	1,16	1,03	1,17	2,15	9,87	2,27	2,25	3,84	22,19
	C.V.	9,90	9,06	7,81	7,78	8,85	36,47	7,13	6,96	11,10	54,93
I	MD	6,90	8,28	9,05	9,58	12,27	14,57	17,40	17,86	21,85	30,63
	D.P.	0,00	1,15	0,58	0,28	1,10	1,10	1,67	1,44	3,71	6,75
	C.V.	0,00	13,89	6,41	2,92	8,96	7,55	9,60	8,06	16,98	22,04
G	MD					51,83	51,90	64,63	65,24	65,78	66,66
	D.P.					5,53	5,46	2,92	3,17	12,95	5,68
	C.V.					19,66	10,52	4,52	4,86	19,68	8,52

res e de mais difícil individualização. A glandula excretora é rudimentar nesta especie.

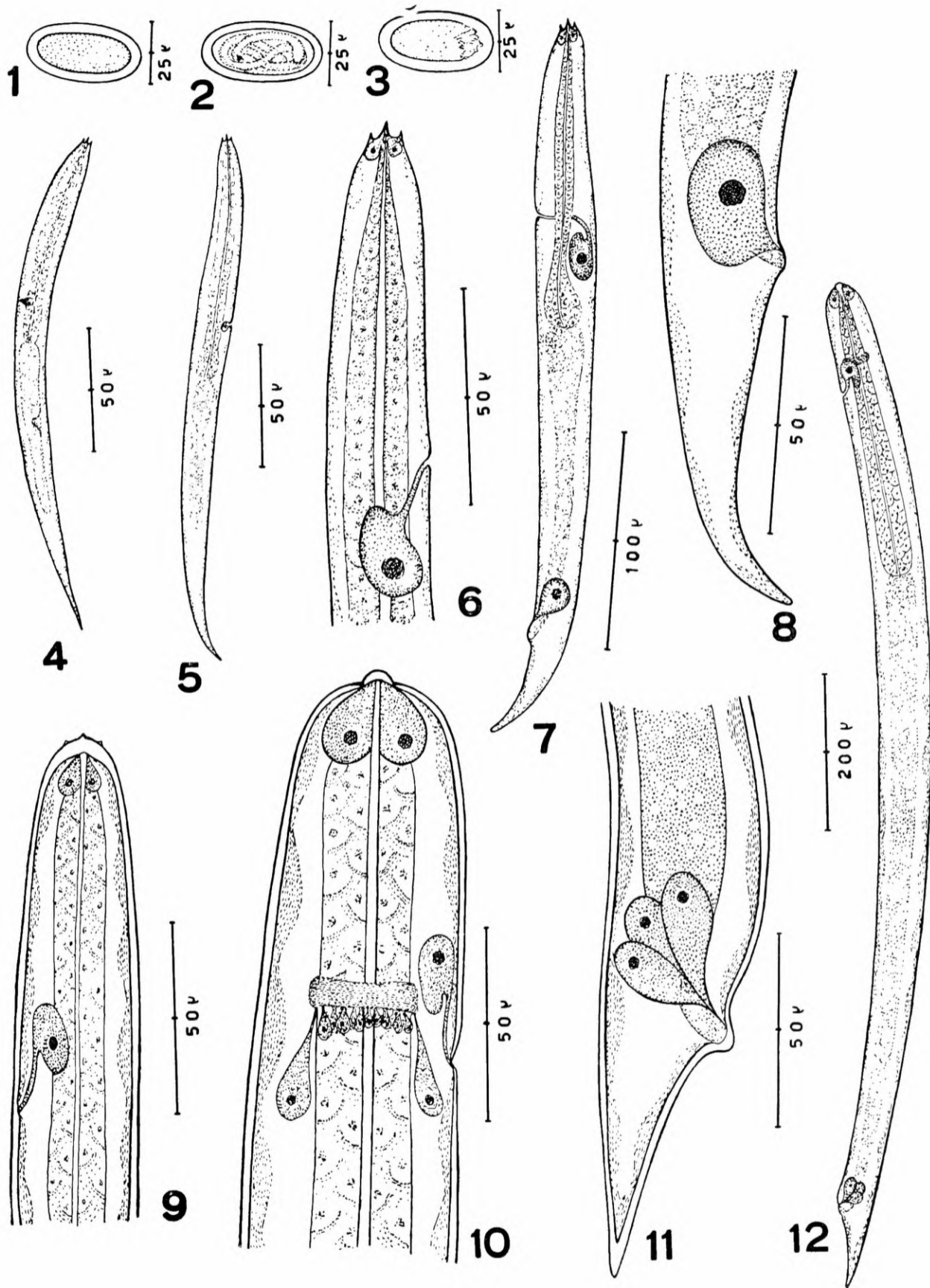
b) *Fase cistica*. — No quinto dia após a infestação, as larvas já se encontram dentro dos cistos e, para obtê-las, é necessário romper com estiletos o tecido reacional que se formou e as envolveu.

A reação que se forma em torno da larva é idêntica à observada por Schell (3) para a *P. hispida* na *B. germanica* e por Zago F.^o (6) na *P. praeputialis*. A larva encistada mostra a cuticula delicada (fig. 7); as estruturas internas são bem individualizadas e distintas; o esofago mostra células do tipo epitelial e se apresenta com um nítido bulbo posterior; o intestino é um tubo reto que se prolonga posteriormente, indo se abrir

externamente pelo anus; a cauda é curva ventralmente, aparece a glandula anal muito desenvolvida (fig. 8) e na extremidade anterior surgem as glandulas cefalicas, em numero de duas (figura 6).

Esta é a fase de crescimento do primeiro estadio. Teve inicio no quinto dia após a infestação com larvas medindo em media $303,00 \pm 26,66 \mu$; no decimo dia, epoca em que terminou o primeiro estadio, as larvas mediam $615,11 \pm 151,80 \mu$ em media (Quadro III). O tamanho observado no ultimo dia do primeiro estadio é três vezes maior que o observado no primeiro dia da fase pré-cistica. Durante a fase cistica, as larvas em primeiro estadio cresceram $348,11 \mu$ em media.

Uma vez formado o cisto, este per-



Turgida turgida (Rud., 1819) Trav., 1920

Figuras: 1 - ovo não embrionado no útero. 2 - ovo embrionado nas fezes. 3 - ovo eclodido nas fezes do grilo. 4 - larva em 1.º estágio na fase pre-cística, 5,30 horas após a infestação. 6 - extremidade anterior de uma larva na fase cística, 5 dias após a infestação. 7 e 8 - corpo e cauda desta mesma larva. 9 - extremidade anterior de uma larva em muda do 1.º ao 2.º estágio, 10 dias após a infestação. 10 - extremidade anterior de uma larva do 2.º estágio, 11 dias após a infestação. 11 e 12 - extremidade posterior e aspecto geral desta mesma larva.

dura enquanto durar o hospedeiro intermediario. No interior dos cistos dá-se a segunda muda e desenvolvem-se as larvas em terceiro estadio e assim permanecem em estado latente, esperando que o grilo seja ingerido pelo hospedeiro definitivo, onde continuam a evolução.

Os cistos podem estar localizados no interior da parede intestinal ou apresentar-se como apêndices desta, o que é mais frequente. Quanto ao trato em que se localizam, eles são mais frequentes no reto propriamente dito que na ampola retal, diferindo neste particular dos da *P. praeputialis*, cuja localização mais comum é na parede retal. Como localização acidental, encontramos um cisto situado no tubo de Malpigi. Nunca encontramos cistos na cavidade do cor-

po, como descreveu Alicata (1) em *B. germanica*.

Como caracteres que permitem separar as larvas de *T. turgida* das de *P. praeputialis*, podemos assinalar, além dos referidos para a fase pré-cística, as diferenças de tamanho, que se observam nas medidas E, H, I (Quadro II), sendo estas maiores em *P. praeputialis*. Também a medida A em *T. turgida*, durante a fase final do período cístico, é cerca de 100 μ maior.

Alicata (1), estabeleceu o prazo de 14 dias para a duração do primeiro estadio, sem no entanto se referir à temperatura em que se deu a evolução. Nas condições de temperatura em que trabalhamos (Quadro III), o primeiro estadio durou 10 dias.

Q U A D R O III
DURAÇÃO DO CICLO EVOLUTIVO NO HOSPEDEIRO INTERMEDIARIO

N.º do lote	Fase	N.º de grilos	1.ª muda	2.ª muda	Temperatura media em °C	
					Max.	Min.
14	Adultos	139	10	16	26,2	23,8
15	Ninfas	70	10	16	26,2	23,8
16	Adultos	180	24-27	35-37	21,7	19,3
17	Ninfas	102	25-27	35-37	21,7	19,3

2. SEGUNDO ESTADIO. No decimo primeiro dia após a infestação, em 3 grilos necropsiados, retiramos 75 larvas; destas, 6 estavam em muda e as restantes já se encontravam em segundo estadio.

As larvas em muda mostravam a cutícula externa afastada do corpo (fig. 9), destacamento este bem visível na extremidade anterior.

Morfologicamente as larvas em segundo estadio caracterizam-se por apresentar o corpo revestido por duas delicadas cutículas; uma externa, obliterante dos orificios naturais, e uma interna, que os deixa livres (fig. 12), a semelhança do que ocorre com a *P. praeputialis*.

A extremidade anterior (fig. 10) é arredondada e não possui lábios, nem

papilas. As glândulas cefálicas, em um par volumoso, se mostram bem desenvolvidas. O poro excretor é obliterado pela cutícula externa. O esôfago é reto e constituído por células epiteliais; neste órgão e pouco acima do poro excretor está o anel nervoso. A porção inicial do esôfago é afilada e não apresenta células musculares; a distal é dilatada e não apresenta o bulbo. O intestino é um tubo reto e se abre para o exterior pelo anus, o qual se acha no segundo estadio, obliterado pela cutícula externa. A cauda é aguçada. (fig. 11) e mostra nitidamente o revestimento externo por dupla cutícula. As glândulas anais são em número de três; seu ducto excretor abre-se na borda superior do anus. O anel nervoso somente depois do segundo dia após a muda se mostrou

bem individualizado; antes apresentava-se como um cordão celular de limites pouco nitidos.

No 13.º dia após a infestação, ou seja, três dias após a primeira muda e nas condições em que trabalhamos, apareceu o primórdio genital, localizado na altura do terço anterior do intestino e de situação ventral. Está situado do mesmo lado em que se abrem o anus e o poro excretor. Durante o tempo que durou o segundo estadio, o primórdio genital se localizou além da

união esofago com o intestino (Quadro IV), isto é, a distancia da extremidade anterior ao primórdio genital, foi sempre maior que o comprimento do esofago. Esta questão será analisada no terceiro estadio.

Podemos considerar o segundo estadio como a fase de crescimento das larvas de *T. turgida* no hospedeiro intermediario; iniciou-se no 11.º dia após a infestação, com larvas apresentando comprimento medio de $812,71 \pm 211,73 \mu$, e no 15.º dia isto é, 5 dias

QUADRO - Nº IV

MEDIDAS DIARIAS EM μ , DE LARVAS EM SEGUNDO ESTADIO

DIST.	DIAS	11	12	13	14	15
A	MED	812,71	1.152,74	1.292,46	1.316,36	1.433,86
	D.P.	211,83	127,91	160,42	165,02	148,37
	C.V.	26,06	11,10	12,41	12,54	10,35
B	MED		105,04	119,18	119,51	124,56
	D.P.		9,57	23,01	12,17	10,38
	C.V.		9,11	19,31	10,18	8,33
D	MED	144,09	163,62	172,37	176,07	185,16
	D.P.	24,00	9,71	8,77	7,81	11,51
	C.V.	16,66	5,93	5,09	4,44	6,22
E	MED	274,38	427,23	456,52	462,92	565,26
	D.P.	56,51	41,27	49,71	71,61	90,62
	C.V.	20,60	9,70	10,89	15,47	16,03
F	MED			686,12	715,49	746,40
	D.P.			81,48	40,07	84,37
	C.V.			18,88	5,60	11,30
G	MED	66,66	66,66	66,66	66,66	66,66
	D.P.	5,68	5,68	5,03	6,81	6,27
	C.V.	8,52	8,52	7,55	10,22	9,41
H	MED	46,79	58,24	58,91	62,28	66,99
	D.P.	4,95	2,19	4,66	5,35	8,16
	C.V.	10,58	3,76	7,91	8,59	12,18
I	MED	45,11	47,13	48,48	50,16	50,50
	D.P.	6,46	5,51	4,10	1,84	0,00
	C.V.	14,32	11,69	8,46	3,67	0,00

após a primeira muda, estas alcançaram o comprimento medio de 1.433,86 \pm 148,37 μ . Isto equivale a dizer que no segundo estadio as larvas cresceram em media de 621,15 μ (Quadro IV). As larvas em segundo estadio são pouco ativas e incapazes de romper os cistos.

Morfologicamente as larvas de *T. turgida*, em segundo estadio diferem das de *P. praeputialis* apenas pelo tamanho. O comprimento (distancia A) é em *P. praeputialis*, no inicio, menor que em *T. turgida*, mas no final deste estadio torna-se bem superior; o mesmo ocorre com as distancias B, D, E, e I (Quadro IV). A distancia G desde o inicio deste estadio até o fim foi sempre menor na *T. turgida*, o mesmo ocorrendo com a distancia H (6).

Nas condições em que trabalhamos, o segundo estadio durou 5 dias, pois os grilos necropsiados no 16.º dia depois da infestação mostraram as larvas já em terceiro estadio (Quadro V).

Alicata (1), não precisa exatamente a duração do segundo estadio em *B. germanica*, pois as baratas sacrificadas com 12 dias de infestação, mostraram larvas em primeiro, em segundo e em muda do primeiro para o segundo estadio; no 27.º dia após a infestação, quando sacrificou o segundo lote de baratas, apenas encontrou larvas em terceiro estadio.

3. TERCEIRO ESTADIO. a) — *Fase cística ou latente*. Aos 16 dias de infestação em 138 larvas colhidas em 3 grilos necropsiados, duas estavam em muda para o terceiro estadio e as restantes já em terceiro estadio. Consideramos por isto o 16.º dia como o inicio do terceiro estadio.

As larvas em muda do segundo para o terceiro estadio mostram o corpo recoberto por três cutículas (figs. 13 e 14); a externa, que está sendo destacada, e duas outras que são a externa e a interna do terceiro estadio, conforme adiante veremos. A extremidade posterior (fig. 13) de uma larva em muda, mostra a cutícula descolada ao nível do anus, formando nesta altura varias dobras. A extremidade anterior (fig. 14) mostra a cutícula externa deslocada dos

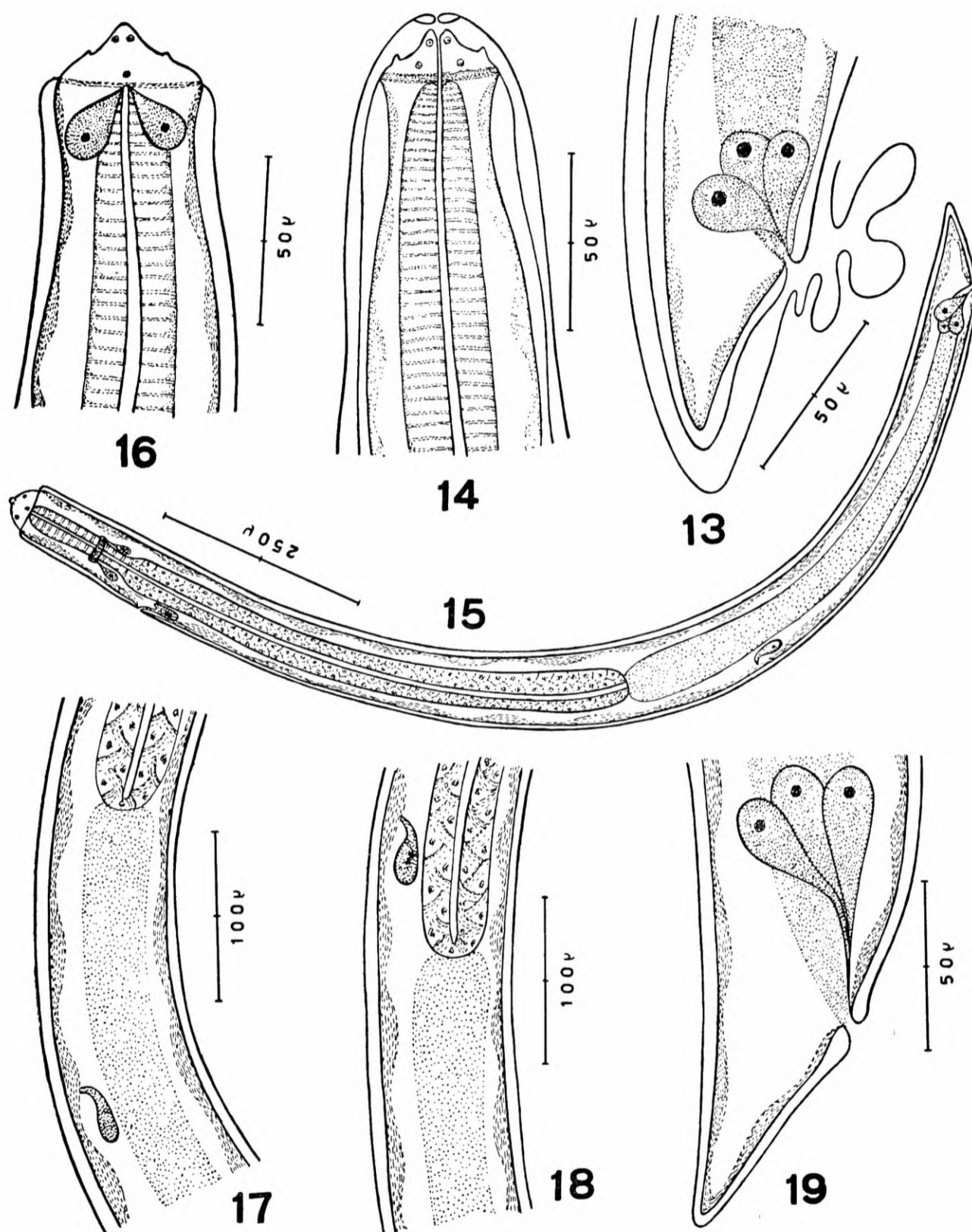
labios e internamente já se notam os caracteres da larva em terceiro estadio.

Estas larvas caracterizam-se por apresentar (fig. 15) o corpo revestido por duas cutículas: a externa, se insere lateralmente à cabeça, formando um anel cuticular em torno desta; os orificios naturais são deixados livres por esta cutícula. A interna, reveste intimamente a larva e também deixa livre os orificios naturais.

A extremidade anterior possui dois fortes labios triangulares (fig. 16), um dorsal e outro ventral; ambos possuem apice terminando em dente quitinoso, mercê do qual a larva rasga o cisto por movimentos laterais da cabeça. Cada labio possui cinco diminutas papilas; três são basais e duas localizadas proximas à base do dente externo. A extremidade posterior é romba (fig. 19). As glandulas cefalicas, devido ao espessamento da larva, são pouco perceptíveis, mas a excretora, a esofagiana e as três anais, mostram-se bem desenvolvidas. O esofago mostra-se dividido em duas porções, uma anterior estreita, a muscular, e uma posterior e mais larga, a glandular. No terço distal da porção muscular do esofago, localiza-se o anel nervoso. O intestino possui uma curvatura logo após sua junção com o esofago, a qual é desfeita quando a larva é fixada.

O primordio genital em larvas de terceiro estadio, se localiza em distancias diferentes. Em algumas ele está mais proximo da porção anterior, ou seja a distancia que o separa do extremo anterior é mais curta que o comprimento do esofago (fig. 18). Em outras larvas, ele se localiza após a união esofago-intestino, ou seja, a distancia que o separa do extremo anterior é maior que o esofago (fig. 17).

Os autores que têm estudado larvas de espirurideos em terceiro estadio, têm chamado a atenção para as diferenças sexuais que aparecem neste estadio, diferenças estas que se traduzem pela situação do primordio genital em relação à extremidade anterior. Estando este localizado mais proximo da extremidade anterior, trata-se de uma larva que evoluirá para femea; se mais distante da



Turgida turgida (Rud., 1819) Trav., 1920

Figuras: 13 extremidade posterior de uma larva em muda do 2.^o ao 3.^o estadio, 15 dias após a infestação. 14 *idem*, extremidade anterior. 15 3.^o estadio, 16 dias após a infestação. 16 *idem*, extremidade anterior. 17 primordio genital situado após a união esofago-intestino, 3.^o estadio aos 100 dias após a infestação. 18 *idem*, primordio genital situado antes da união esofago-intestino. 19 extremidade posterior de uma larva do 3.^o estadio, 16 dias após a infestação.

extremidade anterior ela evoluirá para macho.

Interessante é assinalar que o primordio genital, em larvas do segundo estadio, sempre se localiza depois da junção esofago-intestino. As medidas de F, realizadas em 62 larvas neste estadio, quando projetada em grafico, dão uma curva unimodal (graf. 1). As medidas efetuadas em larvas do terceiro estadio, no dia da muda, isto é, 16 dias depois da infestação, também quando projetadas em graficos, não mostram diferenças sexuais (graf. 1). No 21.º dia após a infestação, estas diferenças se tornam mais evidentes e a projeção grafica, mostra uma curva bimodal típica (graf. 2). O tipo de curva verificado no 21.º dia depois da infestação, se manteve até 100 dias após a infestação. (graf. 3).

O que acabamos de dizer permite-nos concluir que, embora haja diferenças sexuais em larvas de *T. turgida*, estas somente se evidenciam durante o terceiro estadio, 6 dias após a muda, isto nas condições de temperatura em que trabalhamos.

Como caracteres morfológicos que permitem separar larvas em terceiro estadio de *P. praeputialis* e *T. turgida*, temos os seguintes: em *T. turgida* ha uma constrição cervical proxima da extremidade anterior e as duas cuticulas formam um anel cefalico forte em torno da cabeça; tal anel não se observa em *P. praeputialis*. A *P. praeputialis* é cerca de 1 mm maior que a *T. turgida*, tendo esta metade da largura (H e I) da *P. praeputialis*. De um modo geral, todas as distancias medidas são maiores em *P. praeputialis*.

Este estadio iniciou com larvas medindo em media $1.520 \pm 135 \mu$; o crescimento estacionou 25 dias após a infestação, quando as larvas apresentavam um comprimento medio de $1.582 \pm 92 \mu$ (Quadro V).

b) — *Fase extra-cistica no gambá*. As larvas de *T. turgida* em terceiro estadio continuam sua evolução no hospedeiro definitivo, o gambá, pela infestação passiva.

As larvas, depois de deglutidas, fixam-se logo em seguida à mucosa gas-

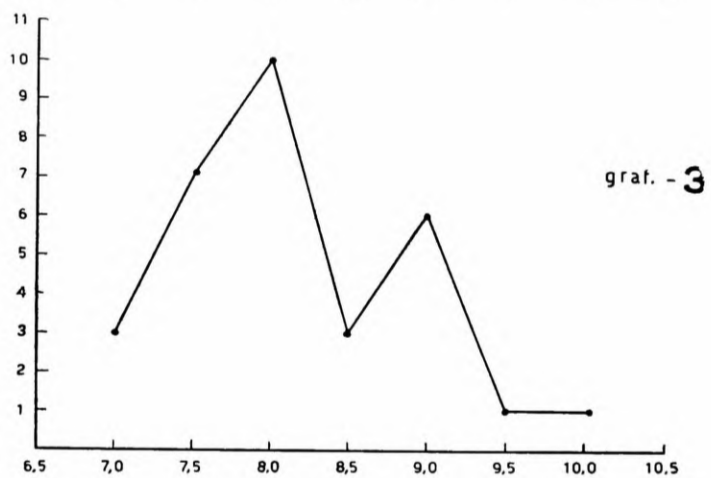
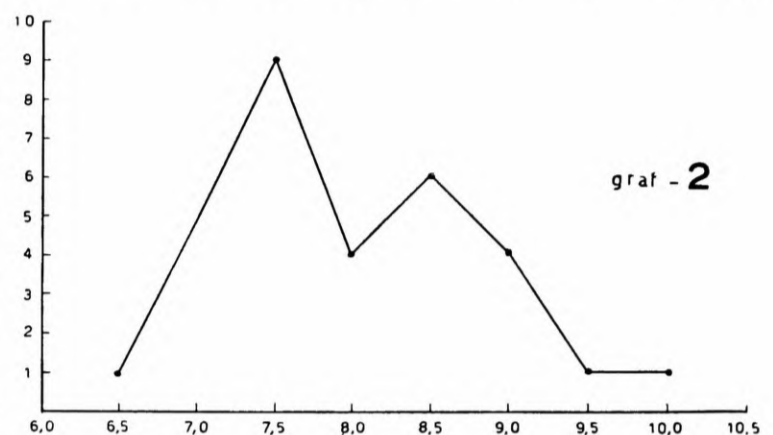
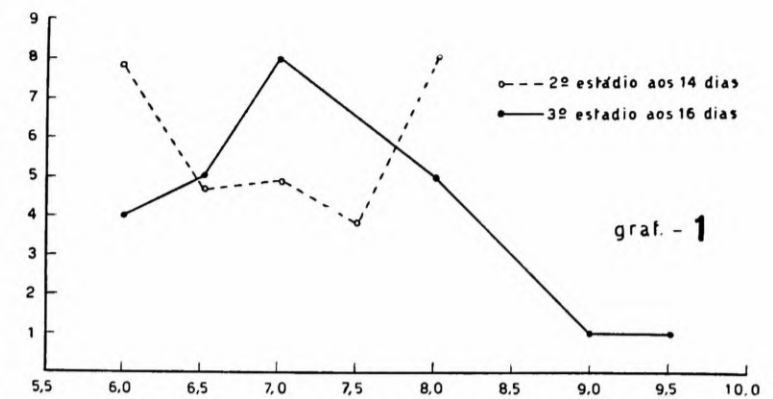


Gráfico 1 linha pontilhada: distribuição das frequências da medida F em larvas do 2.º estadio; linha cheia: idem, em larvas do 3.º estadio, com 16 dias de infestação.

Gráfico 2 idem, 21 dias após a infestação.

Gráfico 3 idem, com 100 dias de infestação.

trica, conforme observamos em gambá autopsiado 12 horas após a infestação.

Durante este estadio, sacrificamos dois gambá; o numero 9, autopsiado com 23 dias de infestação (Quadros VI e VII), no qual verificamos que as formas evolutivas começavam a esboçar o crescimento dos órgãos genitais. As formas femininas mostram nesta idade um inicio de crescimento do útero; nas masculinas a porção anterior do primordio se curva em C e sua porção posterior é um tubo reto que termina em fundo cego. Estas diferenças morfológicas não foram desenhadas por serem idênticas

QUADRO - Nº V
MEDIDAS DIARIAS EM , DE LARVAS EM TERCEIRO ESTADIO NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO

DIAS DIST.		16		18		21		25		28		36		100	
A	MED.	1.520,05		1.533,51		1.573,91		1.582,33		1.582,33		1.582,33		1.582,71	
	D.P.	135,46		120,43		117,91		92,13		66,74		61,25		47,39	
	C.V.	8,91		7,85		7,49		8,82		4,22		3,87		2,77	
B	MED.	127,26		134,66		135,00		142,41		142,41		145,44		146,22	
	D.P.	6,81		7,66		5,61		5,52		5,52		5,03		5,54	
	C.V.	5,35		6,14		4,16		3,88		3,88		3,46		3,79	
C	MED.	155,54		159,68		161,60		168,33		168,33		170,69		171,00	
	D.P.	9,78		7,50		8,78		5,51		5,51		5,52		5,50	
	C.V.	6,29		4,70		5,43		3,27		5,27		3,23		3,22	
D	MED.	199,98		213,11		214,12		214,12		214,45		214,45		214,46	
	D.P.	13,88		14,60		33,97		9,33		8,25		8,25		10,11	
	C.V.	6,94		6,85		15,86		4,36		3,85		3,85		4,71	
E	MED.	719,79		743,69		756,16		826,51		826,51		828,20		828,42	
	D.P.	78,36		56,88		59,03		53,83		53,83		83,44		69,16	
	C.V.	10,89		7,65		7,81		6,51		6,51		10,07		8,35	
F	MED.	♀ 684,96	♂ 852,19	♀ 739,67	♂ 858,50	♀ 748,03	♂ 869,32	♀ 760,86	♂ 949,40	♀ 763,81	♂ 967,91	♀ 776,01	♂ 1004,38	♀ 777,39	♂ 1028,36
	D.P.	56,63	102,54	71,28	57,36	49,54	82,09	51,84	51,21	47,80	50,31	62,53	1653	39,79	34,04
	C.V.	8,27	12,03	9,64	6,68	6,62	9,44	6,81	5,39	6,26	5,20	8,06	162	5,12	3,31
G	MED.	66,66		70,02		70,02		70,70		70,70		70,70		70,70	
	D.P.	5,69		7,00		3,67		0,00		0,00		0,00		0,00	
	C.V.	8,54		9,99		5,24		0,00		0,00		0,00		0,00	
H	MED.	72,04		101,00		101,00		113,45		113,45		113,45		117,49	
	D.P.	5,77		0,00		0,00		8,60		8,60		7,95		5,52	
	C.V.	8,00		0,00		0,00		7,58		7,58		7,01		4,70	
I	MED.	50,50		60,60		60,60		60,60		60,60		60,60		60,60	
	D.P.	0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00	
	C.V.	0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00	

ãs que observamos em *P. praeputialis*, 27 dias depois da inoculação de gatos (6).

Alem das diferenças morfológicas observadas no 23.º dia após a infestação para o lado do primordio genital (Quadros VI e VII) não ha diferenças na estrutura, nem no tamanho das diversas distancias medidas, que possam ser atribuidas ao sexo.

No 44.º dia depois da infestação, sacrificamos o gambá n.º 2; por não apresentarem diferenças morfológicas, as 38 formas colhidas estando todas no terceiro estadio, deixam de ser apresentadas nos quadros VI e VII. Com esta idade as formas evolutivas são apenas maiores que as observadas no gambá n.º 9 e acima referidas.

No 53.º dia após infestação, sacrificamos o gambá n.º 12 e fixados ao es-

tomago encontramos 12 exemplares, dos quais, 5 em terceiro estadio e 7 em quarto estadio (Quadros VI e VII).

Entre as formas em terceiro estadio, havia 3 machos (Quadro VI) e 2 fêmeas (Quadro VII). Morfológicamente são idênticas as observadas no 23.º dia, porem, mais evidente o desenvolvimento do primordio genital.

Consideramos o 53.º dia como termino do terceiro estadio e inicio do quarto. Durante o periodo extra-cístico do terceiro estadio medimos 20 machos e 15 fêmeas. Com 53 dias de evolução a distancia G foi maior nos machos (Quadro VI).

4. QUARTO ESTADIO. Entre os exemplares em 4.º estadio retirados do gambá n.º 12, havia três machos (Quadro VI) e 4 fêmeas (Quadro VII).

QUADRO - Nº VI -

MEDIDAS EM MM, DE FORMAS MASCULINAS NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Nº GAMBÁ		9	12		1	14		5	4
Nº DE FORMAS		17	3	3	49	3	3	14	8
ESTADIO		3º	3º	4º	4º	4º	5º	5º	5º
IDADE DE INF. DIAS		23	53	53	63	118	118	143	198
A	MED.	4,01	4,24	6,60	9,58	19,78	24,00	24,13	28,46
	D.P.	0,54	0,22	0,22	1,51	8,15	1,17	2,22	14,39
	C.V.	13,47	5,19	3,33	15,76	41,20	4,88	9,20	50,56
B	MED.	0,17	0,20	0,22	0,26	0,38	0,43	0,43	0,57
	D.P.	0,02	0,006	0,02	0,04	0,08	0,00	0,03	0,22
	C.V.	11,76	3,00	9,09	15,38	21,05	0,00	6,98	38,60
C	MED.	0,24	0,28	0,28	0,37	0,60	0,64	0,66	0,75
	D.P.	0,03	0,02	0,00	0,04	0,09	0,03	0,05	0,29
	C.V.	12,54	7,14	0,00	10,81	15,00	4,69	7,58	38,67
D	MED.	0,33	0,33	0,38	0,46	0,74	0,82	0,85	0,94
	D.P.	0,04	0,08	0,02	0,05	0,15	0,04	0,05	0,38
	C.V.	12,12	24,24	5,26	10,87	20,27	4,88	5,88	40,43
E	MED.	1,36	1,50	1,76	2,33	3,67	4,34	5,50	5,50
	D.P.	0,07	0,08	0,03	0,31	0,05	0,29	0,38	0,20
	C.V.	5,15	5,33	1,70	13,30	1,36	6,68	6,91	3,64
G	MED.	0,15	0,18	0,24	0,29	0,68	0,92	0,96	1,24
	D.P.	0,02	0,006	0,02	0,04	0,24	0,04	0,08	0,49
	C.V.	13,33	3,33	8,33	1,38	35,29	4,35	8,33	39,51
H	MED.	0,19	0,24	0,28	0,41	0,61	0,75	0,91	0,94
	D.P.	0,02	0,02	0,02	0,07	0,15	0,03	0,02	0,38
	C.V.	10,52	8,33	7,14	17,07	24,59	4,00	2,20	40,42
I	MED.	0,07	0,08	0,10	0,13	0,19	0,25	0,28	0,29
	D.P.	0,04	0,006	0,03	0,02	0,04	0,02	0,01	0,11
	C.V.	57,14	7,50	30,00	15,38	21,05	8,00	0,71	37,93

Após 53 dias depois da infestação os órgãos genitais femininos se mostram bem desenvolvidos. A vulva está inserida na cutícula interna e é obliterada pela externa; após a vulva segue-se a vagina, tubo de paredes musculares que mostra, na extremidade distal, uma dilatação em forma de raquete, o oveje-

tor, de onde partem 9 uteros em posição opistodelfa; os uteros nesta idade são pequenos tubos ainda pouco enovelados tendo fundo cego. Não se notam ainda os ovarios (fig. 24). O aparelho reprodutor masculino apresenta a morfologia já descrita, excetuando sua porção posterior, a qual atinge a altura do

QUADRO - Nº VII

MEDIDAS EM MM, DE FORMAS FEMININAS NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO

Nº GAMBÁ		9	12		1	14	14	5	4
Nº DE FORMAS		13	2	4	46	8	10	28	8
ESTADIO		3º	3º	4º	4º	4º	5º	5º	5º
IDADE INF		23	53	53	63	118	118	143	198
A	MED.	3,98	4,70	7,24	10,09	24,06	30,83	30,93	38,43
	D.P.	0,64	0,03	0,70	2,22	0,38	3,77	3,17	1,06
	C.V.	16,08	0,64	9,67	22,00	1,58	12,23	10,25	2,76
B	MED.	0,17	0,20	0,20	0,26	0,43	0,47	0,51	0,89
	D.P.	0,004	0,02	0,03	0,04	0,04	0,06	0,05	0,04
	C.V.	2,35	10,00	15,00	15,38	9,30	12,77	9,80	4,49
C	MED.	0,23	0,30	0,31	0,37	0,61	0,74	0,75	1,02
	D.P.	0,02	0,03	0,03	0,05	0,09	0,05	0,10	0,06
	C.V.	8,70	10,00	9,68	13,51	14,75	6,76	13,33	5,88
D	MED.	0,30	0,36	0,40	0,46	0,74	0,88	0,89	1,28
	D.P.	0,09	0,01	0,06	0,05	0,008	0,05	0,07	0,52
	C.V.	30,00	2,78	15,00	10,87	1,08	5,68	7,87	4,06
E	MED.	1,33	1,70	2,77	2,43	4,50	5,50	6,01	7,02
	D.P.	0,15	0,40	0,43	0,39	0,42	0,45	0,08	0,70
	C.V.	11,28	23,53	15,52	16,05	9,33	8,18	1,33	9,97
F	MED.	1,48	1,95	2,93	3,19	6,44	7,87	7,90	8,14
	D.P.	0,14	0,15	0,38	0,60	0,90	0,06	1,09	0,05
	C.V.	9,46	7,69	12,97	18,81	16,04	0,76	13,80	0,61
G	MED.	0,13	0,15	0,16	0,19	0,48	0,57	0,57	0,89
	D.P.	0,01	0,01	0,02	0,03	0,06	0,06	0,04	0,03
	C.V.	7,69	6,67	12,50	15,79	12,50	10,53	7,02	3,37
H	MED.	0,20	0,20	0,41	0,45	0,72	0,89	0,96	1,48
	D.P.	0,03	0,01	0,08	0,10	0,11	0,07	0,12	0,57
	C.V.	15,00	5,00	1,95	22,22	15,28	7,87	12,50	38,51
I	MED.	0,07	0,08	0,10	0,14	0,22	0,29	0,36	0,38
	D.P.	0,005	0,00	0,02	0,011	0,03	0,04	0,05	0,06
	C.V.	7,14	0,00	12,00	7,86	13,64	13,79	13,89	12,50

anus e aí se dilata. Não se observam espículos nesta idade.

Morfologicamente as larvas em quarto estadio com esta idade caracteriza-se por possuir o corpo revestido por dupla cutícula; a interna reveste o corpo deixando livre todos orifícios naturais inclusive a vulva; a cutícula externa é grossa, mostra-se com numerosas estrias verticais e oblitera a vulva, mas deixa livre os demais orifícios naturais. A cabeça possui dois fortes labios, tendo em sua porção apical uma formação ponteguda e quintinosa, o dente externo (fig. 20). Cada labio mostra cinco pequenas papilas; três basais e duas apicais, situadas na base externa do dente externo. A cabeça quando examinada pela fase dorsal ou ventral (fig. 20), mostra internamente ao labio uma placa de aspecto arredondado; examinando, porém, a cabeça pelas faces laterais, observá-se que esta estrutura é uma placa dentaria que forma o denticulo interno (fig. 21). Delimitando a região cefálica ha um grosso anel de aspecto carnosos, sobre o qual a cutícula externa se flete.

A cauda da femea (fig. 22) é romba e mostra uma papila localizada na porção posterior do terço mediano da distancia que vai do anus à ponta da cauda. No macho a cauda é mais ponteguda que na femea e a distancia que vai do anus à ponta da cauda é maior. Não possuem os machos asa caudal, mas com grande aumento, observam-se três papilas pré-anais (fig. 23) dispostas em triangulo. Na região pós-anal ha 6 papilas, uma situada na porção posterior do terço mediano da distancia que vai do anus à ponta da cauda e cinco situadas na porção anterior do terço anterior desta região.

O 118.º dia após a infestação foi considerado como termino do quarto estadio, pois, o gambá n.º 14 (Quadros VI e VII), sacrificado nesta epoca, mostrou 11 formas em quarto estadio e as demais em quinto. Morfologicamente as formas retiradas do gambá 14 diferiram das retiradas dos animais 1 e 12 por possuírem os órgãos genitais completamente desenvolvidos nos dois sexos e por terem o corpo revestido por três cutículas.

Os órgãos genitais masculinos se completam com o aparecimento de dois espículos pouco quitinosos e ha um esboço de asa caudal. Nas femeas observa-se o completo desenvolvimento dos uteros, os quais, em numero de nove, se enovelam em posição posterior à vulva. Cada utero já possui o seu ovario. Não se observam ainda ovos nem ovulos no interior dos uteros.

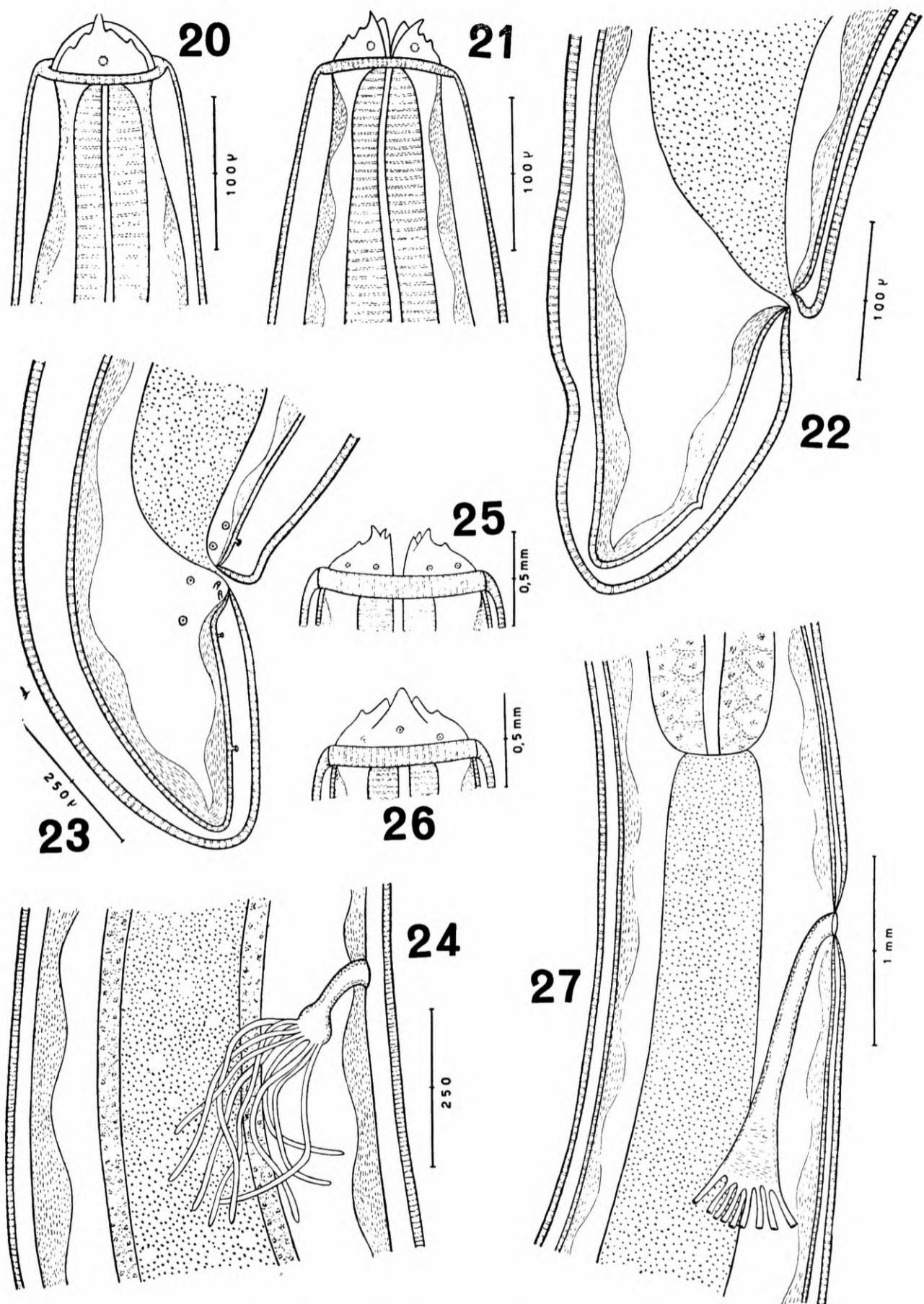
As três cutículas que revestem as formas evolutivas nos ultimos dias do quarto estadio, se dispõem do seguinte modo: a externa tem os caracteres já descritos nas larvas com 53 dias de idade, isto é, oblitera a vulva; a mediana corresponde à interna vista aos 53 dias após a infestação e a interna reveste intimamente toda larva, deixando livres os orifícios naturais.

Nestas formas evolutivas, nota-se na região cervical um par de deirides desenvolvidos, situados na altura do poro excretor.

As femeas no final do quarto estadio (Quadro VII) são em media maiores que os machos, sendo pois, possível a olho nu separar os dois sexos; demais os machos apresentam cauda enrolada ventralmente. Alem disto, ao exame microscopico as femeas mostram o esofago mais longo que os machos (Quadro VI) ao passo que os machos possuem a distancia que vai do anus à ponta da cauda um pouco maior que a das femeas.

Em resumo, as larvas em quarto estadio caracterizam-se por apresentar na região cefálica um denticulo interno (fig. 21); os machos possuem cauda romba e curva na qual se notam 9 papilas, sendo 3 pré-anais e 6 pós-anais das quais 5 são bem proximas do anus e uma isolada, situada na porção posterior do terço mediano; as femeas têm cauda romba e com uma unica papila situada na região posterior do terço mediano, e apresentam a vulva obliterada pela cutícula externa.

O quarto estadio iniciou-se aos 53 dias com larvas medindo em media $6,60 \pm 0,22$ mm (Quadro VI) para os machos e $7,24 \pm 0,70$ mm para as femeas (Quadro VII); no 118.º dia, considerado o termino deste estadio, as formas masculinas e femininas atingiram o



Turgida turgida (Rud., 1819) Trav., 1920

Figuras: 20 - 4.º estadio, extremidade anterior vista dorsalmente, 63 dias de infestação. 21 - *idem*, vista lateral. 22 - extremidade posterior de uma fêmea do 4.º estadio, 63 dias de infestação. 23 - *idem*, do macho. 24 - bifurcação dos uteros, 4.º estadio, 63 dias de infestação. 25 - 5.º estadio, extremidade anterior, vista de lado. 26 - *idem*, vista dorsal. 27 - bifurcações uterinas observadas no estado adulto.

comprimento medio de $19,78 \pm 8,15$ mm e $24,06 \pm 0,38$ mm respectivamente.

5. QUINTO ESTADIO. Entre os exemplares colhidos no animal 14 no 118.º dia após a infestação, havia 13 exemplares em quinto estadio, 3 machos (Quadro VI) e 10 femeas (Quadro VII).

Caracteres da cabeça. — A cabeça apresenta-se com os caracteres da sub-familia *Physalopterinae*, isto é, possui dois fortes labios, tendo cada um, em sua face externa, 5 papilas, três inseridas na base, estando mais ou menos no mesmo nivel e implantadas a distancias aproximadamente iguais (fig. 26) e mais duas papilas, uma de cada lado, inseridas acima das primeiras, na altura da metade do labio; estas ultimas são mais volumosas e proeminam externamente.

No apice de cada labio, nota-se um dente externo forte e com ponta romba. Internamente ha dois denticulos proeminentes. Quando o labio é examinado pela face dorsal (fig. 26) ou ventral, os dois denticulos internos são laterais ao dente externo. Quando, porém, examinados de lado (fig. 25) os denticulos internos formam uma fileira na face interna do dente externo.

Separando a cabeça do resto do corpo, ha uma coleira carnosa espessa sobre a qual se flete a cuticula externa.

O corpo é revestido por duas cuticulas; a externa, espessa, forma varias extriações transversais em finos aneis em torno do corpo; interna, mais delicada, reveste intimamente o corpo. Ambas deixam livres os orificios naturais e as papilas.

Caracteres da cauda. Nas femeas a cuticula forma pequenas pregas acima e abaixo do anus (fig. 31). A porção posterior da cauda mostra duas delicadas papilas inseridas uma ao lado da outra (fig. 30). Nos machos, a cuticula externa adere à parede do corpo acima do anus e a partir daí, forma uma desenvolvida asa caudal que é percorrida por estrias longitudinais. A face ventral da cauda possui escamas em V (figs. 32 a 34) e mostra uma serie de papilas. Ha dois pares de papilas semi-

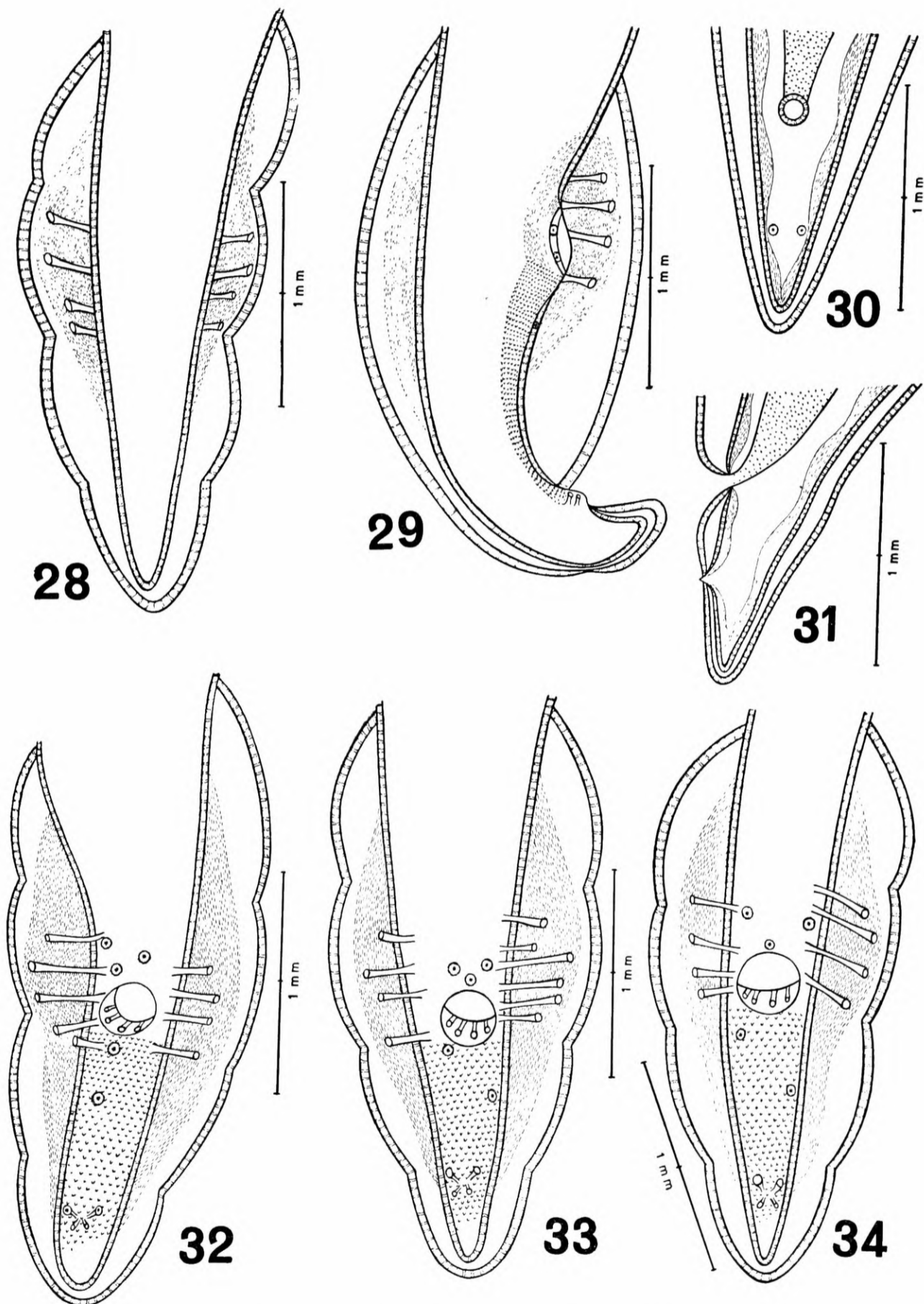
-pedunculadas inseridas em um tuberculo localizado no terço posterior da cauda, sendo que, o par posterior é menos desenvolvido (fig. 32). Entre estas e a borda posterior da cloaca existem duas papilas sesseis, implantadas em linha obliqua e não formando par (figs. 32 a 34). Contornando a cloaca, existem quatro papilas semi-pedunculadas. Na porção pré-cloacal ha três papilas sesseis, sendo uma logo acima da cloaca e duas, que formam um par, localizadas pouco acima, de modo a constituir com a papila impar um triangulo de apice voltado para tras. As papilas pedunculadas são em numero de quatro pares; este foi o aspecto mais frequente encontrado nos machos em quinto estadio (fig. 34). Outro arranjo por nós constatado e que consideramos como anomalia foi a presença, nos machos, de quatro papilas pedunculadas de um lado e cinco do outro (fig. 32) e as vezes seis (fig. 33). Os machos anormais mostravam apenas as papilas pedunculadas modificadas em numero, mas as demais papilas sesseis (pré e post-cloacais) e semi-pedunculadas em numero normal.

Os exemplares machos possuem cauda curva em C para a face ventral; testiculos simples e volumosos e dois espiculos sub-iguais pouco quitinosos.

Quanto ao aparelho reprodutor feminino, tivemos a oportunidade de dissecar 46 femeas em quinto estadio e em todas encontramos 9 uteros com disposição vista na fig. 27. Conforme mostra o quadro VII, a vulva está situada no terço anterior. A distancia que vai do anus à ponta da cauda é, nos machos (Quadro VI), uma vez e meia maior que nas femeas.

Dos exemplares femeas em quinto estadio colhidos no 118.º dia após a infestação, somente dois mostravam ovos não embrionados no interior dos uteros; nos demais, encontramos os uteros vasios. O animal sacrificado com 143 dias de infestação, possuia todos os exemplares em quinto estadio e em 22 das 25 femeas colhidas, verificamos os uteros repletos de ovos não embrionados; somente em 3 eles se mostravam vasios.

No animal 4 (Quadro VII), infestado 198 dias antes, encontramos ovos em-



Turgida turgida (Rud., 1819) Trav., 1920

Figuras: 28 cauda do macho, 5.º estadio, vista dorsal. 29 *idem*, vista lateral. 30 - cauda da fema, 5.º estadio, vista ventral. 31 - *idem*, vista lateral. 32 cauda de um macho com 9 papilas pedunculadas, 5.º estadio, vista ventral. 33 *idem*, com 10 papilas pedunculadas. 34 disposição mais frequente das papilas pedunculadas, 5.º estadio, vista ventral.

brionados nas fezes. Continuamos por mais 6 dias o exame de fezes deste animal e tendo constatado sempre sua positividade, sacrificamo-lo. No estomago encontramos 8 femeas que quando colocadas em solução fisiologica efetuaram a postura. Os ovos eliminados em solução fisiologica eram todos embrionados e ministrados a grilos produziram regularmente a infestação. Consideramos, pois, o ciclo fechado aos 198 dias de infestação. O comprimento medio dos exemplares adultos foi de $38,43 \pm 1,06$ mm e $28,46 \pm 14,39$ mm para femeas e machos respectivamente. Pela observação dos quadros VI e VII, nota-se que os machos e femeas em quinto estadio, aos 198 dias de infestação estavam em franco crescimento, o que equivale dizer não termos alcançado o crescimento maximo da *T. turgida*.

As femeas de *T. turgida* quando fecundadas não apresentam anel quitinoso de coloração marrom em torno da vulva, o qual, se acha presente em *P. praeputialis*, conforme assinalamos em trabalho anterior (6).

RESUMO

A *Turgida turgida* (Rud. 1819) Travassos, 1920 habita o estomago do gambá, *Didelphis paraguayensis* Oken, 1816, aí se fixando fortemente na mucosa.

Femeas adultas quando desprendidas de seu habitaculo e colocadas em solução fisiologica, efetuam postura durante as 10 primeiras horas de permanencia neste meio; podem, porem, aí permanecer vivas até 5 dias, sem mais ovipor.

O *Gryllus (Acheta) assimilis* Fabr. 1775 é um hospedeiro intermediario normal infestando-se em 100% dos casos. Uma vez instalada a infestação, esta perdura enquanto durar o grilo. No grilo a evolução da *T. turgida* depende da temperatura; em temperatura mais elevada o ciclo se completa em menos tempo. Assim, lotes de grilos conservados em sala cuja temperatura variou de 23,8 °C a 26, 2 o ciclo se completou em 16 dias; enquanto outros lotes conservados em ambiente cuja temperatura variou de 19,3 a 21,7 °C o ciclo só se completou entre 35 a 37 dias.

Em linhas gerais a evolução da *T. turgida* é identica à da *Physaloptera praeputialis* von Linstow, 1889, diferindo em pequenos detalhes. Ha, como na *P. praeputialis*, dois periodos na evolução, um embrionario que se passa dentro

do ovo e outro extra-embrionario que compreende cinco estadios.

PRIMEIRO ESTADIO. Passa-se todo no hospedeiro intermediario, em duas fases, a saber: a) fase pré-cistica ou de penetração, em que as larvas, provindas dos ovos que eclodem na luz, penetram na parede intestinal e destroem células e provocam no organismo do grilo uma reação que, sob a forma de uma capsula, envolve as larvas; b) fase cistica em que as larvas encapsuladas crescem e começam a efetuar as mudas. Na fase cistica a larva mostra nitidamente o anus, glandulas anais e cefalicas, até então ausentes ou pouco perceptíveis.

SEGUNDO ESTADIO. Este é um periodo de crescimento da larva no hospedeiro intermediario, durante o qual aparecem o anel nervoso e o primordio genital.

TERCEIRO ESTADIO. Consta de duas fases, uma latente ou cistica, que se passa no grilo, e outra extra-cistica, que se passa no gambá. Em larvas na fase latente do terceiro estadio aparece a divisão do esofago em duas porções, a muscular ou anterior e a glandular ou posterior; pela localização dos primordios genitais em relação à extremidade anterior podem-se separar os sexos destas larvas, alguns dias após a segunda muda. Somente as larvas em terceiro estadio são capazes de infestar o gambá.

Na fase extra-cistica, 23 dias após a infestação do gambá processa-se o desenvolvimento dos orgãos genitais masculinos e femininos.:

QUARTO ESTADIO. É a fase evolutiva onde se individualizam os orgãos genitais masculinos e femininos. Nos machos, observa-se durante os primeiros dias deste estadio que o primordio genital cresce posteriormente indo atingir a altura do anus, aí se dilata formando os testiculos. Não ha espiculos. Nos ultimos dias deste estadio, aparecem dois espiculos quitinosos e surge um esboço de asa caudal.

As femeas mostram a vulva obliterada por uma cuticula externa e já desde os primeiros dias deste estadio, mostram o ovejetor em forma de raquete, de onde partem 9 uteros que no inicio são pequenos tubos de fundo cego. No final do quarto estadio, os uteros crescem e se enovelam posteriormente e completam os demais orgãos femininos.

QUINTO ESTADIO. Neste estadio completam-se os orgãos genitais. As femeas mostram a vulva livre e nos machos aparece e se desenvolve a asa caudal. Na cauda de uma femea notam-se duas papilas pós-anais situadas uma ao lado da outra. Nos machos notam-se 4 pares de papilas pedunculadas; em torno da cloaca existem 4

papilas semi-pedunculadas e no terço posterior da cauda, inseridas em um tuberculo, ha mais dois pares de papilas semi-pedunculadas. Ha tambem três papilas sesseis pré-cloacais e duas pós-cloacais.

Resumidamente o ciclo completo da *Turgida turgida* teve a seguinte duração:

Em *G. (A.) assimilis*

I estadio	{ fase pre-cistica . 4 fase cistica 6 }	10 dias
II estadio	5 "
III estadio (fase cistica)	9 "

Em *Didelphis paraguayensis*

III estadio (fase extra-cistica)	53 dias
IV estadio	63 "
V estadio	80 "

A duração do ciclo evolutivo da *T. turgida* no grilo depende da temperatura; quando a media das minimas foi de 23,8 °C e a das maximas 26,2 °C, o ciclo se completou com 16 dias; quando, porem, a media das minimas foi de 19,3 °C e a das maximas 21,7 °C o ciclo somente se completou entre 35 a 37 dias.

No hospedeiro intermediario, após as larvas terem atingido o terceiro estadio, somente após 9 dias é que elas alcançam seu tamanho maximo, isto quando a temperatura no local onde se dava a evolução era de 23,8 a 26,2 °C; são, porem, infestantes logo após a muda.

REFERENCIAS

- 1 — ALICATA, J. E.: Larval development of the spirurid nematode, *Physaloptera turgida*, in the cockroach, *Blatella germanica*. *Papers on Helm. 30yr Jubileum, K. I. Skrjabin*, p. 11-4, 1937.
- 2 — OPINION 299: Validation under the Plenary Powers, of the generic names *Tettigonia* and *Acrida* in the Order Orthoptera (Class Insecta) as from Linnaeus, 1758 (Ruling supplementary to the Ruling given in *Opinion 124*). *Opin. and Decl. rend. Intern. Comm. Zool. Nomenclature*, 8 (16): 209-36, 1954.
- 3 — SCHELL, S. C.: Studies on the life cycle of *Physaloptera hispida* Schell (*Nematoda: Spiruroidea*) a parasite of cotton rat (*Sigmodon hispidus littoralis* Chapman). *J. Parasit. Urbana* 38 (5): 462-9, 1953.
- 4 — TRAVASSOS, L.: Contribuição para o conhecimento da fauna helmintologica brasileira. X — sobre as especies do genero *Turgida*. *Mem. Inst. Osw. Cruz, Rio de Janeiro*, 12 (1) 73-7, 1920.
- 5 — ZAGO F.º, H.: Contribuição para o conhecimento de hospedeiros intermediarios e definitivos da *Physaloptera praeputialis* von Linstow, 1889 (*Nematoda: Spiruroidea*). *Rev. bras. Biol., Rio de Janeiro*, 17 (4): 518-20, 1957.
- 6 — IDEM: Contribuição para o conhecimento do ciclo evolutivo de *Physaloptera praeputialis* von Linstow, 1889 (*Nematoda Spiruroidea*), *Arq. Zool. Est. S. Paulo*, XI (3): 59-98, figs., 1959.
- 7 — IDEM: Pesquisa e contagem de ovos de *Physaloptera praeputialis* von Linstow, 1889 em fezes de gato. *Rev. bras. Biol., Rio de Janeiro*, 18 (2): 155-8, 1958.

