

**MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

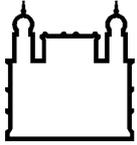
**Mestrado no Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical**

**Padrões morfológicos das *sensilla* antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta, 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853)**

**Amanda Coutinho de Souza**

**Rio de Janeiro**

**Julho / 2013**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**Amanda Coutinho de Souza**

Padrões morfológicos das *sensilla* antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853)

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

**Orientador (es):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Verissimo Junqueira  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia Catalá

**RIO DE JANEIRO**

Julho / 2013

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

S729 Souza, Amanda Coutinho de

Padrões morfológicos das sensilla antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta, 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853) / Amanda Coutinho de Souza. – Rio de Janeiro, 2013.  
xxii,107 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2013.  
Bibliografia: f. 88-99

1. *Rhodnius brethesi*. 2. Sensilla. 3. Asas. 4. Especificidade. 5. *Leopoldinia piassaba*. I. Título.

CDD 571.986

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação em Medicina Tropical**

Amanda Coutinho de Souza

Padrões morfológicos das *sensilla* antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853).

**ORIENTADOR (ES):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Angela Cristina Verissimo Junqueira  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia Catalá

**Aprovada em:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**EXAMINADORES:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Catarina Macedo Lopes - Presidente**  
**Prof. Dr. Fernando Braga Stehling Dias**  
**Prof. Dr. Ricardo Cunha Machado**

**SUPLENTE**

**Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Moreira**

Rio de Janeiro, 22 de julho de 2013.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por sempre me ajudar dando força e sabedoria durante todas as etapas deste trabalho.

Aos meus pais, Délio e Nádia, pelo exemplo de vida, dedicação, a ajuda em todos os momentos e incentivo aos estudos.

À minha vó Edmea obrigada pela dedicação e por todo seu carinho.

À minha família pelo carinho e apoio em mais uma etapa.

À Dr<sup>a</sup>. Angela C. V. Junqueira pela amizade, dedicação, ajuda e incentivo sempre em busca do melhor. Tenho uma imensa admiração não apenas pela pessoa transparente que és, mas também pelo lado profissional. A dedicação ao trabalho e o fascínio pelo campo é contagiante! Voltei do trabalho de campo com o brilho nos olhos pela pesquisa, e você contribuiu muito para isto. Muito obrigada!

Ao Dr. Carlos José pela oportunidade de estágio no Laboratório de Doenças Parasitárias, pelos ensinamentos, incentivo e dedicação. Obrigada por tornar as longas horas do trabalho das dejeções muito mais divertidas!

À Dr<sup>a</sup>. Silvia Catalá pelos ensinamentos sobre *sensilla*, dedicação e paciência em explicar várias vezes à função de cada estrutura e o acolhimento nos dias que estive em seu laboratório. Obrigada pela grande oportunidade!

À Dr<sup>a</sup>. Laura Hernández pela dedicação e paciência por todas as vezes que batia em sua sala pedindo ajuda! Obrigada!

À Ana Laura Carbajal de La Fuente pela colaboração nas análises de morfometria geométrica, carinho e pela grande ajuda neste trabalho.

À Dr<sup>a</sup>. Catarina Macedo Lopes pela excelente e criteriosa revisão da dissertação. Obrigada pela dedicação, carinho, incentivo, sugestões e amizade durante a finalização deste trabalho. Você foi essencial!

Ao Prof. Dr. José Rodrigues Coura pelo incentivo e ajuda que possibilitou o treinamento sobre as *sensilla* na Argentina e o trabalho de campo na Microrregião do Rio Negro, Amazonas.

À amiga Zezé, grande profissional do insetário do Laboratório de Doenças Parasitárias, pelos ensinamentos e a grande ajuda em todos os trabalhos.

À minha grande amiga Cristina Santos pela amizade, carinho, companheirismo e pela ajuda em todas as horas. Por sempre me salvar nos assuntos da vida e do laboratório.

À amiga Laura pela ajuda, força, amizade e companheirismo nesta caminhada.

Aos amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias: Elton, Rodrigo, Diego, Bárbara, Vanessa, Deise, Eric, Renata, Celeste e Samuel, obrigada pela ajuda e por tornar os dias muito

mais alegres!

À Dra. Martha C. S. Mutis pelo incentivo aos estudos e pela paciência em me esclarecer as diversas dúvidas em relação aos assuntos da prova do mestrado. Obrigada pelo carinho e a dedicação!

Ao Prof. Dr. Pedro Cabello pela paciência e ajuda na parte estatística.

À Renata Gracie, Laboratório de Geoprocessamento (ICICT/Fiocruz) pela elaboração dos mapas.

As amigas de casa, Vanessa, Juliana e Fernanda por fazerem parte da minha vida! Agradeço o companheirismo, amizade, carinho e o Romeu!

Aos meus grandes e eternos amigos: Mígona, Marquinhos, Patrick, Deninho, Rafael, Waltinho por tornarem a minha vida muito mais divertida!

À equipe que me acompanhou no trabalho de campo, porque sem eles seria impossível o desenvolvimento do estudo. Equipe de Barcelos: José Alberto de Oliveira Macedo/Zeca (Agente de combate às endemias do município de Barcelos, estado do Amazonas, AM), Francimar Tavares de Brito (Agente de combate às endemias do município de Barcelos, AM), Edilson Francisco Barros da Silva (Chapéu – Extrativista da fibra da palmeira *Leopoldinia piassaba* e morador da comunidade mais próxima do piaçabal Candido, rio Padauri, município de Barcelos, AM); equipe São Gabriel da Cachoeira: Erivan Pascoal Ribeiro (Distrito Sanitário Especial Indígena - DSEI, São Gabriel da Cachoeira, AM), Manuel Moreno Teixeira (DSEI, São Gabriel da Cachoeira, AM), Rosalino (guia indígena da comunidade Inebu – comunidade mais próxima do piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, AM), Heliomar Bezerra Plácido (morador da comunidade Itapuruquara Mirim, rio Marié, AM).

Agradeço imensamente a população dos municípios de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira / Amazonas pelo acolhimento e ajuda durante o trabalho de campo.

Aos queridos amigos da turma de mestrado que proporcionaram momentos incríveis, não importando o lugar, sejam nas aulas, nos seminários, em Santa Izabel do Rio Negro ou nas feijoadas!

Ao Dr. Bento Mascarenhas pela colaboração em fornecer o parecer sobre o *R. brethesi* no estado do Pará.

Aos responsáveis pelo serviço de entomologia do LACEN do estado do Pará e Maranhão pela colaboração neste trabalho.

À coordenação e à pós-graduação em Medicina Tropical, em especial ao Dr. Filipe Carvalho Costa pela oportunidade.

Ao Instituto Oswaldo Cruz pelo suporte de infra-estrutura.

À CAPES pela bolsa de estudos que possibilitou o desenvolvimento deste trabalho.

# Índice

<b>1. Introdução</b>	1
1.1. Conceitos gerais sobre a doença de Chagas e as espécies vetoras de triatomíneos	1
1.2. Características das <i>sensilla</i> antenais e estudos em triatomíneos	4
1.3. Triatomíneos e a morfometria geométrica	6
1.4. <i>Rhodnius brethesi</i> e seu ecótopo natural	8
<b>2. Hipóteses</b>	11
<b>3. Objetivo Geral</b>	11
3.1. Objetivos específicos	12
<b>4. Material e Métodos</b>	12
4.1. Conhecimento popular da espécie vetora e do seu ecótopo	12
4.1.1. Kits de identificação da espécie <i>Rhodnius brethesi</i> e da palmeira <i>Leopoldinia piassaba</i>	12
4.2. Triatomíneos	13
4.2.1. Espécimes de laboratório	13
4.2.2. Espécimes silvestres	14
4.3. Locais de procedência dos espécimes silvestres	14
4.3.1. Município de Barcelos	14
4.3.2. Município de São Gabriel da Cachoeira	16
4.4. Obtenção dos espécimes de triatomíneos em palmeiras	16
4.4.1. Transporte	16
4.4.1.1. Camundongos	16
4.4.1.2. Triatomíneos	17
4.4.2. Técnicas de capturas utilizadas	18
4.4.2.1. Armadilha Noireau	18
4.4.2.2. Medições feitas entre as palmeiras selecionadas	18

4.4.2.3. Armadilha luminosa	19
4.5. Município de Barcelos	19
4.6. Município de São Gabriel da Cachoeira	22
4.6.1. Piaçabal do Mutum (rio Curicuriari)	22
4.6.2. Piaçabal do Pilão (rio Iá)	23
4.7. Estruturas morfológicas analisadas	24
4.7.1. Antenas	24
4.7.1.1. Espécimes empregados	24
4.7.1.2. Preparação das antenas	25
4.7.2. Asas	27
4.7.2.1. Espécimes empregados	27
4.7.2.2. Preparação das asas	27
4.8. Testes estatísticos	29
4.8.1. Antenas	29
4.8.2. Asas	29
<b>5. Resultados</b>	<b>30</b>
5.1. Investigação da distribuição do <i>Rhodnius brethesi</i> e da <i>Leopoldinia piassaba</i> no Brasil	30
5.1.1. Estado do Pará	30
5.1.2. Estado do Maranhão e Amazonas	30
5.1.2.1. Resultado dos questionários aplicados	31
5.1.2.2. Destaque das contradições das respostas	37
5.1.2.2.1. Estado do Maranhão	37
5.1.2.2.2. Estado do Amazonas	38
5.2. Espécies de triatomíneos capturadas	38
5.2.1. Números de espécimes capturados por modelo de armadilha	38

5.2.2. Piaçabais por localidade	38
5.2.2.1. Margem esquerda do rio Negro: Piaçabal Candido, rio Padauri, no Município de Barcelos, estado do Amazonas	38
5.2.2.2. Margem direita do rio Negro: Piaçabal do Mutum, rio Curicuriari, Município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas	45
5.2.2.3. Margem direita do rio Negro: Piaçabal Pilão, rio Iá, Município de São Gabriel da Cachoeira, estado Amazonas	49
5.3. Descrição geral do fenótipo antenal de <i>R. brethesi</i>	54
5.4. Análise dos fenótipos antenais	54
5.4.1. <i>R. brethesi</i> criado no laboratório	55
5.4.1.1. Fenótipo antenal por sexo	55
5.4.1.2. Fenótipo antenal morfotipo cromático	56
5.4.1.3. Comprimento de TPF e TPG por sexo	57
5.4.1.4. Comprimento de TPF e TPG segundo morfotipo cromático	57
5.4.2. <i>R. brethesi</i> silvestre	58
5.4.2.1. Fenótipo antenal por sexo	58
5.4.2.2. Morfotipo cromático	61
5.4.2.3. Comprimento de TPF e TPG por sexo	62
5.4.2.4. Comprimento de TPF e TPG de acordo com morfotipo cromático	63
5.4.3. Comparação do fenótipo antenal dos <i>R. brethesi</i> de laboratório e silvestres	63
5.4.3.1. Machos de diferentes ecótopos	63
5.4.3.2. Comprimento de TPF e TPG por ecótopo	65
5.4.3.3. Fêmeas de diferentes ecótopos	65
5.4.3.4. Comprimento de TPF e TPG por ecótopo	67
5.4.3.5. Interação ecótopo e sexo	67
5.4.4. Distância fenotípica considerando sexo e ecótopo	68
5.4.5. Análise comparativa do comprimento das <i>sensilla</i> do tipo TPF e TPG de <i>R. brethesi</i> com outras espécies do gênero <i>Rhodnius</i>	69

5.5. Morfometria geométrica	70
5.5.1. Descrição geral da morfometria geométrica das asas de <i>R. brethesi</i>	70
5.5.2. Tamanho Centróide (CS) das asas de <i>R. brethesi</i> agrupados de acordo com ecótopo e sexo	71
5.5.3 Conformação (Shape) das asas de <i>R. brethesi</i> agrupados de acordo com ecótopo e sexo	72
5.5.4 Tamanho do Centróide (CS) das asas de <i>R. brethesi</i> agrupados de acordo sexo, mancha e ecótopo	73
5.5.5.Tamanho do centróide (CS) das fêmeas	74
5.5.6.Tamanho do centróide (CS) dos machos	74
5.5.7. Conformação (Shape) das asas de <i>R. brethesi</i> agrupados de acordo sexo, mancha e ecótopo	75
5.5.8.Efeito Alométrico	76
<b>6. Discussão</b>	76
<b>7. Conclusão</b>	86
<b>8. Referências Bibliográficas</b>	88
<b>9. Anexos</b>	100

## Índice dos Anexos

<b>A.1.</b> Kit informativo e questionário utilizados para investigar o conhecimento, da população, sobre a presença do <i>R. brethesi</i> e da <i>L. piassaba</i> nas áreas de estudo, através da participação das equipes municipais de saúde.	101
<b>A.2.</b> Investigação da distribuição do <i>Rhodnius brethesi</i> no Brasil: estado do Pará.	102
<b>A.3.</b> Investigação da distribuição do <i>Rhodnius brethesi</i> no Brasil: estado do Pará.	103
<b>A.4.</b> Investigação da distribuição do <i>Rhodnius brethesi</i> no Brasil: estado do Maranhão.	104
<b>A.5.</b> Questionário aplicado, na população, dos municípios de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira, no estado do Amazonas e nos municípios de Sambaíba e São Félix das Balsas, Estado do Maranhão.	105
<b>A.6.</b> Resultado, dos testes estatísticos, do fenótipo antenal por sexo de <i>R. brethesi</i> criado em laboratório.	106
<b>A.7.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do fenótipo antenal por morfotipo cromático de <i>R. brethesi</i> criado em laboratório.	106
<b>A. 8.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por sexo de <i>R. brethesi</i> criado em laboratório.	107
<b>A.9.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG segundo morfotipo cromático de <i>R. brethesi</i> criado em laboratório.	107
<b>A.10.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por sexo dos espécimes de <i>R. brethesi</i> silvestres.	107
<b>A.11.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG de acordo com morfotipo cromático dos espécimes de <i>R. brethesi</i> silvestres.	108
<b>A.12.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por ecótopo de machos de <i>R. brethesi</i> silvestres.	108
<b>A.13.</b> Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por ecótopo de fêmeas de <i>R. brethesi</i> silvestres.	108

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1:</b> Distribuição mundial de casos da doença de Chagas, baseada em estimativas oficiais, 2006-2010.	3
<b>Figura 1.2:</b> Esquema representativo adaptado dos segmentos da antena de triatomíneos do gênero <i>Rhodnius</i> e as <i>sensilla</i> do tipo mecanorreceptoras (BR-bristles) e quimiorreceptoras (TPF-tricoidea de parede fina; TPG-tricoidea de parede grossa; BA-basicônica).	4
<b>Figura 1.3:</b> Distribuição geográfica da palmeira <i>Leopoldinia piassaba</i> no Brasil.	11
<b>Figura 4.1:</b> Variações cromáticas do pronoto apresentada por espécimes de <i>R. brethesi</i> . A: Mancha presente; B: Mancha ausente.	14
<b>Figura 4.2:</b> Localização dos piaçabais pesquisados nos municípios de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	15
<b>Figura 4.3:</b> Caixas de transporte cedidas pelo CECAL/FIOCRUZ utilizadas para transporte de camundongos.	17
<b>Figura 4.4:</b> Sacos plásticos identificados com data, hora e estágio ninfal utilizados para o transporte no campo, dos insetos coletados em armadilhas Noireau.	17
<b>Figura 4.5:</b> Armadilha Noireau usando como isca camundongo.	18
<b>Figura 4.6:</b> Armadilha luminosa do tipo Malaise utilizada nas capturas realizadas durante o crepúsculo vespertino e noturno.	19
<b>Figura 4.7:</b> Palmeira da espécie <i>Leopoldinia piassaba</i> com armadilha Noireau. Piaçabal Candido, rio Padauíri, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	21
<b>Figura 4.8:</b> Exemplar de <i>L. piassaba</i> menor que 2m. Armadilha Noireau próxima à copa. Piaçabal Candido, rio Padauíri, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	21
<b>Figura 4.9:</b> Armadilha luminosa montada próxima ao aglomerado de <i>L. piassaba</i> . Piaçabal Candido, rio Padauíri, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	22
<b>Figura 4.10:</b> Esquema adaptado de Catalá e Schofield, 1994, demonstrando os quatro segmentos da antena de triatomíneos.	26
<b>Figura 4.11:</b> Visualização das <i>sensilla</i> em F1 da antena de <i>Rhodnius brethesi</i> silvestre capturado na localidade do piaçabal do município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: tricoidea de parede grossa; BA: basicônica.	26
<b>Figura 4.12:</b> Remoção das asas de espécime de <i>Rhodnius brethesi</i> .	28
<b>Figura 4.13:</b> A: Sete pontos anatômicos marcados, na asa esquerda, de <i>Panstrongylus geniculatus</i> ; B: Dez pontos anatômicos marcados, na asa direita, de <i>Triatoma arthurneivai</i> e <i>Triatoma wygodzinsky</i> .	28
<b>Figura 5.1:</b> Palmeira jovem da espécie de <i>L. piassaba</i> de 1,20m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauíri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	41
<b>Figura 5.2:</b> Exemplar de <i>L. piassaba</i> de 16m de altura localizada no piaçabal Candido no	

- município de Barcelos, rio Padauri, estado do Amazonas, Brasil. 41
- Figura 5.3:** Sementes da palmeira *L. piassaba* coletada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. 42
- Figura 5.4:** Exemplar de buçu (*M. saccifera*) de 2,5m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. 42
- Figura 5.5:** Exemplar de inajá (*A. maripa*) de 3m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. 42
- Figura 5.6:** Distribuição das espécies de palmeiras pesquisadas com armadilhas Noireau no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. Buçu= *Manicaria saccifera*; Inajá= *Attalea maripa*; Patauí= *Oenocarpus bataua*; Piaçaba= *Leopoldinia piassaba*. 43
- Figura 5.7A:** Armadilha Noireau positiva para ninfas de *R. brethesi* no piaçabal Candido, rio Padauri, município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. 44
- Figura 5.7B:** Espécimes adultos de *R. brethesi* capturados na localidade do piaçabal do Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, Amazonas, Brasil. 44
- Figura 5.8:** Exemplar de *L. piassaba* de 1,15m de altura localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 45
- Figura 5.9:** Exemplar de *L. piassaba* de 13,60m de altura localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 45
- Figura 5.10:** Palmeira da espécie *L. piassaba* com a base infestada de cupins localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 47
- Figura 5.11:** Altura das palmeiras estudadas e número de insetos capturados, empregando dois modelos distintos de armadilha, no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. Os ciclos de tons de lilás são as faixas de alturas das palmeiras. As circunferências preenchidas nas cores preta, amarela e laranja representam, respectivamente, nenhum, um e dois espécimes de triatomíneos. Os quadrados nas cores verde e amarela representam, respectivamente, nenhum e um espécime capturado. 48
- Figura 5.12:** Exemplar de *L. piassaba* de 4,26m de altura presente no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 49
- Figura 5.13:** Sequência das armadilhas Noireau e as espécies de palmeiras pesquisadas no piaçabal do Pilão, rio Iá, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 52
- Figura 5.14:** Altura das palmeiras estudadas e número de insetos capturados, empregando dois modelos distintos de armadilha, no piaçabal Pilão no rio Iá, São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. Os símbolos em formato de círculos correspondem as alturas das palmeiras. As circunferências preenchidas nas cores preta, azul, verde, amarela e laranja representam, respectivamente, nenhum, um, dois, três e cinco espécimes de triatomíneos. Os quadrados nas cores verde e amarela representam, respectivamente, um e cinco espécimes capturados. 53

- Figura 5.15:** Campo ocular do segmento F1 da antena de fêmea de *R. brethesi* criada no laboratório. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ). 55
- Figura 5.16:** Campo ocular do segmento F1 da antena de macho de *R. brethesi* criado no laboratório. TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ). 55
- Figura 5.17:** Campo ocular do segmento F2 de fêmea silvestre de *R. brethesi* capturada no piaçabal Candido no município de Barcelos, AM. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ). 60
- Figura 5.18:** Campo ocular do segmento F1 de macho silvestre de *R. brethesi* capturado no piaçabal Candido no município de Barcelos, AM. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ). 60
- Figura 5.19:** Distância fenotípica a partir da análise discriminante das nove *sensilla* antenais estudadas entre os grupos de *R. brethesi* de acordo com sexo e ecótopo. FC1: Fator 1; FC2: Fator 2. 68
- Figura 5.20:** Asa direita de *Rhodnius brethesi* com nove *landmarks* 70
- Figura 5.21:** Tamanho centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados segundo ecótopo: Laboratório (Lab) e Silvestre (Silv); e sexo (F: fêmea e M: macho). As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa o quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a grande média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos. 71
- Figura 5.22:** Análise canônica dos grupos de *R. brethesi* analisados. A figura mostra a distribuição do centróide (média multivariada) sobre o fator canônico 1 (FC1) e o 2 (FC2). Os polígonos representam a dispersão dos pontos de cada população. O FC1 explicou 79% da variância, entretanto o CF2 explicou o 16%. F\_SIL: fêmea silvestre; M\_SIL: macho silvestre; F\_LAB: fêmea laboratório; M\_LAB: macho laboratório. 72
- Figura 5.23:** Dendograma UPGMA derivado da distância de Mahalanobis baseado na conformação das asas de *R. brethesi*. F-Sil: fêmea silvestre; M-Sil: macho silvestre; F-Lab: fêmea laboratório; M-Lab: macho laboratório. 73
- Figura 5.24:** Tamanho centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados segundo sexo, mancha e ecótopo. Laboratório (L), Silvestre (S); Presença (PR) ou ausência (AU) da mancha no pronoto e sexo (F= Fêmea, M= Macho). As caixas mostram os valores médios em cada grupo, a linha central separa o quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a grande média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos. 73

**Figura 5.25:** Figura 5.25: Tamanho centróide (CS) das asas das fêmeas de *R. brethesi* agrupados segundo seu ecótopo e mancha: Laboratório e Silvestre; com (presente) ou sem (ausente) mancha no pronto. As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa os quartis 25 e 75 e as linhas extremas o 10 e 90. A linha central denota a média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos. Lab\_AU: laboratório ausente; Lab\_PR: laboratório presente; SIL\_AU: silvestre ausente; SIL\_PR: silvestre presente.

74

**Figura 5.26:** Tamanho centróide (CS) das asas dos machos de *R. brethesi* agrupados segundo seu ecótopo e mancha: Laboratório e Silvestre; com (presente) ou sem (ausente) mancha no pronto. As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa os quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a média e os pontos, no centro das caixas, a distribuição dos indivíduos. Lab\_AU: laboratório ausente; Lab\_PR: laboratório presente; SIL\_AU: silvestre ausente; SIL\_PR: silvestre presente.

74

**Figura 5.27:** Análise canônica das populações de *R. brethesi*. A figura mostra a distribuição do centróide (média multivariada) sobre o fator canônico 1 (FC1) e o 2 (FC2). Os polígonos representam a dispersão dos pontos de cada população. O FC1 explicou o 63% da variância, e o FC2 explicou 17%. L\_Au\_F: laboratório ausente fêmea; L\_Au\_M: laboratório ausente macho; L\_Pr\_F: laboratório presente fêmea; L\_Pr\_M: laboratório presente macho; S\_Au\_F: silvestre ausente fêmea; S\_Au\_M: silvestre ausente macho; S\_Pr\_F: silvestre presente fêmea; S\_Pr\_M: silvestre presente macho.

75

**Figura 5.28:** Dendograma UPGMA derivado das distâncias de Mahalanobis baseado na conformação das asas de *R. brethesi*. L\_Au\_F: laboratório ausente fêmea; L\_Au\_M: laboratório ausente macho; L\_Pr\_F: laboratório presente fêmea; L\_Pr\_M: laboratório presente macho; S\_Au\_F: silvestre ausente fêmea; S\_Au\_M: silvestre ausente macho; S\_Pr\_F: silvestre presente fêmea; S\_Pr\_M: silvestre presente macho.

76

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 4.1:</b> Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras pesquisadas na localidade do município de Barcelos, Amazonas.	20
<b>Tabela 4.2:</b> Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras. Piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí – Município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas.	23
<b>Tabela 4.3:</b> Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras. Piaçabal do Pilão, rio Iá – Município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas.	24
<b>Tabela 4.4:</b> Número de indivíduos estudados de <i>R. brethesi</i> (machos e fêmeas) silvestres e do laboratório avaliados para caracterização do fenótipo antenal. AUS: mancha ausente; PRES: mancha presente; F: Fêmea; M: Macho.	25
<b>Tabela 4.5:</b> Quantidade de asas de <i>R. brethesi</i> analisadas e separadas por ecótopo, sexo e mancha. AUS: mancha ausente; PRES: mancha presente; F: fêmea; M: macho.	27
<b>Tabela 5.1:</b> Resposta da pergunta “Em qual(is) palmeira(s) citada(s) acima você viu?” referente a questão 7 do questionário.	33
<b>Tabela 5.2:</b> Resposta da pergunta “Caso responda que sim: onde encontrou a palmeira?” referente a questão 12 do questionário.	35
<b>Tabela 5.3:</b> Resposta da pergunta “Qual(is) palmeira(s)?” referente a questão 15 do questionário.	37
<b>Tabela 5.4:</b> Espécimes de <i>R. brethesi</i> capturados no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estágio; 2ºe: 2º estágio; 3ºe: 3º estágio; 4ºe: 4º estágio; 5ºe: 5º estágio. *Palmeiras com armadilhas na copa.	39
<b>Tabela 5.5:</b> Distância entre as palmeiras selecionadas no estudo no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	40
<b>Tabela 5.6:</b> Espécimes de <i>R. brethesi</i> capturados no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estágio; 2ºe: 2º estágio; 3ºe: 3º estágio; 4ºe: 4º estágio; 5ºe: 5º estágio; A: adulto; Arm: armadilha; Alt: altura; T: total de ninfas; Nº de arm: número de armadilha por palmeira.	46
<b>Tabela 5.7:</b> Quantidade de espécimes adultos coletados por período no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	48
<b>Tabela 5.8:</b> Ninfas de <i>R. brethesi</i> capturadas no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estágio; 2ºe: 2º estágio; 3ºe: 3º estágio; 4ºe: 4º estágio; 5ºe: 5º estágio; A: adulto; Arm: armadilha; Alt: altura; Nº de arm: número de armadilha por palmeira. * 1 armadilha adicionada; ** 3 armadilhas adicionadas.	50
<b>Tabela 5.9:</b> Distância entre as palmeiras pesquisadas período no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	51

<b>Tabela 5.10:</b> Quantidade de insetos adultos coletados com armadilha luminosa, por período, no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	53
<b>Tabela 5.11:</b> Média e desvio padrão dos diferentes tipos de <i>sensilla</i> estudadas de machos e fêmeas da espécie <i>R. brethesi</i> criado no laboratório. P-BR: pedicelo-bristles, F1-BR: flagelo1-bristles, F1-TPF:flagelo1-tricoida de parede fina, F1-TPG: flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:falgelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica.	56
<b>Tabela 5.12:</b> Média e desvio padrão dos diferentes tipos de <i>sensilla</i> estudadas de acordo com a variação cromática no pronoto da espécie <i>R. brethesi</i> criada no laboratório. PRES: mancha presente; AUS: mancha ausente; P-BR:pedicelo-bristles, F1-BR:flagelo1-bristles, F1-TPF:flagelo1-tricoida de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica.	56
<b>Tabela 5.13:</b> Média, desvio padrão e valor máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG de espécimes de <i>R. brethesi</i> separados por sexo. C.TPF: Comprimento do receptor tricoidea de parede fina ( $\mu\text{m}$ ); C.TPG: Comprimento do receptor tricoidea de parede grossa ( $\mu\text{m}$ ); Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.	57
<b>Tabela 5.14:</b> Média, desvio padrão e valor máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG em espécimes de <i>R. brethesi</i> separados por variação cromática. PRES: Mancha Presente; AUS: Mancha Ausente; C.TPF: Comprimento do receptor tricoidea de parede fina ( $\mu\text{m}$ ); C.TPG: Comprimento do receptor tricoidea de parede grossa ( $\mu\text{m}$ ); Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.	58
<b>Tabela 5.15:</b> Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Machos: n=26; Fêmeas: n=24. Os resultados em negrito são valores estatísticos significativos ( $p<0,05$ ).	59
<b>Tabela 5.16:</b> Média, desvio padrão e mediana dos diferentes tipos de <i>sensilla</i> estudadas de machos e fêmeas da espécie <i>R. brethesi</i> silvestres. P-BR:pedicelo-bristles; F1-BR:flagelo1-bristles; F1-TPF:flagelo1-tricoida de parede fina; F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa; F1-BA:flagelo1-basiconica; F2-BR:falgelo2-bristles; F2-TPF:flagelo2-bristles; F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina; F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa; F2-BA:flagelo2-basiconica. Os resultados em negrito indicam valores significativos $p<0,05$ .	59
<b>Tabela 5.17:</b> Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Mancha presente: n=27; Mancha ausente: n=23. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p<0,05$ ).	61
<b>Tabela 5.18:</b> Média, desvio padrão e mediana dos diferentes tipos de <i>sensilla</i> estudadas em indivíduos silvestres de <i>R. brethesi</i> separados por variação cromática. PRES: mancha presente; AUS: mancha ausente; P-BR:pedicelo-bristles,F1-BR:flagelo1-bristles,F1-TPF:flagelo1-tricoida de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:falgelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p<0,05$ ).	62

**Tabela 5.19:** Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG dos indivíduos silvestres separados por sexo. C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG. 62

**Tabela 5.20:** Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG de *R. brethesi* separados pela variação cromática. PRES: Mancha Presente; AUS: Mancha Ausente; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG. 63

**Tabela 5.21:** Média, desvio padrão e mediana dos receptores presentes nos três segmentos das antenas de machos criados no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório e SILV: Silvestre, município de Barcelos; P-BR:pedicelo-bristles,F1-BR:flagelo1-bristles,F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores significativos  $p < 0,05$ . 64

**Tabela 5.22:** Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Laboratório:  $n=23$ ; Palmeira silvestre:  $n=26$ . Em negrito são valores estatísticos significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ . 64

**Tabela 5.23:** Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento de F1-TPF e F1-TPG de machos de *R. brethesi* criados no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório; SILV: Silvestre, município de Barcelos; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG. 65

**Tabela 5.24:** Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Laboratório:  $n=20$ ; Silvestre:  $n=24$ . Em negrito são valores estatísticos significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ . 66

**Tabela 5.25:** Média, desvio padrão e mediana de todos os receptores presentes no pedicelo, F1 e F2 das antenas de fêmeas de *R. brethesi* separadas pelo ecótopo. LAB: Laboratório e SILV: Silvestre, município de Barcelos. P-BR:pedicelo-bristles,F1-BR:flagelo1-bristles,F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ . 66

**Tabela 5.26:** Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento de F1-TPF e F1-TPG das fêmeas criadas no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório; SILV: Silvestre; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG. 67

**Tabela 5.27:** Análise ANOVA *two way* para ecótopo, sexo e interação ecótopo e sexo para os nove receptores estudados dos espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório e capturados na localidade do município de Barcelos, Amazonas. Em negrito são valores estatísticos significativos. 67

- Tabela 5.28:** Distância de Mahalanobis para comparação entre espécimes de *R. brethesi* silvestres e criados no laboratório. Rb M Lab: *R. brethesi* macho laboratório; Rb M Silv: *R. brethesi* macho silvestre; Rb F Lab: *R. brethesi* fêmea laboratório; Rb F Silv: *R. brethesi* silvestre. Em negrito são valores estatísticos significativos. 68
- Tabela 5.29:** Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo dos C.TPF e C.TPG de *R. brethesi* (n=33♂ e ♀) e outras espécies de *Rhodnius* (n=33): *R. robustus* (n=3♂), *R. pictipes* (n=3♂), *R. neglectus* (n=3♂), *R. neivai* (n=3♀), *R. nasutus* (n=3♀), *R. ecuadoriensis* (n=3♂), *R. stali* (n=3♂), *R. colombiensis* (n=3♀), *R. pallescens* (n=3♀), *R. prolixus* (n=3♂) e *R. domesticus* (n=3♀). C.TPF: comprimento do TPF; C.TPG: comprimento do TPG; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG. 69
- Tabela 5.30:** Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). 69
- Tabela 5.31:** Teste *t Student* indicando os valores significativos (em negrito) entre o tamanho centróide dos espécimes de *R. brethesi*. F.SILV: fêmea silvestre; F.LAB: fêmea laboratório; M.SILV: macho silvestre; M.LAB: macho laboratório. 71
- Tabela 5.32:** Distância de Mahalanobis para as populações de *R. brethesi* analisadas (\*valores significativos pela correção de Bonferroni  $p < 0,0083$ ). 73

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 5.1:</b> Resposta da pergunta “Você já ouviu falar ou viu o inseto que transmite o parasito que causa a doença de Chagas?” referente a questão 3 do questionário.	31
<b>Gráfico 5.2:</b> Resposta da pergunta “Onde ouviu falar ou viu?” referente a questão 4 do questionário.	32
<b>Gráfico 5.3:</b> Resposta da pergunta “Qual destas palmeiras, relacionadas abaixo, você já viu no lugar onde mora atualmente?” referente a questão 5 do questionário.	32
<b>Gráfico 5.4:</b> Resposta da pergunta “Você já viu barbeiro em alguma das palmeiras citadas acima?” referente a questão 6 do questionário.	33
<b>Gráfico 5.5:</b> Resposta da pergunta “Das espécies de barbeiros mostradas na figura 1, você já viu alguma no lugar onde mora atualmente?” referente a questão 8 do questionário.	33
<b>Gráfico 5.6:</b> Gráfico 5.6: Resposta da pergunta “Caso sim, responda: Qual(is) espécie(s) de barbeiro, a seguir, você já viu. Rb e Ti ( <i>R. brethesi</i> e <i>T. infestans</i> ); Rb e Pm ( <i>R. brethesi</i> e <i>P. megistus</i> ); Ti e Pm ( <i>T. infestans</i> e <i>P. megistus</i> ); Rb, Ti e Pm ( <i>R. brethesi</i> , <i>T. infestans</i> e <i>P. megistus</i> )”, referente a questão 9 do questionário.	34
<b>Gráfico 5.7:</b> Resposta da pergunta “Observando a placa plástica: Qual fase/estádio de barbeiro você viu?” referente a questão 10 do questionário.	34
<b>Gráfico 5.8:</b> Resposta da pergunta “Observando a placa plástica: Qual fase/estádio de barbeiro você viu?” referente a questão 11 do questionário.	35
<b>Gráfico 5.9:</b> Resposta da pergunta “Você já viu barbeiro nesta palmeira?”, a palmeira é a <i>L. piassaba</i> , referente a questão 13 do questionário.	36
<b>Gráfico 5.10:</b> Resposta da pergunta “Você já viu o <i>R. brethesi</i> em outra palmeira que não a da figura 2?” referente a questão 14 do questionário.	36
<b>Gráfico 5.11:</b> Quantidade de ninfas de <i>R. brethesi</i> capturadas nas armadilhas Noireau no piaçabal do Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	40
<b>Gráfico 5.12:</b> Quantidade de <i>R. brethesi</i> adultos capturados em armadilha luminosas durante o período do crepúsculo vespertino e noturno no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.	44
<b>Gráfico 5.13:</b> Quantidade de ninfas capturadas em armadilhas Noireau no piaçabal Pilão, rio Iá, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	51
<b>Gráfico 5.14:</b> Quantidade de <i>R. brethesi</i> adultos capturados em armadilha luminosas durante o período do crepúsculo vespertino e noturno no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.	54

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**CECAL:** Centro de Criação de Animais de Laboratório

**CRILAR:** Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica

**DSEI:** Distrito Sanitário Especial Indígena

**TCLE:** Termo de Consentimento Livre Esclarecido

**P-BR:** Pedicelo – Bristles

**F1-BR:** Flagelo 1 – Bristles

**F1-TPF:** Flagelo 1 – Tricoidea de Parede Fina

**F1-TPG:** Flagelo 1 – Tricoidea de Parede Grossa

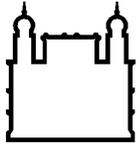
**F1-BA:** Flagelo 1 – Basicônica

**F2-BR:** Flagelo 2 – Bristles

**F2-TPF:** Flagelo 2 – Tricoidea de Parede Fina

**F2-TPG:** Flagelo 2 – Tricoidea de Parede Grossa

**F2-BA:** Flagelo 2 - Basicônica



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

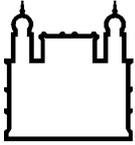
Padrões morfológicos das *sensilla* antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853).

### Resumo

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

A maioria das espécies do gênero *Rhodnius* está associada às palmeiras, e de acordo com seu padrão de associação de habitat são classificadas como especialistas ou generalistas. *Rhodnius brethesi* é aparentemente especialista, infestando apenas palmeiras da espécie *Leopoldinia piassaba*. Devido a esta possível especificidade de ecótopo mantém o ciclo de transmissão silvestre em regiões de extrativismo da piaçaba, localizada na Microrregião do rio Negro, Amazonas. Entretanto, está descrito em outras regiões fora da área de ocorrência da espécie de palmeira, como estado do Maranhão e Pará. Os triatomíneos percebem os ambientes através das antenas que são cobertas por estruturas sensoriais conhecidas como *sensilla*. O fenótipo antenal e o perfil morfométrico vêm sendo utilizados para diferenciar gênero, espécie e populações de triatomíneos, possibilitando analisar modificações advindas de adaptações ao ambiente ou de alterações genéticas. Desta forma, através do perfil das *sensilla* presentes nas antenas, e da análise do tamanho e conformação das asas espera-se obter informações sobre estruturas capazes de detectar variações e especificidade de ecótopo das populações de *R. brethesi*. O objetivo do estudo foi comparar os padrões morfológicos, das antenas e das asas, entre espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório e silvestres e outras espécies do gênero *Rhodnius*, e sua possível especificidade em relação ao ecótopo palmeira. Com o intuito de analisar o conhecimento, sobre a espécie *R. brethesi* e a palmeira *L. piassaba*, pela população humana, residente em áreas, onde há descrição, na literatura, da espécie *R. brethesi*, foram distribuídos Kits informativos na Microrregião do Rio Negro, AM e em três municípios do Maranhão. Paralelamente se investigou no Setor de Entomologia dos Lacens do Pará e do Maranhão, e em Coleções Entomológicas de Museus o recebimento de espécimes de *R. brethesi*. Confirmamos que a distribuição da palmeira *L. piassaba*, no Brasil, está restrita a Microrregião do Rio Negro, AM, e a espécie vetora *R. brethesi* só foi encontrada colonizando essas palmeiras, tanto na margem esquerda como direita do Rio Negro, sendo por isso considerado um vetor ecótopo específico. Tanto o padrão de *sensilla* antenais quanto o tamanho e a conformação da asa dos espécimes de *R. brethesi* foi possível a separação dos espécimes por sexo e ecótopo, e esta espécie possui características particulares em relação as *sensilla* antenais que lhe permite ser distinta das demais espécies de *Rhodnius*.

Palavras-chave: *Rhodnius brethesi*, *Sensilla*, asas, especificidade, *Leopoldinia piassaba*.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

**Morphological patterns of antennal *sensilla* and wings in the Amazon *Rhodnius brethesi* (Matta 1919) and specificity with palm *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853).**

### Abstract

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Most species of the genus *Rhodnius* is associated with palm trees, and according to their pattern of association are classified as habitat specialists or generalists. *Rhodnius brethesi* is apparently expert infesting palms just species *Leopoldinia piassaba*. This possible specificity of ecotope keeps the sylvatic transmission cycles in regions of extraction of palm fiber, located in the micro-region of the Rio Negro, Amazonas. However, this species is described in other regions outside the area of occurrence of the *Leopoldinia piassaba* such as the state of Maranhão and Pará. The triatomine probing the environments through its antennas, which are covered by structures known as sensory *sensilla*. The phenotype of the antennas as well as its morphometrics profile have been used to distinguish the genus, species and populations of insects, enabling the analysis of changes resulting from adaptations to environmental or genetic changes. Thus the profile presented by the antennas and present in *sensilla* and also analyzing the size and conformation of the wings we expect to obtain information about structures capable of detecting variations of the specificity of the breeding sites of *R. brethesi*. The aim of this study was to compare the morphological patterns, of antennas and wings, among specimens of *R. brethesi* created in the laboratory, wild specimens and others species from the *Rhodnius* genus, and analyzing the existence of a possible specificity relative with palm ecotopes. In order to analyze the knowledge about the species *R. brethesi* and palm *L. piassaba*, the human population living in areas where is a description of the species *R. brethesi*, information kits were distributed in the microregion of Rio Negro, AM and three municipalities of Maranhão. Was investigated in parallel Sector Entomology Lacens of Pará and Maranhão, and entomological collections of Museums receiving specimens *R. brethesi*. We confirm that the distribution of the palm *L. piassaba* in Brazil is restricted to microregion of Rio Negro, AM, and vector species *R. brethesi* only found colonizing these palms, both on the left and right of the Rio Negro, and is therefore considered a specific vector breeding sites. In this study we concluded that both the antennal *sensilla* pattern as the size and conformation of the wing specimens of *R. brethesi* were excellent parameters for the separation of specimens by sex and type of breeding sites, and that this species has particular characteristics regarding the antennal *sensilla* that allows it to be separated from other species of *Rhodnius*.

Key-words: *Rhodnius brethesi*, *Sensilla*, wings, specificity, *Leopoldinia piassaba*.

# 1. Introdução

## 1.1. Conceitos gerais sobre a doença de Chagas e as espécies vetoras de triatomíneos

Segundo a estimativa da Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization-WHO*), existem cerca de 7 a 8 milhões de pessoas no mundo infectadas com o protozoário *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da doença de Chagas (WHO 2013). A grande maioria, dessa população infectada, concentra-se na América Latina e um menor número nos Estados Unidos da América, Canadá e extra Continente Americano (Coura & Albajar-Viñas, 2010). Em um mapa, recente, mostrando a distribuição da doença de Chagas, elaborado no *Second WHO report on neglected tropical diseases*, é possível confirmar a globalização da doença de Chagas (WHO, 2013) (Figura 1.1).

Na América Latina a principal forma de transmissão é a vetorial contaminativa, ou seja, pelo contato da pele com lesão de continuidade ou da mucosa íntegra, com as formas infectantes denominadas tripomastigotas metacíclicas, que são eliminadas na urina ou nas fezes por diferentes espécies de triatomíneos. Mais recentemente a transmissão oral tem recebido destaque como uma forma de transmissão importante na Região Amazônica (Nogueira *et al.* 2005; Ministério da Saúde 2007).

Extra continente americano, os casos humanos vêm sendo descritos, principalmente, em alguns países da Europa, bem como em outros do Pacífico Ocidental, e a presença da infecção tem sido atribuída as seguintes formas de transmissão: congênita, transfusional e transplante de órgãos (Coura & Albajar-Viñas, 2010). Essas três formas de transmissão se devem ao fluxo migratório crescente de indivíduos infectados, procedentes das áreas endêmicas clássicas, para países considerados não endêmicos para doença de Chagas e onde não há um programa de vigilância ainda bem estabelecido para detectar a infecção na população residente (Coura & Albajar-Viñas 2010).

A gravidade da doença de Chagas é devido ao fato de cerca de 30% dos pacientes crônicos, infectados pelo *T.cruzi*, desenvolverem alterações cardíacas e 10% a forma digestiva, neurológica e alterações mistas, bem como ao fato da cura só ser verificada quando o tratamento é iniciado precocemente (WHO 2013).

A política de ação para o controle da doença de Chagas, nos países da América Latina, tem se concentrado na eliminação dos triatomíneos domiciliados (WHO 2013). Estudos sobre a biologia e a morfologia das espécies de triatomíneos, envolvidas na transmissão vetorial, têm sido imprescindíveis para a elaboração de políticas de controle vetorial.

Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) constituem um grupo distinto de insetos dentro da família Reduviidae que se destaca como um táxon de relevante importância epidemiológica na transmissão do *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909). Até a presente data foram descritas cerca de 148 espécies vetoras (Schofield & Galvão 2009; Gonçalves *et al.* 2013). Dentre os 15 gêneros que constituem a subfamília Triatominae destacam-se três, a saber: *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*, que mantêm o ciclo de transmissão do *T. cruzi* em ambientes silvestre, peridoméstico e doméstico (Brenner *et al.* 2000, Schofield & Galvão 2009).

Os triatomíneos adquirem a infecção ao se alimentarem do sangue de mamíferos infectados com *T. cruzi*. Na natureza já foram encontradas diferentes ordens de mamíferos infectadas; merecendo destaque espécies das seguintes ordens: marsupialia, edentata, primatas, chiroptera e rodentia. (Avila-Pires 1976; Noireau *et al.* 2009).

Os vetores da doença de Chagas eram originalmente silvestres, e ainda, a grande maioria das espécies, vive no seu primitivo habitat; sendo encontradas exclusivamente nos focos naturais, em associação com animais não domésticos. Contudo, algumas espécies de triatomíneos silvestres, ao invadirem habitações humanas e encontrarem condições favoráveis, acabam se adaptando ao ambiente doméstico. A adaptação é dinâmica, no sentido que ela acontece sempre em ambientes alterados pelo homem, que propiciem essa condição (Forattini 1971). Segundo Barretto (1975), a adaptação aos biótipos/ecótopos artificiais é lenta e passa por um processo de seleção natural. Essa adaptação para ecótopos artificiais, constituiu e continua constituindo, um dos mais importantes mecanismos na transposição do *T. cruzi* do ambiente silvestre para o ambiente doméstico, e de estabelecimento do ciclo doméstico da doença de Chagas.

Os triatomíneos estão distribuídos por todo o Continente Americano, principalmente na América Latina, sendo também encontrados em regiões da América do Norte, África, Ásia e Austrália. Fora do Continente Americano não apresentam risco na transmissão vetorial do *T. cruzi*, uma vez que não foram encontrados, até a presente data, infectados por este parasito. (Coura & Albajar-Viñas 2010).

O gênero *Rhodnius*, um dos três principais gêneros de importância na transmissão do *T. cruzi*, é composto por 17 espécies que apresentam semelhanças morfológicas importantes e características de ecótopos silvestres muito particulares (Jurberg *et al.* 2009; Schofield & Galvão 2009; Junqueira *et al.* 2011). A maioria das espécies está associada a palmeiras e apresentam padrões variáveis de associação de habitat, sendo algumas descritas como especialistas, pois infestam uma única espécie de palmeira e outras são generalistas, neste caso, encontradas infestando diferentes espécies de palmeiras Abad-Franch *et al.* (2004,2005).



## 1.2. Características das *sensilla* antenais e estudos em triatomíneos

As estruturas sensoriais dos insetos estão localizadas, na sua grande maioria, na cabeça: entre elas podemos destacar as *sensilla*. Nos triatomíneos, tanto as ninfas de quinto estágio, como os adultos de ambos os sexos possuem um par de antenas divididas em quatro segmentos (escapo, pedicelo, flagelo 1 e flagelo 2) com diferentes disposições destes receptores sensoriais (Figura 1.2) (Catalá 1997).

As *sensilla* são numerosas estruturas sensoriais, na forma de pelos, botões, fossetas ou cones, e funcionam como quimiorreceptores, mecanorreceptores, termorreceptores e higrorreceptores (Gullan & Cranston 2012) (Figura 1.2). Os receptores sensoriais são importantes na relação entre o inseto e o ambiente e desempenham a função de detectar componentes químicos e físicos relacionados principalmente a fonte alimentar, reconhecimento de parceiro sexual e preferências de habitat (Catalá *et al.* 1998; Villela *et al.* 2005).

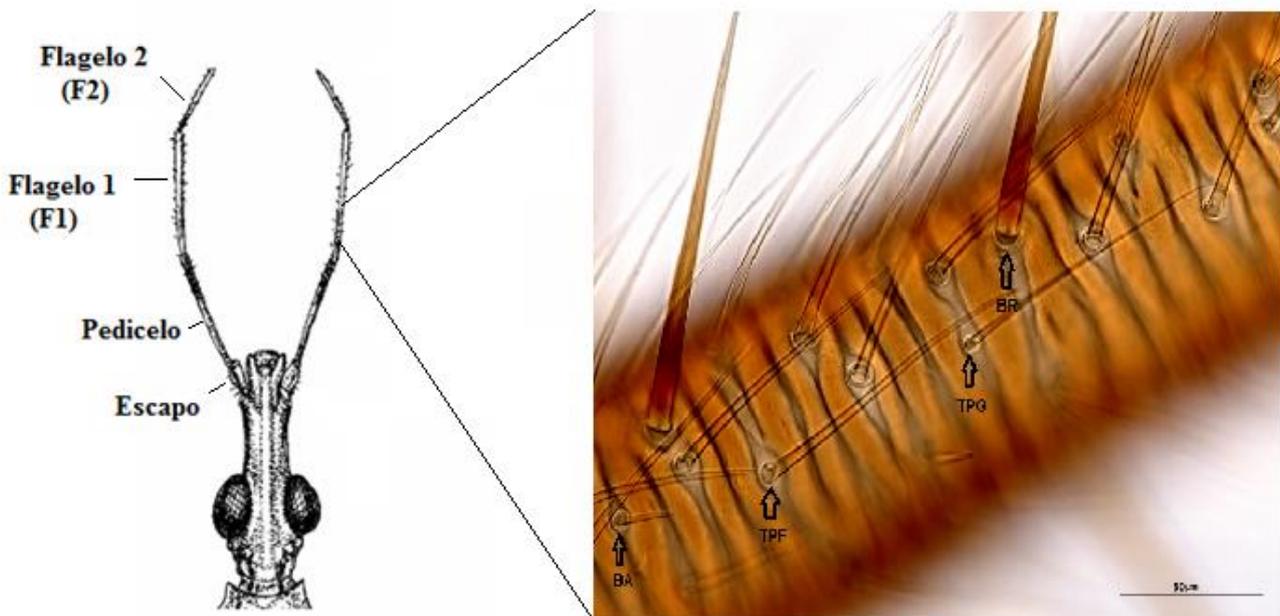


Figura 1.2: Esquema representativo adaptado dos segmentos da antena de triatomíneos do gênero *Rhodnius* e as *sensilla* do tipo mecanorreceptoras (BR-bristles) e quimiorreceptoras (TPF-tricoidea de parede fina; TPG-tricoidea de parede grossa; BA-basicônica).

Fonte: Catalá & Schofield, 1994.

Catalá & Schofield (1994) realizaram a descrição detalhada dos quatro tipos de receptores (distinguidos através do microscópio óptico) sobre o pedicelo e os dois segmentos flagelares (flagelo 1 – F1 e flagelo 2 – F2), do gênero *Rhodnius* que inclui os bristles (BR), tricoidea de parede fina (TPF), tricoidea de parede grossa (TPG) e basicônica (BA) que são utilizados para definir o fenótipo antenal de cada indivíduo (Figura 1.2).

Os bristles (tipo I, II e III) são mecanorreceptores que podem receber estímulos originados no contato com superfícies, ondas sonoras e correntes de ar. Os bristles tipo I são encontrados no escapo, pedicelo e parte basal do primeiro segmento flagelar (F1); bristles II estão distribuídos nos dois segmentos flagelares (F1 e F2), e bristles III são observados sobre o pedicelo e o flagelo 1 (F1) (Catalá & Schofield 1994).

Os outros três tipos de *sensillum* são classificados como quimiorreceptores. *Sensilla* tricoidea de parede fina (TPF) são abundantes sob os dois segmentos flagelares dos adultos e sob o segundo segmento do flagelo das ninfas. A superfície destes receptores é altamente porosa e cada poro é inervado por um grupo de células que levam os fluidos para o lúmen. Estas características sugerem uma função olfativa (Catalá & Schofield 1994).

Tricoidea de parede grossa (TPG) são similares em comprimento com os receptores de parede fina, porém são estruturas mais delgadas. Apresentam ligeiros sulcos longitudinais sem poros na superfície. Em estudo anterior verificou-se lúmen estreito inervado por 5-6 neurônios podendo ser detectores de temperatura e/ou componentes de feromônios. São encontrados em ambos os segmentos flagelares de adultos (Catalá & Schofield 1994).

As *sensilla* do tipo basicônica são estruturas menores com a superfície coberta por sulcos e inervada por 5-6 neurônios. São permeáveis sugerindo ser altamente porosa, e demonstram resposta a umidade e ácidos aromáticos, como por exemplo, lactato (Catalá & Schofield 1994).

As *sensilla* são estruturas significativas capazes de diferenciar gênero e espécie e até mesmo populações de triatomíneos (Catalá & Schofield 1994, Catalá 1997, Gracco & Catalá 2000, Catalá & Dujardin 2001, Catalá *et al.* 2004). Carbajal de La Fuente & Catalá (2002) verificaram que o fenótipo antenal demonstra ser um caráter importante em estudos de estrutura de populações, visto que *sensilla* podem ser indicadoras da adaptação destes triatomíneos em ecótopos de diferente complexidade e estabilidade. Em várias espécies de triatomíneos, uma série de mudanças morfológicas e genéticas tem sido observada associada a adaptações de habitat silvestre para doméstico (Catalá *et al.* 2004).

Carbajal de La Fuente & Catalá (2002) observaram a grande similaridade do fenótipo antenal entre duas espécies de *Rhodnius* – *Rhodnius neglectus* (Lent 1954) e *Rhodnius nasutus* (Stal 1859) – que vivem em regiões diferentes, cerrado e caatinga, respectivamente,

porém em ecótopos similares. A baixa complexidade e ausência de dimorfismo sexual estão relacionadas com similaridade de habitat, pois ambas as espécies estão associadas a palmeiras com características semelhantes. Esta adaptação, plasticidade fenotípica, pode ocorrer entre populações que ocupam regiões similares, apresentando um fenótipo antenal com características semelhantes (Esteban *et al.* 2005).

Dujardin e colaboradores (1999b) verificaram que os triatomíneos tendem apresentar reduzido dimorfismo sexual em populações domésticas quando comparado com aqueles que ocupam habitats silvestres. No caso do *Rhodnius prolixus*, a alta densidade alcançada em habitats domésticos facilita o encontro entre os parceiros, reduzindo alguma necessidade para dimorfismo sexual ou para características específicas de identificação sexual (Esteban *et al.* 2005).

### **1.3. Triatomíneos e a morfometria geométrica**

A morfometria é “a descrição quantitativa, análise e interpretação das formas e suas variações biológicas” (Rohlf 1990). Conforme o procedimento metodológico empregado para a avaliação, a morfometria pode ser dividida em clássica ou tradicional e geométrica (Rohlf & Marcus 1993). Segundo Rodriguez (2007), na morfometria tradicional, o estudo das estruturas se realiza por meio de distâncias de um ponto a outro obtidas diretamente nos organismos. Também relata, de forma clara, que na morfometria geométrica, a análise se constrói através de *landmarks* ou coordenadas, de pontos representadas em um plano cartesiano. As coordenadas permitem visualizar as diferenças entre as formas dos indivíduos, recuperar e visualizar a informação espacial que não é capturada pelo conjunto de medidas por distâncias (Rodriguez 2007).

Todas as espécies de triatomíneos criadas em condições de laboratório ou colonizando habitações humanas, tendem a apresentar redução no tamanho corporal e volume de sangue ingerido durante a alimentação, quando comparadas com a população silvestre (Szumlewicz 1976). Essas adaptações estão relacionadas ao mecanismo que o inseto utiliza para detectar recursos de fonte alimentar, por exemplo, densidade de CO<sub>2</sub>, calor e odor na orientação em busca do hospedeiro vertebrado. Outros estímulos, como busca e percepção do sexo e habitat, também podem ser influenciados (Villela *et al.* 2005).

Falconer (1981) cita que o caráter métrico é o primeiro a sofrer alterações entre as populações que passam por separações. Segundo Dujardin *et al.* (1997a), que foram os primeiros a empregarem nos seus estudos a morfometria, como mais um parâmetro na validação de táxon, reforçam que essas diferenças são caracteres mais sensíveis que um

caráter molecular como a variação protéica. Isto pode ser comprovado através das variações das medidas da cabeça encontradas entre os espécimes naturais e os do insetário (Dujardin *et al.* 1997b). Estas modificações foram observadas também na conformação de estruturas como asas (Carbajal de la Fuente *et al.* 2011).

Desta forma, a morfometria geométrica vem sendo empregada como o método mais eficiente para analisar estas estruturas externas do exoesqueleto em diferentes populações de triatomíneos (Dujardin & Catalá 2001; Jaramillo *et al.* 2002; Dujardin *et al.* 2003; Batista *et al.* 2012), possibilitando esclarecer dúvidas quanto ao *status* taxonômicos Triatominae (Matias *et al.* 2001; Villegas *et al.* 2002; Carbajal de la Fuente *et al.* 2011). Através da morfometria geométrica também é possível estabelecer uma gama de conhecimento, tais como: verificar diferenças no tamanho das estruturas entre espécimes de populações silvestres e de laboratório, e até mesmo entre as populações silvestres e sinantrópicas (Dujardin *et al.* 1999a,b; Jaramillo *et al.* 2002; Jaramillo 2004); estudar a estruturação espacial (Schachter-Broide *et al.* 2004; 2009; Gaspe *et al.* 2012); caracterizar a dinâmica das interações entre populações silvestres, peridomésticas e domésticas (Borges *et al.* 2005); conhecer as possíveis alterações das características morfológicas ao longo da distribuição geográfica de populações intraespecíficas (Lopes *et al.* 2008). Soma-se a isso a possibilidade de avaliar a influência dos efeitos ecológicos sobre a conformação e tamanho de espécies de triatomíneos irmãs (Gurgel-Gonçalves *et al.* 2011), fornecendo dados para subsidiar estratégias de controle entomológico do vetor da enfermidade de Chagas. Além disso, trata-se de uma técnica de fácil execução e baixo custo.

Carcavallo *et al.* (2000) discutiram sobre ausência de caracteres morfológicos capazes de agrupar *R. brethesi* com os quatro complexos de espécies do gênero *Rhodnius*, por eles definidos. Entretanto, vem se observando em espécimes de *R. brethesi* coletadas em palmeiras *L. piassaba* no município de Barcelos (Microrregião do Rio Negro, AM) a presença de diferenças cromáticas na região do pronoto.

Nenhum estudo morfológico amplo foi realizado comparando *R. brethesi* com outras espécies do gênero *Rhodnius*. O primeiro trabalho com abordagem morfológica foi de Santos – Mallet *et al.* (2005) que tinha como objetivo analisar morfológicamente a cabeça, tórax e patas de indivíduos adultos. Em relação as antenas, os referidos autores observaram a presença de nove tricobotrias, tipo de *sensilla* presente no segundo segmento das antenas com função mecanorreceptor. Estas estruturas possuem valor taxonômico entre os triatomíneos (Catalá & Schofield 1994). Andrade *et al.* (2002) já haviam detalhado um estudo sobre uma outra *sensilla* tipo mecanorreceptor conhecida como bristles (tipo I, II e III).

Freitas *et al.* (2010) separaram indivíduos provenientes desta microrregião, em dois padrões cromáticos, a saber: com mancha forte e macha fraca no pronoto, com o intuito de avaliar diferenças morfológicas nos folículos do testículo desses machos silvestres. A morfologia dos folículos do testículo pode determinar diferenças significativas entre os dois padrões sugerindo a existência de subpopulações e um possível complexo “*brethesi*”, já que existem variações morfológicas externas e internas entre os dois padrões.

Uma vez que processos sinantrópicos envolvem mudanças de especialização com simplificação genotípica e fenotípica (Schofield *et al.* 1999), algumas modificações são perceptíveis, como a redução em tamanho e dimorfismo sexual (Dujardin *et al.* 1999a). Além disso, a diferenciação entre populações de triatomíneos que vivem em ambientes silvestre e peridoméstico é de grande importância epidemiológica, pois além de facilitar a detecção de fontes de reinfestação depois do tratamento com inseticida (Batista *et al.* 2012), possibilitam a execução de eficientes ações de controle.

As espécies de triatomíneos silvestres ainda são pouco conhecidas no âmbito de sua morfologia e ecologia. Fato este, que traz para discussão questionamentos acerca da validade do *status* específico de algumas espécies dentre elas a espécie *R. brethesi*.

#### **1.4. *Rhodnius brethesi* e seu ecótopo natural**

Como pauta de pesquisas prioritárias para Amazônia, Dias *et al.* (2001) e Coura *et al.* (1999) já apontavam a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a ecologia da espécie do triatomíneo *R. brethesi*, a qual apresentava antecedentes de transmissão de *T. cruzi* em região do Alto Rio Negro, mas sem registro de colonização.

A maioria das espécies do gênero *Rhodnius* está associada às palmeiras e apresentam padrões variáveis de associação de habitat, sendo que algumas são descritas como especialistas, pois só foram encontradas infestando uma única espécie de palmeira, como por exemplo, o *R. brethesi*, conforme mencionado no início da introdução. Outras são generalistas, neste caso, encontradas infestando diversas espécies de palmeiras (Abad-Franch *et al.* 2004).

Segundo a literatura científica, o *Rhodnius brethesi* está presente nos seguintes estados brasileiros: Amazonas na Microrregião do Rio Negro (Matta 1919; Mascarenhas 1991; Coura *et al.* 1994, 1999 e 2002; Junqueira 2005), Pará (Almeida 1971) e Maranhão (Rebêlo *et al.* 1998; Rebêlo, 2000). No Maranhão os relatos são ao sul do estado, nos municípios de Sambaíba, Loreto e São Félix das Balsas. Além do Brasil, em mais dois países foi descrita a presença da espécie *R. brethesi*, são eles: Colômbia e Venezuela (Carcavallo *et al.* 2000; Galvão *et al.* 2003; Guhl *et al.* 2007; Soto-Vivas 2013).

Os espécimes de *R. brethesi* são encontrados habitando palmeiras da espécie *Leopoldina piassaba* Wallace, 1853 sendo, por isso, conhecida como “piolho da piaçaba” entre a população de trabalhadores que praticam o extrativismo da fibra da palmeira na Microrregião do Rio Negro, estado do Amazonas (Mascarenhas 1991). Matta (1919) foi o primeiro pesquisador a relatar a presença de indivíduos dessa espécie em áreas de extrativismo da *L. piassaba*, sendo, no entanto, Mascarenhas (1990) o primeiro a relatar a presença de colônias entre as fibras de palmeiras derrubadas para investigação.

O *R. brethesi* está envolvido em focos de transmissão silvestre do *T. cruzi* entre os extrativistas da fibra de piaçaba da Microrregião do Rio Negro, AM (Coura *et al.* 1994, Coura *et al.* 2002). Nos inquéritos sorológicos, realizados na população humana autóctone da referida região, pela equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias – IOC/Fiocruz verificou-se uma prevalência significativa, com valores variando de 6 a 13%, na população de extrativistas (Coura *et al.* 1999, 2002; Junqueira 2005). Os casos positivos foram atribuídos a exposição continuada, à noite, dos trabalhadores, a essa espécie vetora, e cuja moradia fica próxima ao local de extração (Coura *et al.* 1999, 2002; Junqueira 2005).

O extrativismo da fibra de piaçaba é uma importante atividade econômica para as famílias da cidade e das comunidades do Alto e Médio rio Negro (Aguilar *et al.* 2007; Meira 1993; Oliete-Josa 2008). O êxodo rural, cada vez mais crescente e a falta de oportunidades para os moradores da cidade no entorno urbano, consolida o extrativismo de recursos florestais como importante atividade econômica nesta região (Oliete-Josa 2008).

O gênero *Leopoldinia* tem três espécies distribuídas na Amazônia Central (Araújo & Queiroz 2007; Henderson 2011), *L. piassaba* (Wallace, 1853), *L. pulchra* (Martius 1823-1837) e *L. major* (Wallace 1853). A *L. piassaba* é popularmente conhecida como piaçaba ou piaçaba no Brasil e chiquechique na Venezuela e Colômbia, locais onde a fibra é comercializada. Este gênero possui morfologia diferenciada especialmente pela elaborada arquitetura das bainhas foliares com longas fibras que recobrem todo o troco (Henderson 2011). Estão classificadas na subfamília Arecoideae, tribo Areceae e subtribo Leopoldiniinae (Araújo & Queiroz 2007).

A distribuição da *L. piassaba* ocorre na região norte da região amazônica brasileira, no estado do Amazonas (Figura 1.3), Colômbia e Venezuela. Esta espécie de palmeira pode ser encontrada em elevações de florestas ou em áreas inundadas adjacentes aos rios de água preta, e ao longo de diversos afluentes do rio Negro, como rio Padaurí, rio Daraá, rio Marie e rio Xié (Lorenzi *et al.* 2010; Henderson 2011).

Na literatura existe uma definição para as características de “ecótopos de risco”, como micro habitats onde as espécies apresentam comportamento sinantrópico e estão frequentemente infectadas com *T. cruzi*, podendo alcançar alta densidade e sendo de grande importância epidemiológica onde exista o contato entre humanos e triatomíneos silvestres (Romaña *et al.* 1999; Abad-Franch *et al.* 2004; Feliciangeli *et al.* 2007; Angulo *et al.* 2012).

Nestes ecótopos a alimentação é escassa devido à baixa disponibilidade de fonte alimentar (Abad-Franch *et al.* 2004). Isso explicaria o comportamento agressivo de algumas espécies como, por exemplo, o *R. brethesi* em relação aos coletores de piaçaba (Coura *et al.* 1994), aumentando assim seu poder de transmitir o *T. cruzi*, devido à aproximação humana ao habitat natural destes insetos.

Como *R. brethesi* somente é encontrado na *L. piassaba*, esta espécie de palmeira poderá ser usada para identificar a presença de vetores e hospedeiros do ciclo silvestre de transmissão do *T. cruzi*. Investigando a distribuição desta palmeira torna possível o mapeamento da presença e a abundância destes triatomíneos (Romaña *et al.* 1999). Estudos mais amplos demonstraram a ocorrência destas palmeiras em regiões como no rio Orinoco, que se localiza nas terras altas da Amazônia venezuelana e na Amazônia colombiana, além do Brasil (Henderson, 2011).

No sentido de ampliar o conhecimento sobre a biologia e ecologia das populações de triatomíneos silvestres, na cadeia de transmissão do *T. cruzi*, pretendemos entender a especificidade do vetor *R. brethesi* à palmeira *L. piassaba*. Desta forma, avaliaremos distintas espécies de palmeiras em regiões onde essa espécie vetora vem sendo descrita, o perfil antenal desta espécie com vetores generalistas, e as estruturas sensoriais e alares.



Figura 1.3: Distribuição geográfica da palmeira *Leopoldinia piassaba* no Brasil.

Fonte: Lorenzi *et al.* 2010.

## 2. Hipóteses

A palmeira *Leopoldinia piassaba* é o ecótopo específico da espécie vetora *Rhodnius brethesi*.

O perfil das *sensilla* presente nas antenas e os aspectos morfométricos das asas da espécie vetora *R. brethesi* possuem informações capazes de conferir especificidade de habitat.

## 3. Objetivo Geral

Realizar estudo comparativo de padrões morfológicos, antenas e asas, entre espécimes de *Rhodnius brethesi* criados no laboratório e silvestres e sua possível especificidade em relação a palmeira *Leopoldinia piassaba*.

### **3.1. Objetivos específicos**

- 1) Confirmar a presença da espécie *Rhodnius brethesi* e da palmeira *Leopoldinia piassaba* em três estados brasileiros (Amazonas, Pará e Maranhão).
- 2) Verificar se a presença do triatomíneo *R. brethesi* está associada a presença da palmeira *L. piassaba*.
- 3) Caracterizar o fenótipo antenal e o perfil morfométrico das asas dos espécimes de *Rhodnius brethesi* criados no Laboratório de Doenças Parasitárias – IOC / FIOCRUZ.
- 4) Definir o fenótipo antenal e o perfil morfométrico das asas dos espécimes de *Rhodnius brethesi* silvestres capturados na Microrregião do Rio Negro, Amazonas.
- 5) Comparar o fenótipo antenal e o perfil morfométrico das asas dos espécimes de *Rhodnius brethesi* silvestres e do laboratório.
- 6) Comparar caracteres específicos do fenótipo antenal de *R. brethesi* com outras espécies de *Rhodnius* classificadas como generalistas.

## **4. Material e Métodos**

### **4.1. Conhecimento popular da espécie vetora e do seu ecótopo**

#### **4.1.1. Kits de identificação da espécie *Rhodnius brethesi* e da palmeira *Leopoldinia piassaba***

Antes de definir os pontos de coletas, a partir dos descritos na literatura, optou-se investigar, com a participação das equipes municipais de saúde, junto à população, através da apresentação do kit informativo e da aplicação de questionários, o conhecimento da presença da espécie vetora *R. brethesi* e do ecótopo *Leopoldinia piassaba*.

Os Kits informativos foram elaborados baseados nos informes existentes na literatura para as regiões onde constava a presença de triatomíneos da espécie *R. brethesi*, sendo estas: 4 municípios da Microrregião do Rio Negro (Novo Airão, Santa Izabel do Rio Negro, Barcelos e São Gabriel da Cachoeira) (Matta 1919; Mascarenhas 1991; Coura *et al.* 1999 e 2002; Junqueira 2005), e 3 municípios do Maranhão (municípios: Loreto, São Félix das Balsas e Sambaíba) (Rebêlo *et al.* 1998; Rebêlo 2000). Foram distribuídos 20 questionários por região.

Com relação ao estado do Pará, onde também foi descrita a presença de *R. brethesi*, antes da distribuição dos kits, foram checadas, inicialmente, a descrição exata dos locais de encontro da espécie. Essa informação foi obtida, através do envio de correspondência oficial ao setor de Vigilância Entomológica do referido estado e à Coleção Entomológica do Museu Emílio Goeldi, também do referido estado.

O kit era composto de: TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido), questionários sobre conhecimento da espécie de triatomíneo *R. brethesi* e da palmeira *L. piassaba*, placas com exemplares de todos os estádios desta espécie, chave dicotômica, fotos de identificação dos três principais gêneros de triatomíneos, foto da palmeira *L. piassaba* e foto explicativa de como proceder na coleta e onde entregar os espécimes de triatomíneos (Anexo 1).

## **4.2. Triatomíneos**

No nosso estudo foram empregados tanto espécimes criados em laboratório, como exemplares de triatomíneos capturados no campo (denominados espécimes silvestres). Além desses espécimes, no que se refere ao estudo de morfologia da *sensillas*, foram utilizadas antenas de diferentes espécies do gênero *Rhodnius* fornecidas pelo laboratório de Referência para Padrões Sensoriais no CRILAR – Argentina. Os detalhes são apresentados a seguir.

### **4.2.1. Espécimes de laboratório**

Os espécimes da espécie *Rhodnius brethesi* utilizados no estudo foram procedentes da colônia proveniente da localidade do município de Barcelos e Santa Isabel do Rio Negro (margem esquerda), e mantidos no Laboratório de Doenças Parasitárias – FIOCRUZ/IOC, até a 21<sup>o</sup> geração.

As colônias foram mantidas em ambiente fechado, seguindo as condições estabelecidas pela biossegurança, com temperatura média de 25 °C e umidade relativa de 52%. Os triatomíneos selecionados da colônia foram separados em dois grupos de acordo com a variação cromática do pronoto: indivíduos com mancha (PRESENTE) e indivíduos sem mancha (AUSENTE) (Figura 4.1).

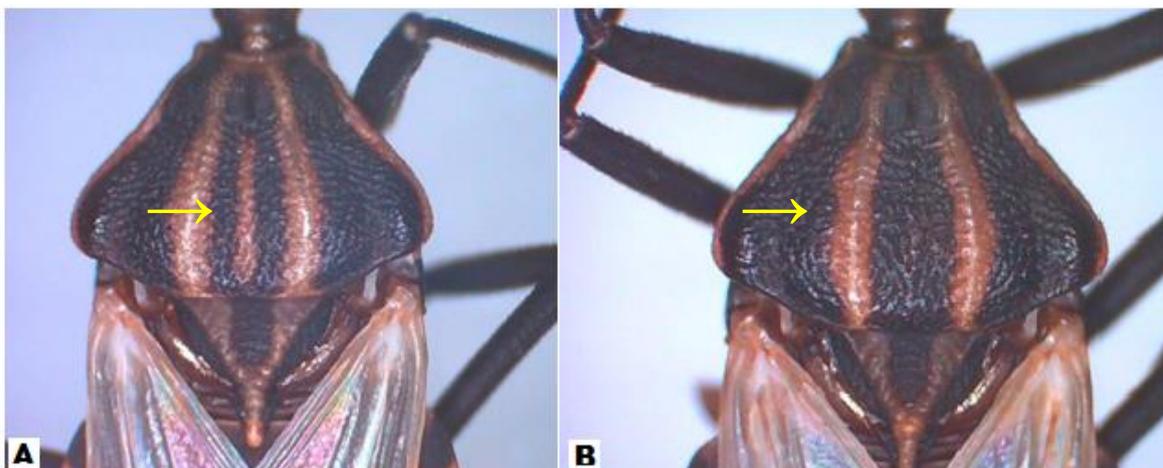


Figura 4.1: Variações cromáticas do pronoto apresentada por espécimes de *R. brethesi*. A: Mancha presente; B: Mancha ausente.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

#### 4.2.2. Espécimes silvestres

No ambiente silvestre os triatomíneos foram capturados com armadilhas Noireau (Noireau *et al.* 2002) e armadilha luminosa do tipo Malaise. Os espécimes silvestres coletados foram transportados para o laboratório em potes plástico contendo papel de filtro e com tampas teladas e posteriormente passaram por processo de triagem baseado na mesma metodologia de observação do padrão cromático do pronoto. O acondicionamento dos exemplares vivos seguiu as normas de biossegurança e de conservação das características morfológicas dos espécimes.

Todas as antenas cedidas pelo CRILAR foram de espécimes de triatomíneos capturados em ambiente silvestre (Informação pessoal Catalá S). As outras espécies de *Rhodnius* utilizadas no estudo foram: *Rhodnius robustus* Larrousse 1927, *Rhodnius pictipes* Stal 1872, *Rhodnius neglectus* Lent 1954, *Rhodnius neivai* Lent 1953, *Rhodnius nasutus* Stal 1859, *Rhodnius ecuadoriensis* Lent & Léon 1958, *Rhodnius stali*, *Rhodnius colombiensis*, *Rhodnius pallescens* Barber 1932, *Rhodnius prolixus* Stal 1859 e *Rhodnius domesticus* Neiva & Pinto 1923.

### 4.3. Locais de procedência dos espécimes silvestres estudadas

#### 4.3.1. Município de Barcelos

O município de Barcelos localiza-se no estado do Amazonas, Brasil, margem esquerda do rio Negro e possui uma área territorial de 122.476,123 Km<sup>2</sup>. A população estimada para o ano de 2013 é de 27.110 habitantes (IBGE 2013) (Figura 4.2).

Durante cinco dias (11/08 a 15/08/2012) a equipe de trabalho, composta por cinco integrantes, permaneceu acampada na área de extração de piaçaba ou piaçabal, chamada localmente por colocação Candido e situada no igarapé do Acuquaia no rio Padaurí, afluente da margem esquerda do rio Negro. As palmeiras foram identificadas através do conhecimento local e por livro (Lorenzi 2010).

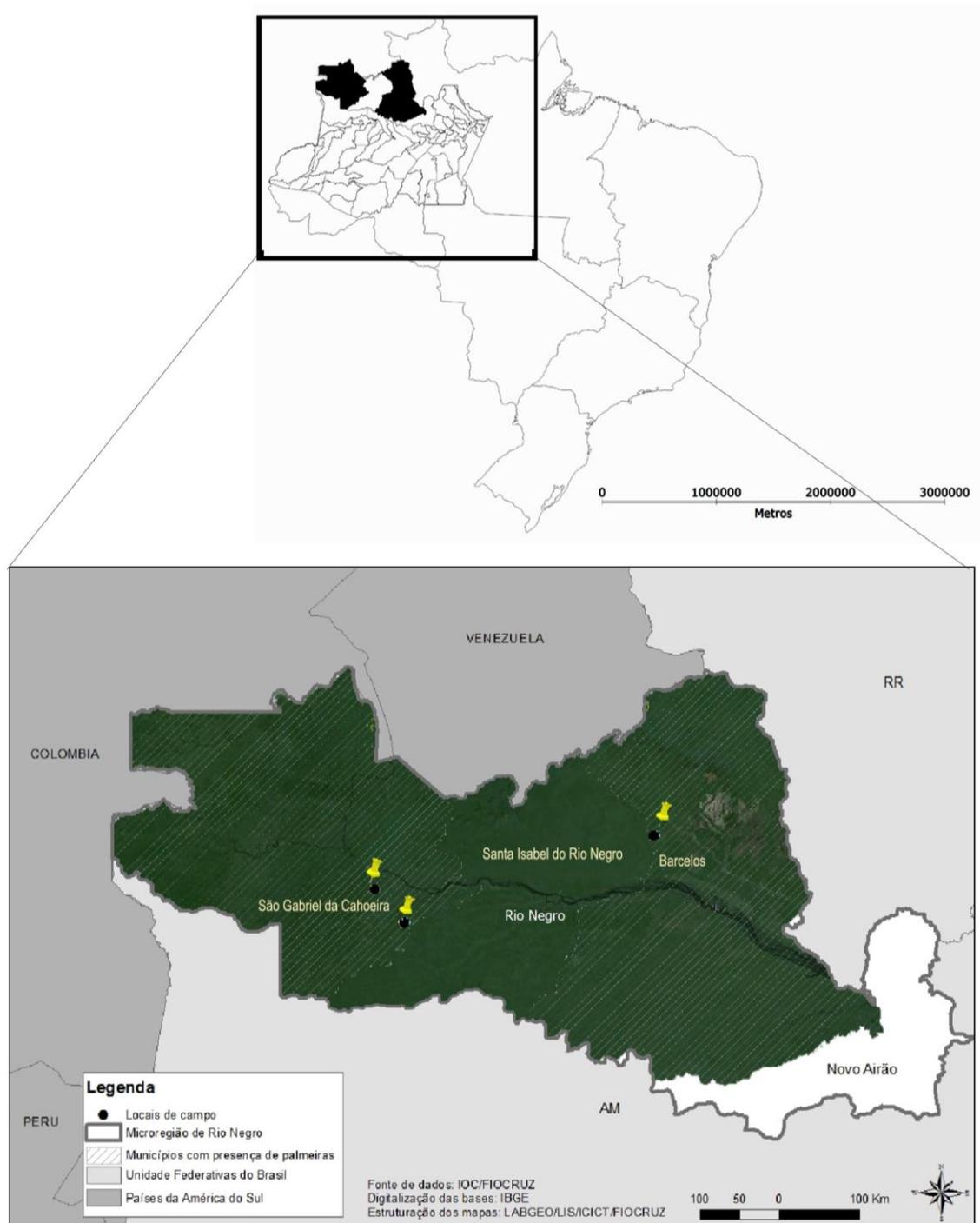


Figura 4.2: Localização dos piaçabais pesquisados nos municípios de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

### **4.3.2. Município de São Gabriel da Cachoeira**

O município de São Gabriel da Cachoeira localiza-se no estado do Amazonas, Brasil, cuja sede fica na margem direita do rio Negro e possui uma área territorial de 109.183,434 Km<sup>2</sup>. A população estimada para o ano de 2013 é de 79.471 habitantes (IBGE 2013) (Fig. 4.3).

Neste município foram feitas duas capturas em diferentes localidades, com a duração de cinco dias em cada ponto. A primeira foi realizada no piaçabal do Mutum no rio Curicuriarí e a segunda, no piaçabal do Pilão no rio Iá. Ambos os rios são afluentes da margem direita do rio Negro. O período de captura dos espécimes de triatomíneos ocorreu nas proximidades do Rio Curicuriarí de 29/08 à 03/09 e no rio Iá de 03/09 à 07/09/2012.

Para entrar na área e realizar o trabalho obteve-se autorização do presidente da FOIRN (Federação das Organizações Indígenas do Rio Negro) o Sr. Abraão França, pois as duas regiões estão inseridas em território indígena, bem como dos líderes comunitários de cada comunidade mais próxima ao rio investigado. Em cada uma dessas comunidades era feita uma palestra explicando o motivo da investigação.

## **4.4. Obtenção dos espécimes de triatomíneos em palmeiras**

### **4.4.1. Transporte**

#### **4.4.1.1. Camundongos**

Como isca atrativa, na amadilha de Noireau, empregamos 40 camundongos *Swiss Webster*, fornecidos pelo CECAL – FIOCRUZ. Eles foram transportados do Rio de Janeiro até Manaus-AM, por avião, seguindo as normas legalmente estabelecidas (Fig. 4.3).

Todos os procedimentos utilizados no manejo e transporte dos camundongos estavam de acordo com os critérios estabelecidos pelos Princípios Éticos de Experimentação Animal. Este projeto recebeu a autorização do Comitê de Utilização Animal, pela licença LW-56/12 válida até 16 de julho de 2016.



Figura 4.3: Caixas de transporte cedidas pelo CECAL/FIOCRUZ utilizadas para transporte de camundongos.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

#### 4.4.1.2. Triatomíneos

O transporte e a captura dos triatomíneos nas áreas de estudo foram realizados seguindo o protocolo (número 29683-1) da licença do SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade) – ICMBio.

Os espécimes de *R. brethesi* capturados no município de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira foram transportados em caixas para transporte de material biológico (UN 3373) fornecidas pela FIOCRUZ.

No campo os triatomíneos foram separados e transportados em sacos plásticos devidamente identificados com dia, hora da captura e estágio ninfal. Dentro destes sacos colocamos uma gaze umedecida e algumas fibras de piaçaba (Fig. 4.4).



Figura 4.4: Sacos plásticos identificados com data, hora e estágio ninfal utilizados para o transporte no campo, dos insetos coletados em armadilhas Noireau.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

## 4.4.2. Técnicas de capturas utilizadas

### 4.4.2.1. Armadilha Noireau

Foram utilizadas 95 armadilhas de Noireau contendo um camundongo por armadilha como atrativo de fonte alimentar (isca viva) para os espécimes de *R. brethesi*. As armadilhas permaneciam no ambiente pelo período de oito horas, após este período realizava-se a vistoria das armadilhas e o rodízio dos animais com a troca da maravalha e adição de comida (pedaços de pepino, abóbora e/ou melão). Isso ocorreu durante os cinco dias de permanência nas localidades. (Fig. 4.5).

As outras palmeiras utilizadas no estudo, de espécie diferente de *L. piassaba*, foram selecionadas segundo a proximidade de um exemplar de *L. piassaba* presente na trilha.

Em palmeiras que obtiveram número de insetos capturados igual ou maior que cinco ou que continham ninfas desde o primeiro dia até o terceiro dia de captura, foi colocada mais uma armadilha na copa. Com este processo se busca verificar a presença de adultos, pois se suspeita que uma palmeira infestada de ninfas tenha maior probabilidade de capturar os triatomíneos na copa (Forattini 1971).



Figura 4.5: Armadilha Noireau contendo como isca camundongo.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

### 4.4.2.2. Medições feitas entre as palmeiras selecionadas

Com objetivo de avaliar a presença da espécie vetora *R. brethesi* tanto na *L. piassaba* como também em outras espécies de palmeiras, foram fixadas armadilhas Noireau em distintas palmeiras próximas uma das outras. Esse procedimento foi realizado em dois piaçabais, e medida a distância entre essas palmeiras com auxílio de uma trena.

As palmeiras de *L. piassaba* com armadilhas positivas próximas a outras palmeiras de espécie diferente, que não obtiveram ninfas ou adultos nas armadilhas, seria uma confirmação da especificidade de ecótopo.

#### 4.4.2.3. Armadilha luminosa

Para captura específica dos triatomíneos adultos utilizou-se armadilha luminosa do tipo Malaise (Townes, 1972) segundo o preconizado por Junqueira *et al.* (2011). Em cada ponto escolhido montou-se um grande tecido branco (1,5m x 2,0m) com duas lanternas grandes com lâmpadas de LED equivalentes a 300 velas voltadas para o tecido, para produzir um efeito maior de iluminação (Fig. 4.6). Por serem alados, os adultos voavam atraídos pela luz e pousavam no tecido. Todos os insetos foram colocados em sacos identificados com o horário, dia e local de captura.

As capturas utilizando as armadilhas luminosas foram realizadas em diferentes pontos sempre no mesmo horário que compreendia o crepúsculo vespertino e período noturno com as mesmas características fitogeográficas. Esta metodologia foi empregada em todas as três localidades (Fig. 4.6).

Os espécimes capturados foram identificados com auxílio da chave dicotômica de acordo com Lent & Wygodzinsky (1979).

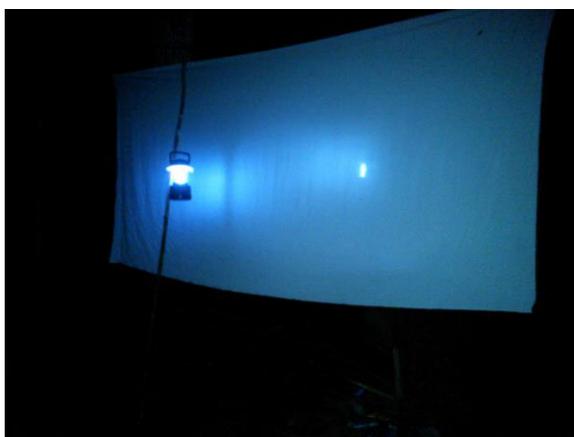


Figura 4.6: Armadilha luminosa do tipo Malaise utilizada nas capturas realizadas durante o crepúsculo vespertino e noturno.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

#### 4.5. Município de Barcelos

As palmeiras selecionadas para o estudo foram: piaçabas (*Leopoldinia piassaba*), buçus (*Manicaria saccifera*), patauás (*Oenocarpus bataua*) e inajá (*Attalea maripa*) (Tabela 4.1). Com o objetivo de avaliar a especificidade de ecótopo do *R. brethesi* colocou-se as armadilhas nestas outras três espécies de palmeiras que estavam próximas as palmeiras de *L. piassaba* selecionadas para o estudo, conforme preconizado no item 4.4.2.2.

Em todas as palmeiras foram colocadas armadilhas de Noireau, a 1,60m da base, que permaneceram fixadas e identificadas durante todo período de captura (Fig. 4.7). Em piaçabas menores, de até 2 metros de altura, as armadilhas ficaram próximas à copa das palmeiras (Fig. 4.8).

Em algumas palmeiras de buçu, patauá e inajá também foram colocadas armadilhas nas copas, com a finalidade de aumentar as chances de capturar algum exemplar de *R. brethesi*.

Tabela 4.1: Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras pesquisadas na localidade do município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Armadilha	Espécie de palmeira	Altura(m)	Nº de armadilha
1	<i>L. piassaba</i>	5,10	1
2	<i>L. piassaba</i>	3,00	1
3	<i>L. piassaba</i>	4,10	2
4	<i>L. piassaba</i>	5,20	2
5	<i>L. piassaba</i>	1,20	1
6	<i>L. piassaba</i>	4,90	1
7	<i>L. piassaba</i>	2,80	1
8	<i>L. piassaba</i>	4,00	1
9	<i>L. piassaba</i>	9,50	2
10	<i>L. piassaba</i>	1,79	1
11	<i>L. piassaba</i>	8,00	1
12	<i>L. piassaba</i>	12,00	1
13	<i>L. piassaba</i>	16,00	1
14	<i>L. piassaba</i>	3,50	1
15	<i>L. piassaba</i>	6,50	2
16	<i>M. saccifera</i>	3,00	1
17	<i>M. saccifera</i>	1,70	1
18	<i>M. saccifera</i>	3,00	2
19	<i>L. piassaba</i>	4,60	1
20	<i>L. piassaba</i>	3,00	1
21	<i>M. saccifera</i>	2,50	2
22	<i>L. piassaba</i>	10,00	1
23	<i>A. maripa</i>	3,00	2
24	<i>L. piassaba</i>	4,00	1
25	<i>L. piassaba</i>	1,60	1
26	<i>L. piassaba</i>	5,20	1
27	<i>L. piassaba</i>	3,42	2
28	<i>O. bataua</i>	7,00	1
29	<i>O. bataua</i>	9,00	2
30	<i>L. piassaba</i>	1,50	1
31	<i>O. bataua</i>	7,00	1
32	<i>M. saccifera</i>	3,00	1
33	<i>O. bataua</i>	6,00	1
34	<i>O. bataua</i>	6,00	1
Total			43



Figura 4.7: Palmeira da espécie *Leopoldinia piassaba* com armadilha Noireau. Piaçabal Candido, rio Padaurí, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 4.8: Exemplar de *L. piassaba* menor que 2m. Armadilha Noireau próxima à copa. Piaçabal Candido, rio Padaurí, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

Neste piaçabal, localizado no município de Barcelos, realizou-se durante o período noturno, busca dos triatomíneos adultos com a utilização de armadilha luminosa. Foram selecionados três pontos de capturas. Estas capturas ocorreram durante três dias por seis horas (18h às 24h) em cada noite e estas foram realizadas próximas aos aglomerados de palmeiras gigantes da espécie *L. piassaba*. (Fig. 4.9).



Figura 4.9: Armadilha luminosa montada próxima ao aglomerado de *L. piassaba*. Piaçabal Candido, rio Padaurí, no Município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

## 4.6. Município de São Gabriel da Cachoeira

### 4.6.1. Piaçabal do Mutum (rio Curicuriari)

As armadilhas de Noireau foram colocadas em 22 palmeiras da espécie *L. piassaba*. Utilizou-se somente esta espécie de palmeira porque não haviam outras espécies de palmeiras próximas à trilha. As armadilhas permaneceram fixadas e identificadas durante todo período de captura. Todas as palmeiras foram medidas com auxílio de uma trena (Tabela 4.2).

Para captura dos insetos adultos com auxílio da armadilha luminosa escolheu-se três pontos próximos à trilha onde estavam montadas as armadilhas de Noireau. Estas capturas ocorreram por quatro dias, seis horas por noite (18h às 24h).

Tabela 4.2: Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras. Piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no Município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Armadilha	Espécie de palmeira	Altura (m)	Nº de armadilha
1	<i>L. piassaba</i>	1,15	1
2	<i>L. piassaba</i>	2,15	1
3	<i>L. piassaba</i>	4,25	1
4	<i>L. piassaba</i>	3,10	1
5	<i>L. piassaba</i>	5,80	1
6	<i>L. piassaba</i>	6,90	1
7	<i>L. piassaba</i>	8,05	1
8	<i>L. piassaba</i>	12,30	1
9	<i>L. piassaba</i>	13,60	1
10	<i>L. piassaba</i>	2,40	1
11	<i>L. piassaba</i>	2,00	1
12	<i>L. piassaba</i>	2,00	1
13	<i>L. piassaba</i>	3,90	1
14	<i>L. piassaba</i>	5,80	1
15	<i>L. piassaba</i>	6,10	1
16	<i>L. piassaba</i>	11,90	1
17	<i>L. piassaba</i>	5,00	1
18	<i>L. piassaba</i>	3,20	1
19	<i>L. piassaba</i>	5,70	1
20	<i>L. piassaba</i>	6,15	1
21	<i>L. piassaba</i>	9,20	1
22	<i>L. piassaba</i>	6,30	1
Total			22

#### 4.6.2. Piaçabal do Pilão (rio Iá)

Neste piaçabal, último investigado, optou-se em adicionar, em algumas palmeiras, mais armadilhas de Noireau (dois ou três) durante a investigação. O objetivo foi aumentar a probabilidade de capturar mais espécimes de *R. brethesi*. As armadilhas de Noireau foram colocadas em vinte palmeiras de piaçaba (*L. piassaba*) e cinco patauás (*O. bataua*), únicas palmeiras presentes ao redor do local do ponto de estudo (Tabela 4.3). De todas as palmeiras investigadas também foram medidas a altura e o diâmetro, com auxílio de uma trena.

As armadilhas luminosas foram montadas em locais próximos aos pontos onde havia maior quantidade de palmeiras da espécie *L. piassaba*.

Tabela 4.3: Número da armadilha Noireau, espécie de palmeira e altura (m) das palmeiras. Piaçabal do Pilão, rio Ia, no Município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

<b>Armadilha</b>	<b>Espécie de palmeira</b>	<b>Altura (m)</b>	<b>Nº de armadilha</b>
1	<i>L. piassaba</i>	4,25	2
2	<i>L. piassaba</i>	7,36	1
3	<i>L. piassaba</i>	4,26	1
4	<i>O. bataua</i>	10,30	1
5	<i>L. piassaba</i>	6,10	1
6	<i>L. piassaba</i>	4,80	1
7	<i>O. bataua</i>	6,80	1
8	<i>L. piassaba</i>	7,90	1
9	<i>L. piassaba</i>	7,00	2
10	<i>L. piassaba</i>	7,90	1
11	<i>L. piassaba</i>	8,05	1
12	<i>L. piassaba</i>	8,40	1
13	<i>O. bataua</i>	12,35	1
14	<i>L. piassaba</i>	5,65	1
15	<i>L. piassaba</i>	3,15	1
16	<i>L. piassaba</i>	5,10	1
17	<i>O. bataua</i>	8,64	1
18	<i>L. piassaba</i>	7,25	2
19	<i>L. piassaba</i>	2,35	1
20	<i>O. bataua</i>	8,00	1
21	<i>L. piassaba</i>	4,25	1
22	<i>L. piassaba</i>	5,30	1
23	<i>L. piassaba</i>	8,15	1
24	<i>L. piassaba</i>	7,65	3
25	<i>L. piassaba</i>	7,45	1
<b>Total</b>			<b>30</b>

## **4.7. Estruturas morfológicas analisadas**

### **4.7.1. Antenas**

#### **4.7.1.1. Espécimes empregados**

Uma vez que o fenótipo antenal é dado pela quantidade e disposição espacial das *sensilla* nas antenas realizou-se o estudo comparativo dessas estruturas, onde foram utilizados 43 espécimes adultos de ambos os sexos provenientes da colônia mantida no Laboratório de Doenças Parasitárias, IOC/FIOCRUZ, e 50 procedentes de coletas realizadas com emprego de armadilhas luminosas no piaçabal Candido, localizado no igarapé do Acuquaia no rio Padaurí, município de Barcelos. Todos separados pela variação cromática do pronoto.

Também foram utilizados três espécimes de cada uma das onze espécies de *Rhodnius*, a saber: *Rhodnius robustus*, *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius neglectus*, *Rhodnius neivai*, *Rhodnius nasutus*, *Rhodnius ecuadoriensis*, *Rhodnius stali*, *Rhodnius colombiensis*, *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus* e *Rhodnius domesticus*, cedidas pelo laboratório de Referência para Padrões Sensoriais do CRILAR (Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica), Argentina.

Nesta etapa utilizou-se somente as antenas dos indivíduos coletados no município de Barcelos, pois, o número de insetos adultos da localidade de São Gabriel da Cachoeira não foi suficiente para realizar uma análise estatística e todos os exemplares de ninfas chegaram ao laboratório mortos.

#### 4.7.1.2. Preparação das antenas

As antenas de cada indivíduo, proveniente do campo e do laboratório, foram retiradas e preservadas em álcool 70% (Tabela 4.4). Depois foram lavadas com água destilada com o objetivo de prepará-las para o clareamento. Após esta etapa, foram processadas com hidróxido de sódio a 4% por 3 horas na estufa a 60°C, neutralizada com ácido acético a 5% por 30 minutos e mantidas na glicerina para preservação das mesmas, seguindo o protocolo preconizado por Catalá & Schofield, 1994.

Tabela 4.4 Número de indivíduos estudados de *R. brethesi* (machos e fêmeas) silvestres e do laboratório avaliados para caracterização do fenótipo antenal. AUS: mancha ausente; PRES: mancha presente; F: Fêmea; M: Macho.

<b>Ecótopo</b>	<b>Mancha</b>	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>Total</b>
<b>Laboratório</b>	AUS	9	10	19
	PRES	11	13	24
<b>Palmeira Silvestre</b>	AUS	12	12	24
	PRES	12	14	26
	<b>Total</b>	44	49	93

Este processo permite o clareamento da cutícula e a visualização dos receptores presentes em três segmentos da antena (pedicelo, flagelo 1-F1 e flagelo 2-F2) ao microscópio (400x) com câmara clara (Fig. 4.10).

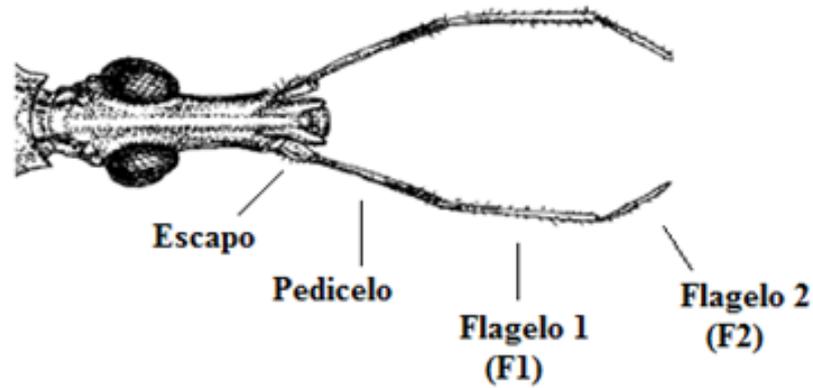


Figura 4.10: Esquema adaptado de Catalá e Schofield, 1994, demonstrando os quatro segmentos da antena de triatômíneos.

Fonte: Catalá & Schofield, 1994.

Uma antena (independente de ser esquerda ou direita) de cada espécime foi posta, entre lâmina e lamínula, no lado ventral para identificação e contagem das *sensilla*, de acordo com Catalá e Schofield (1994): bristles (BR), tricoidea de parede fina (TPF), tricoidea de parede grossa (TPG) e basicônica (BA) (Fig. 4.11).

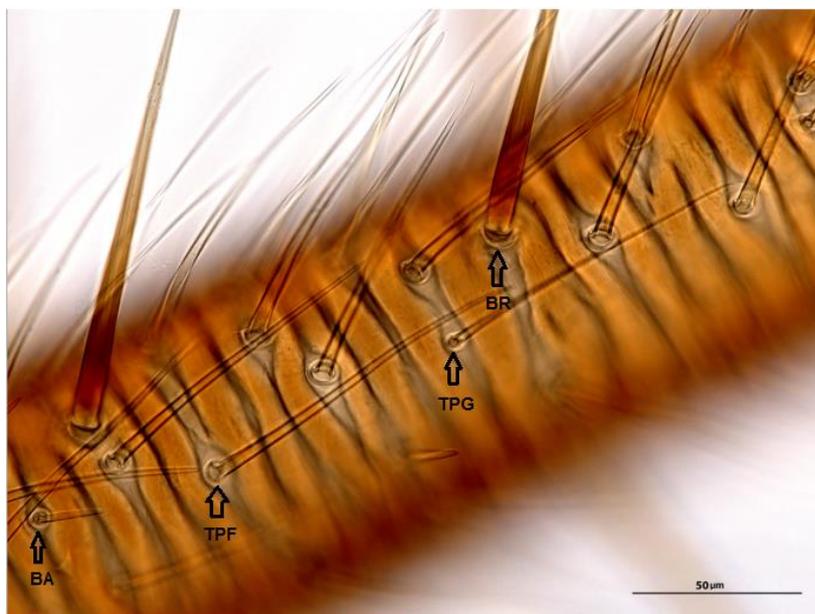


Figura 4.11: Visualização das *sensilla* em F1 da antena de *Rhodnius brethesi* silvestre capturado na localidade do piaçabal do município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: tricoidea de parede grossa; BA: basicônica.

Os quimiorreceptores TPF e TPG foram medidos com auxílio da lente ocular micrométrica de aumento 10x (marca ZEIS) acoplada ao microscópio óptico. Os dois tipos de *sensilla* foram medidos da base até o ápice.

## 4.7.2. Asas

### 4.7.2.1. Espécimes empregados

Foram analisadas 111 asas (direita e esquerda) de machos e fêmeas de *R.brethesi* coletados em armadilhas luminosas no piaçabal Candido, localizado no igarapé do Acuquaia no rio Padaurí, município de Barcelos. E 166 asas de triatomíneos utilizados da colônia do Laboratório de Doenças Parasitárias, FIOCRUZ / IOC, randomicamente selecionados para o estudo (Tabela 4.5).

Tabela 4.5: Quantidade de asas de *R. brethesi* analisadas e separadas por ecótopo, sexo e mancha. AUS: mancha ausente; PRES: mancha presente; F: fêmea; M: macho. Espécimes silvestres provenientes do município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

<b>Ecótopo</b>	<b>Mancha</b>	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>Total</b>
<b>Laboratório</b>	AUS	37	37	74
	PRES	44	48	92
<b>Palmeira Silvestre</b>	AUS	28	21	49
	PRES	26	36	62
	<b>Total</b>		135	142

### 4.7.2.2. Preparação das asas

As asas (direita e esquerda) dos triatomíneos foram removidas na altura da articulação com o tórax (Fig. 4.12) e montadas entre duas lâminas para que as asas ficassem planas e posteriormente fotografadas com identificação e escala, utilizando a câmera embutida na lupa Luxeo 4D com objetiva de 0,8 (aumento de 8x).

Utilizamos as duas asas para evitar problemas com as populações que tinham um número amostral muito baixo.



Figura 4.12: Remoção das asas de espécime de *Rhodnius brethesi*.

Foto: Dra. Catarina Macedo.

Seguindo a metodologia definida por Bookstein (1991), nove pontos anatômicos (*landmarks*) – tipo I foram selecionados para análise do tamanho e forma das asas dos espécimes dos diferentes ecótopos. Alguns autores, em estudos de morfometria das estruturas alares, já utilizaram esta metodologia em outros gêneros de triatomíneos como, por exemplo: *Panstrongylus* e *Triatoma* (Aldana *et al.* 2011; Carbajal de La Fuente *et al.* 2011) (Fig. 4.13). Estes pontos anatômicos foram marcados utilizando o programa livre COO, Versão 45c. Este módulo faz parte do pacote CLIC 50, software livre e desenvolvido por Dujardin (2010) (“General Public License” <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>).

As asas que apresentavam deformidades e rupturas das venações foram descartadas pela impossibilidade de marcação dos pontos anatômicos.

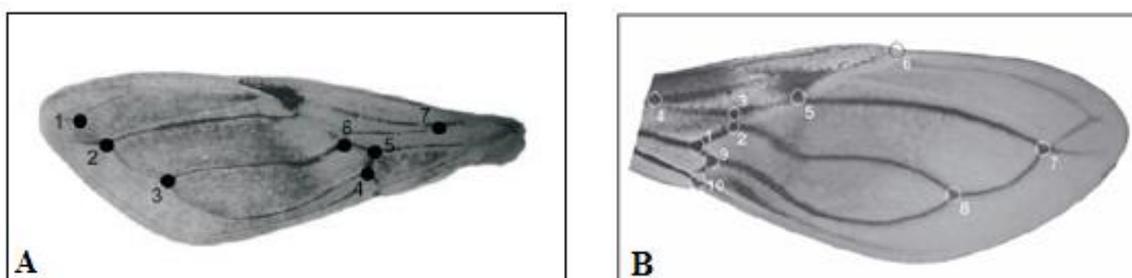


Figura 4.13: A: Sete pontos anatômicos marcados, na asa esquerda, de *Panstrongylus geniculatus*; B: Dez pontos anatômicos marcados, na asa direita, de *Triatoma arthurneivai* e *Triatoma wygodzinsky*.

## 4.8. Testes estatísticos

### 4.8.1. Antenas

Foram analisados espécimes de *R. brethesi* provenientes do laboratório de Doenças Parasitárias/FIOCRUZ e silvestres capturados no piaçabal do Candido no município de Barcelos, estado do Amazonas.

Para realização das análises estatísticas foram quantificadas quatro variáveis nos três segmentos estudados (pedicelo, flagelo 1 e flagelo 2) das antenas dos espécimes de *R. brethesi*, sendo: bristles (BR), tricoidea de parede fina (TPF), tricoidea de parede grossa (TPG) e basicônica (BA). As análises foram realizadas entre: machos (M) e fêmeas (F) de *R. brethesi* provenientes de ecótopo artificial; machos (M) e fêmeas (F) de *R. brethesi* silvestres e espécimes (M e F) de *R. brethesi* provenientes de ecótopo artificial e espécimes (M e F) silvestres.

O Teste de Levene foi usado para determinar homogeneidade entre as variáveis e as que possuíam valores homogêneos foram analisadas pelo Test t ( $p < 0,05$ ). Utilizando o valor  $p < 0,01$  em algumas análises, com maior nível de significância, continuamos demonstrando diferenças estatísticas significativas entre as amostras. Para as variáveis que apresentaram heterogeneidade foi utilizado teste não paramétrico Mann Whitney U test.

Na análise multivariada dos dados utilizou-se o software PADWIN (Dujardin, 2004) para identificar as diferenças morfológicas das antenas existentes entre os grupos, estimando a significância estatística através dos valores de Mahalanobis para estudos não paramétricos por teste de permutação (permutação 1000) depois do teste de Bonferroni.

### 4.8.2. Asas

Para realização da técnica de morfometria geométrica das asas foram analisadas 277 espécimes de *R. brethesi* provenientes do laboratório e silvestres capturados no piaçabal Candido no município de Barcelos, estado do Amazonas. Para determinação do tamanho centróide e a conformação das fêmeas e machos de *R. brethesi* foi utilizado o programa estatístico JMP versão 10 livre para teste (<http://www.jmp.com/software/jmp10>).

A análise univariada do tamanho centróide das asas foi realizada para comparação entre os grupos (Cálculo do centroide- CS, ANOVA e Teste t). Na análise da conformação (Shape) os testes utilizados foram: Método de Procrusters, Análise Discriminante, Distância de Mahalanobis e % reclassificação. A proximidade da conformação entre os grupos foi analisada usando a distância de Mahalanobis corrigido pelo teste de Bonferroni ( $p < 0,0083$ ). As distâncias foram utilizadas para produzir o dendograma UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*).

Para determinar se houve variação na conformação (shape) em relação a variação de tamanho dentro dos grupos estudados, indicando alometria comum, utilizou-se análise multivariada de covariância (MANCOVA).

## **5. Resultados**

### **5.1. Investigação da distribuição do *Rhodnius brethesi* e da *Leopoldinia piassaba* no Brasil**

#### **5.1.1. Estado do Pará**

Os erros de identificação na descrição da área de coleta dos espécimes de *R. brethesi*, e na catalogação destes pode ser constatado pelo próprio pesquisador do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Dr. Bento Mascarenhas, que fez o depósito de todos os espécimes de *R. brethesi* existentes na Coleção Entomológica. Segundo Mascarenhas em comunicação pessoal e depois por envio de documento escrito, os espécimes depositados na coleção entomológica do museu são da Microrregião do Rio Negro, AM, Brasil. No contato, verbal e por escrito, o Dr. Mascarenhas enfatiza que o *R. brethesi* ocorre somente na palmeira *Leopoldinia piassaba* (Anexo 2).

As informações do Dr. Mascarenhas foram reforçadas pelo posicionamento da responsável da Divisão de Entomologia do LACEN/SESPA, Dra. Paola Cristina Vieira Amorim, que informou que até a presente data quando da emissão do documento (30 de agosto de 2012) não havia nenhum registro de ocorrência de *R. brethesi* no estado do Pará (Anexo 3).

Devido a estes dois relatos, no estado do Pará, não foram distribuídos kits para investigação deste triatomíneo e do seu ecótopo, uma vez que se confirmou um erro de informação sobre a presença da espécie de *Rhodnius brethesi* no estado.

#### **5.1.2. Estado do Maranhão e Amazonas**

Em junho de 2013, entramos em contato o Prof<sup>o</sup> Dr. José Manuel Macário Rebelo, professor da Faculdade Federal do Estado do Maranhão e autor do Manual para técnicos e profissionais da área de saúde (Biologia dos Triatomíneos Vetores da Doença de Chagas, 2000), referência da presença do *R. brethesi* no estado do Maranhão. Em resposta a esta consulta, o Dr. Macário Rebelo nos informou que nunca recebeu espécimes de *R. brethesi*, de qualquer área do estado do Maranhão, e que as informações contidas no referido manual foram retiradas dos arquivos da antiga FUNASA/SUCAM. Ampliando a consulta sobre a

presença deste vetor, procuramos a Dra. Orzinete Rodrigues Soares, Coordenadora do Setor de Endemias do LACEN-MA, que nos relatou que, até a presente data, não foi enviado para o seu setor, nenhum exemplar de *R. brethesi* para o controle de qualidade (Anexo 4). Devido à divergência de informações oficiais, resolvemos aplicar um questionário nas regiões descritas desta espécie vetorial, para comprovar ou não a sua presença.

No estado do Amazonas está confirmado a presença do *R. brethesi* no município de Barcelos e Santa Isabel do Rio Negro (Matta 1919; Mascarenhas 1990; Junqueira ACV 2005). Com o intuito de ampliar o conhecimento sobre a distribuição do vetor e da *L. piassaba* na Microrregião do rio Negro, investigamos também a margem direita do rio Negro, município de São Gabriel da Cachoeira, e no município de Novo Airão, onde até a presente data não há relato deste vetor.

### 5.1.2.1. Resultado dos questionários aplicados

O questionário foi aplicado junto com os residentes das localidades de São Félix das Balsas, Sambaíba no estado do Maranhão e no estado do Amazonas nas localidades de Barcelos, no rio Marié e no rio Curicuriarí (Anexo 5). As respostas foram expressas em gráficos (5.1 ao 5.10) e tabelas (5.1 ao 5.3) no intuito de uma melhor visualização dos resultados. Assim cada gráfico representa uma questão abordada junto às quatro comunidades. As questões de número 1 e 2 estão relacionadas às informações pessoais sobre o entrevistado, por isso, não são abordadas em forma de gráficos. Em algumas perguntas existe a possibilidade de marcação de mais de uma resposta. No gráfico 5.3, no que se refere às outras palmeiras relacionadas pela população, podemos citar piaçaba e caraná.

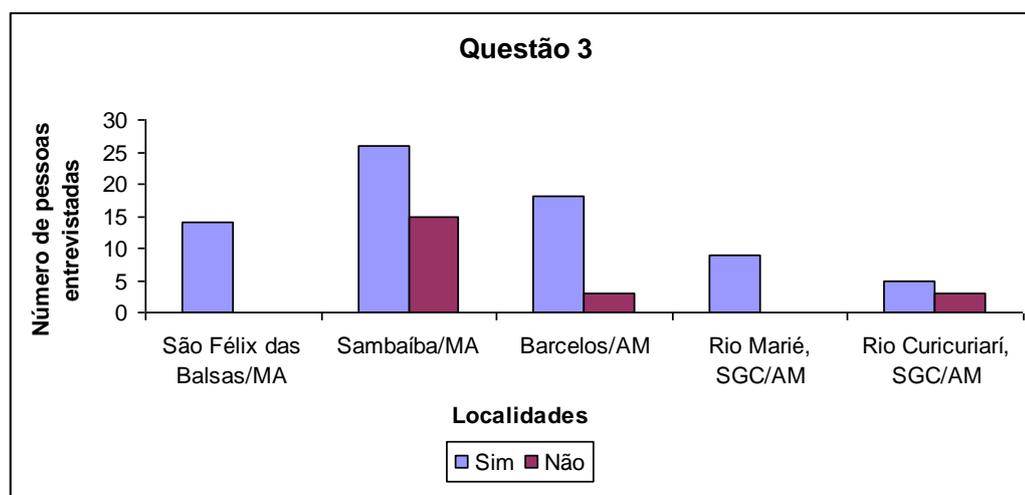


Gráfico 5.1: Resposta da pergunta “Você já ouviu falar ou viu o inseto que transmite o parasito que causa a doença de Chagas?” referente a questão 3 do questionário.

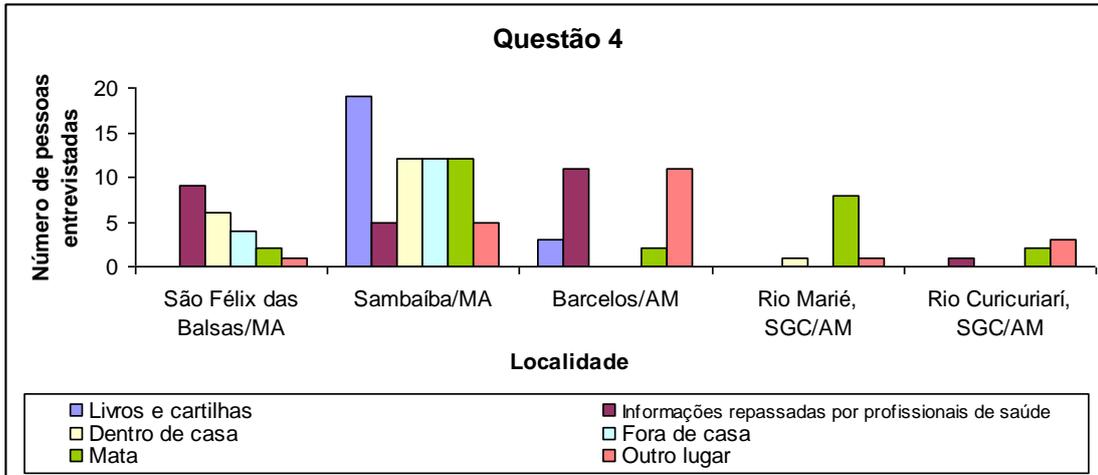


Gráfico 5.2: Resposta da pergunta “Onde ouviu falar ou viu?” referente a questão 4 do questionário.

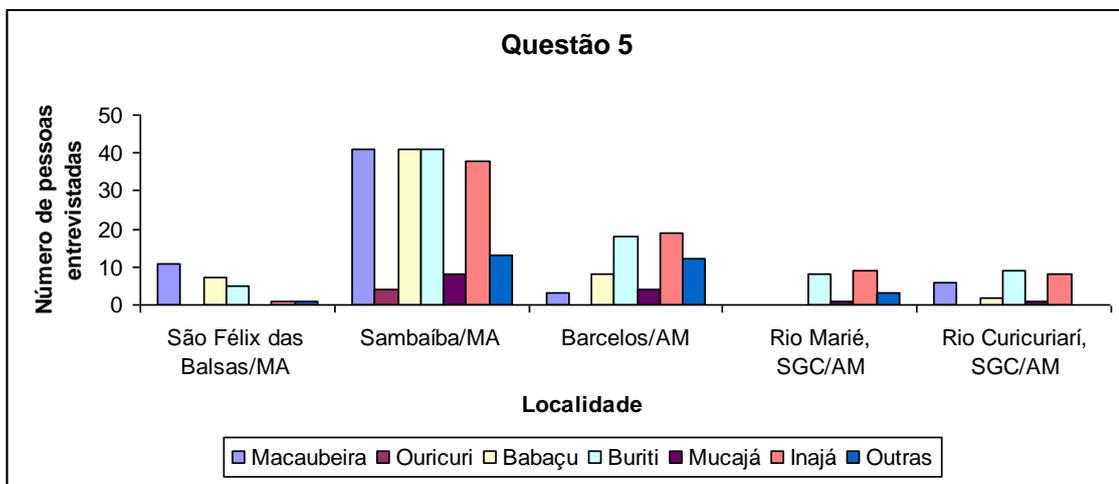


Gráfico 5.3: Resposta da pergunta “Qual destas palmeiras, relacionadas abaixo, você já viu no lugar onde mora atualmente?” referente a questão 5 do questionário.

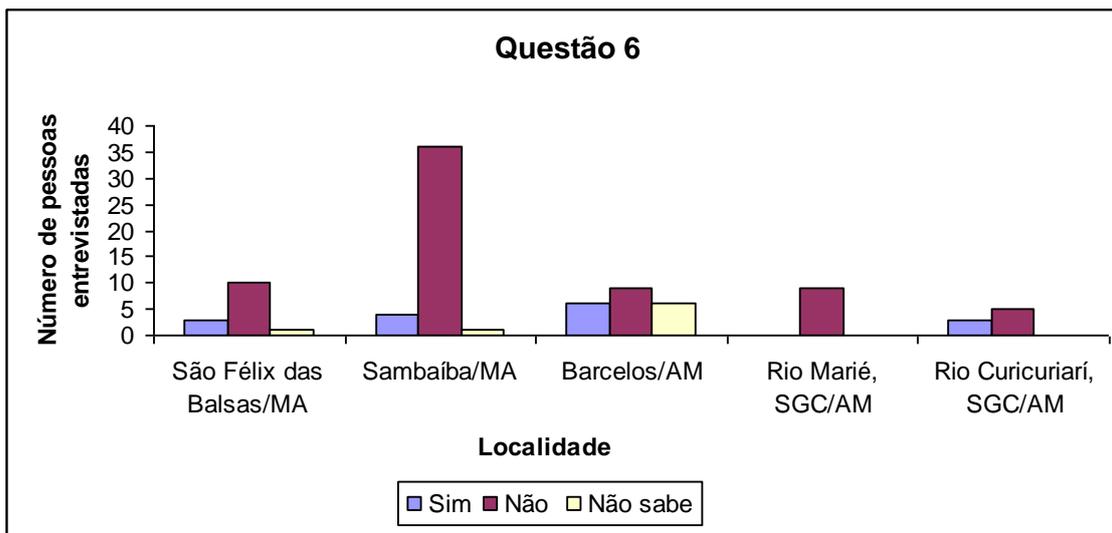


Gráfico 5.4: Resposta da pergunta “Você já viu barbeiro em alguma das palmeiras citadas acima?” referente a questão 6 do questionário.

Tabela 5.1: Resposta da pergunta “Em qual(is) palmeira(s) citada(s) acima você viu?” referente a questão 7 do questionário.

São Félix das Balsas/MA	Sambaíba/MA	Barcelos/AM	Rio Marié, SGC/AM	Rio Curicuriari/AM
Babaçu e macaubeira	Goiabeira, babaçu e bacaba	Piaçava, injá e patauá	X	Piaçava, bacaba, caraná e buriti

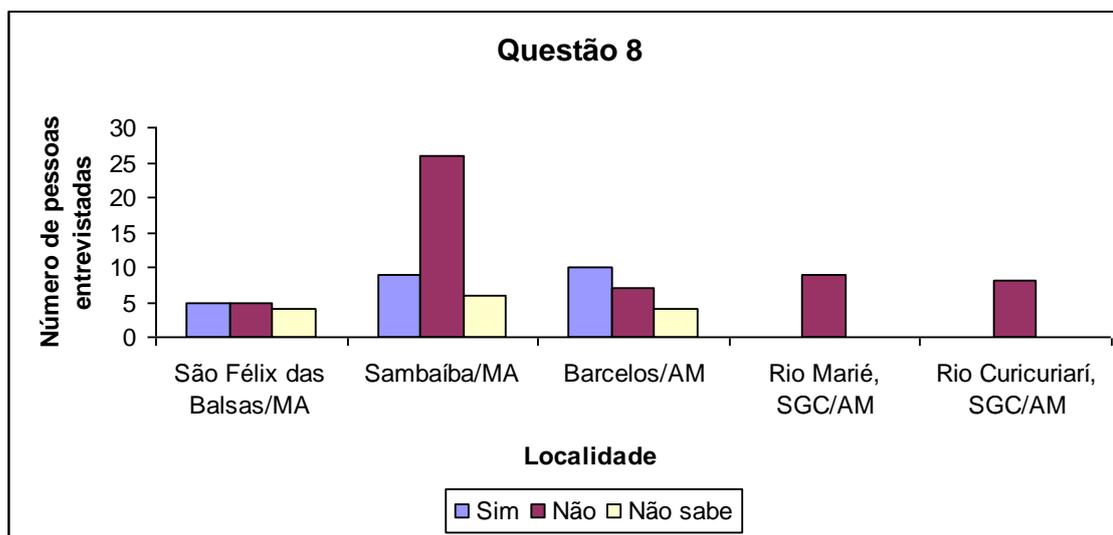


Gráfico 5.5: Resposta da pergunta “Das espécies de barbeiros mostradas na figura 1, você já viu alguma no lugar onde mora atualmente?” referente a questão 8 do questionário.

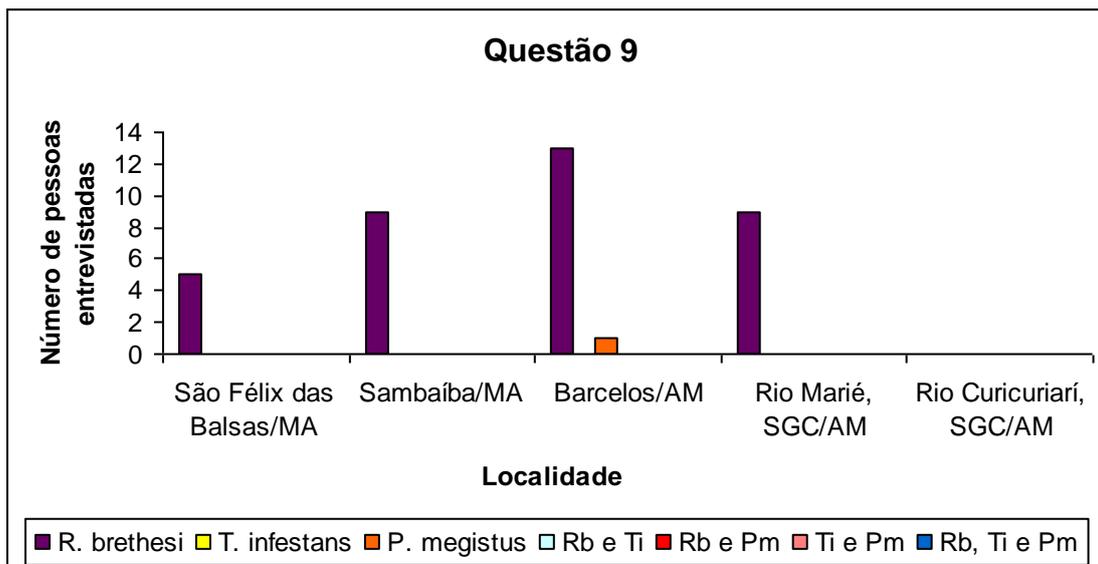


Gráfico 5.6: Resposta da pergunta “Caso sim, responda: Qual(is) espécie(s) de barbeiro, a seguir, você já viu. Rb e Ti (*R. brethesi* e *T. infestans*); Rb e Pm (*R. brethesi* e *P. megistus*); Ti e Pm (*T. infestans* e *P. megistus*); Rb, Ti e Pm (*R. brethesi* , *T. infestans* e *P. megistus*)”, referente a questão 9 do questionário.

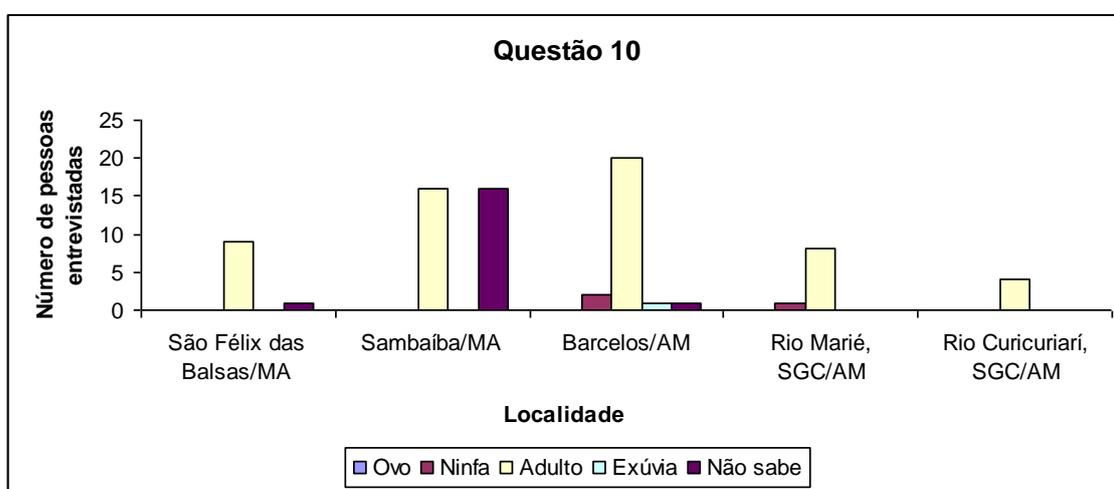


Gráfico 5.7: Resposta da pergunta “Observando a placa plástica: Qual fase/estádio de barbeiro você viu?” referente a questão 10 do questionário.

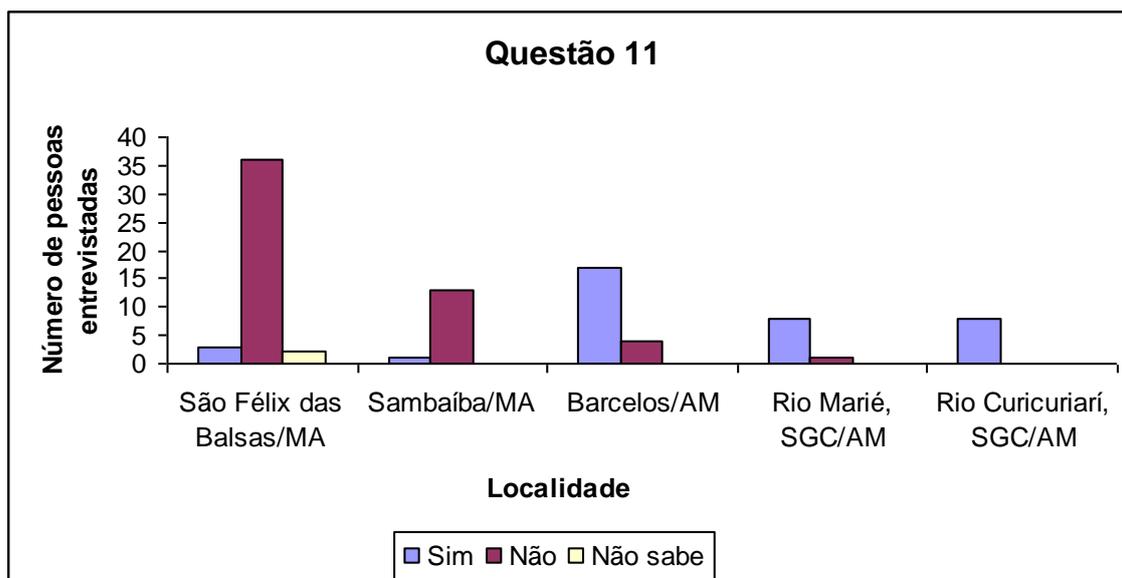


Gráfico 5.8: Resposta da pergunta “Observando a placa plástica qual fase/estádio de barbeiro você viu?” referente a questão 11 do questionário.

Tabela 5.2: Resposta da pergunta “Caso responda que sim: onde encontrou a palmeira?” referente a questão 12 do questionário.

<b>São Félix das Balsas/MA</b>	<b>Sambaíba/MA</b>	<b>Barcelos/AM</b>	<b>Rio Marié, SGC/AM</b>	<b>Rio Curicuriari/AM</b>
Município de São Félix das Balsas	Município Alegre e Formosa da Serra Negra	Piaçabal, rio Acaracá e rio Preto	Piaçabal	Piaçabal

A partir da questão 13 os entrevistados do município de São Félix das Balsas, um dos municípios do Maranhão, não emitiram mais informações. Ou seja, a partir da pergunta 12 até a 15 do questionário não obtivemos mais respostas.

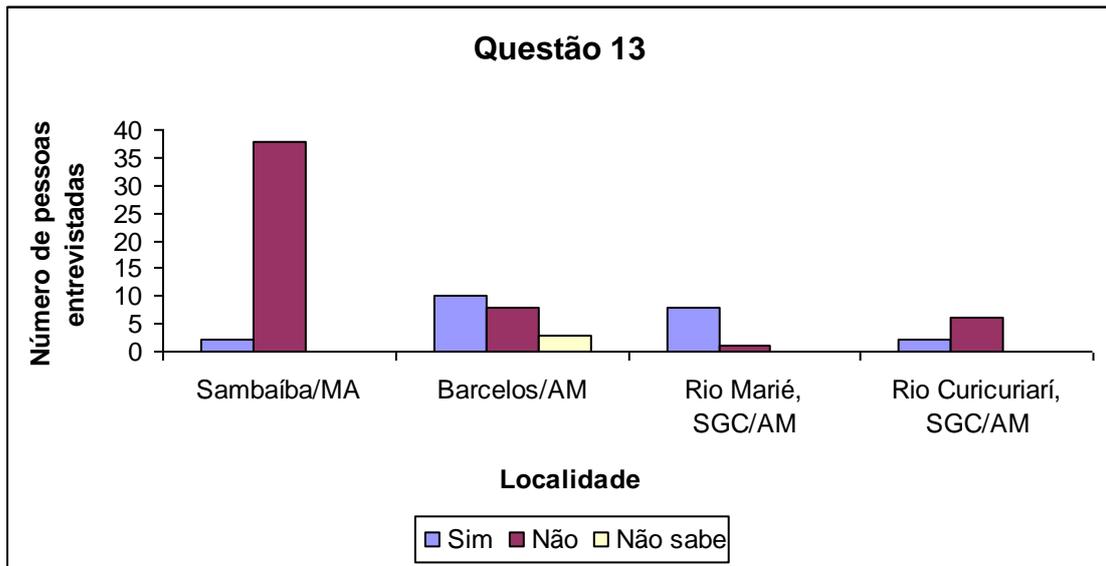


Gráfico 5.9: Resposta da pergunta “Você já viu barbeiro nesta palmeira?”, a palmeira é a *L. piassaba*, referente a questão 13 do questionário.

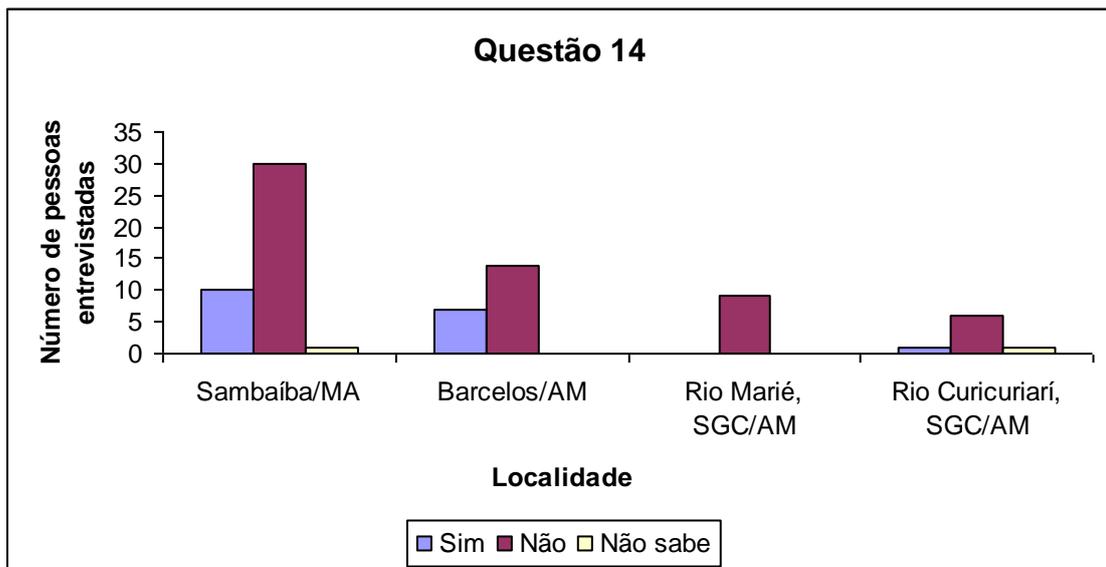


Gráfico 5.10: Resposta da pergunta “Você já viu o *R. brethesi* em outra palmeira que não a da figura 2?” referente a questão 14 do questionário.

Tabela 5.3: Resposta da pergunta “Qual(is) palmeira(s)?” referente a questão 15 do questionário.

São Félix das Balsas/MA	Sambaíba/MA	Barcelos/AM	Rio Marié, SGC/AM	Rio Curicuriari/AM
X	Açaí	Butiti, buçu, açaí, babaçu e inajá	X	Patauá

## 5.1.2.2. Destaque das contradições das respostas

### 5.1.2.2.1. Estado do Maranhão

#### Município de Sambaíba

- A pessoa entrevistada que respondeu que conhece a palmeira piaçaba (questão 5) diz mais abaixo no questionário que não conhece a palmeira (*L. piassaba*) da figura anexada ao kit.
- As pessoas que responderam que não conhecem nenhuma espécie de barbeiro, na figura anexada ao kit, falaram que já viram adultos de *R. brethesi*.
- Uma pessoa que disse que não conhece a *L. piassaba* respondeu que já encontrou barbeiros nesta espécie de palmeira.
- Somente duas pessoas responderam que conhecem o *R. brethesi* e a *L. piassaba*.

#### Município de São Félix das Balsas

- Algumas pessoas responderam que não conhecem as espécies de barbeiros mostradas na figura (anexada ao kit, Anexo 1), mas disseram que já viram adultos de *R. brethesi*.
- Todos os entrevistados não responderam as perguntas sobre a palmeira *L. piassaba*.

Embora os kits utilizados para verificar o nível de conhecimento dos residentes sobre a ocorrência de palmeiras *L. piassaba* e do triatomíneo *R. brethesi*, no estado do Maranhão, tenham sido enviados para áreas com suspeita de ocorrência com antecedência, aproximadamente um ano e seis meses antes da defesa da dissertação, as informações chegaram tardiamente. Devido a este atraso nas informações, o tempo disponível para realizar este trabalho e a infraestrutura disponível inviabilizaram realizar atividades relacionadas à pesquisa de campo. Assim nesta área não foram pesquisados os supostos ecótopos da espécie *R. brethesi*.

### **5.1.2.2. Estado do Amazonas**

#### **Município de Barcelos**

**Questão 9:** Provavelmente foi uma resposta equivocada, pois, esta região não é uma área de descrição de *Panstrongylus megistus* (Galvão *et al.* 2003).

#### **Municípios de Novo Airão e Santa Izabel do Rio Negro**

As informações solicitadas não foram fornecidas pelo Serviço de Entomologia.

### **5.2. Espécies de triatomíneos capturadas**

Utilizando a chave dicotômica de Lent & Wygodzinsky (1979), todos os espécimes capturados foram identificados, em nível de espécie, como *R. brethesi*.

Dos insetos silvestres, capturados no piaçabal Candido do município de Barcelos, que chegaram vivos ao laboratório (13), 53,8% apresentavam infecção por *Trypanosoma spp*, com morfologia sugestiva de *T. cruzi*, método parasitológico utilizado segundo Junqueira *et al.* 2011. As amostras foram encaminhadas para o laboratório de referência para crescimento e identificação da cepa, e até a presente data da defesa de dissertação não obtivemos resposta dos resultados.

#### **5.2.1. Números de espécimes capturados por modelo de armadilha**

Empregando as armadilhas Noireau, foram capturados triatomíneos em suas diversas fases ninfais de desenvolvimento, e nenhuma forma adulta através desta armadilha. Com armadilha de luz foi possível verificar a presença de adultos em todos os três piaçabais investigados. Observamos que todos os espécimes capturados estavam bem “magros”, demonstrando falta de alimentação nos últimos dias.

#### **5.2.2. Piaçabais por localidades**

Nos três piaçabais investigados, todas as palmeiras positivas, ou seja, com presença de espécimes de *R. brethesi*, capturados por armadilhas Noireau, foram exclusivamente de palmeiras da espécie *L. piassaba*.

##### **5.2.2.1. Margem Esquerda do rio Negro: Piaçabal Candido, rio Padauri, no Município de Barcelos, estado do Amazonas**

Selecionaram-se 34 palmeiras, sendo 23 piaçabas (*Leopoldinia piassaba*), 5 buçus (*Manicaria saccifera*), 5 patauás (*Oenocarpus bataua*) e 1 inajá (*Attalea maripa*) (Tabela 4.1).

Com utilização de 43 armadilhas Noireau foram capturadas no total 59 ninfas de *R. brethesi*, sendo 16 positivas. O menor índice de infestação foi um espécime por palmeira, e nove foi o maior número de espécime encontrado. Aproximadamente 28,8% (17) eram ninfas no terceiro estágio de desenvolvimento, seguido 25,4% (15) de ninfas de quarto. O menor percentual de aproximadamente 11,8% (7) foi de ninfas de primeiro estágio. As armadilhas positivas estavam em palmeiras que variaram de 2,80 a 16 metros de altura. Todas as palmeiras com altura abaixo de 2,0 metros foram negativas (Tabela 5.4, gráfico 5.11).

Tabela 5.4: Espécimes de *R. brethesi* capturados no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estágio; 2ºe: 2º estágio; 3ºe: 3º estágio; 4ºe: 4º estágio; 5ºe: 5º estágio. \*Palmeiras com armadilhas na copa.

Armadilha	Espécie de palmeira	Altura(m)	1ºe	2ºe	3ºe	4ºe	5ºe	Total	Adulto	Nº de armadilha
1	<i>L. piassaba</i>	5,10	4	3	0	1	1	9	0	1
2	<i>L. piassaba</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	1
3*	<i>L. piassaba</i>	4,10	1	0	1	4	2	8	0	2
4*	<i>L. piassaba</i>	5,20	0	2	1	0	1	4	0	2
5	<i>L. piassaba</i>	1,20	0	0	0	0	0	0	0	1
6	<i>L. piassaba</i>	4,90	1	0	1	1	0	3	0	1
7	<i>L. piassaba</i>	2,80	0	0	0	0	1	1	0	1
8	<i>L. piassaba</i>	4,00	0	1	0	0	1	2	0	1
9*	<i>L. piassaba</i>	9,50	0	0	3	2	0	5	0	2
10	<i>L. piassaba</i>	1,79	0	0	0	0	0	0	0	1
11	<i>L. piassaba</i>	8,00	0	0	2	0	0	2	0	1
12	<i>L. piassaba</i>	12,00	0	0	0	1	0	1	0	1
13	<i>L. piassaba</i>	16,00	1	1	0	0	0	2	0	1
14	<i>L. piassaba</i>	3,50	0	1	0	0	1	2	0	1
15*	<i>L. piassaba</i>	6,50	0	1	3	1	1	6	0	2
16	<i>M. saccifera</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	1
17	<i>M. saccifera</i>	1,70	0	0	0	0	0	0	0	1
18*	<i>M. saccifera</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	2
19	<i>L. piassaba</i>	4,60	0	0	0	0	0	0	0	1
20	<i>L. piassaba</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	1
21*	<i>M. saccifera</i>	2,50	0	0	0	0	0	0	0	2
22	<i>L. piassaba</i>	10,00	0	0	1	2	0	3	0	1
23*	<i>A. maripa</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	2
24	<i>L. piassaba</i>	4,00	0	0	0	1	0	1	0	1
25	<i>L. piassaba</i>	1,60	0	0	0	0	0	0	0	1
26	<i>L. piassaba</i>	5,20	0	1	3	0	0	4	0	1
27*	<i>L. piassaba</i>	3,42	0	1	2	2	1	6	0	2
28	<i>O. bataua</i>	7,00	0	0	0	0	0	0	0	1
29*	<i>O. bataua</i>	9,00	0	0	0	0	0	0	0	2
30	<i>L. piassaba</i>	1,50	0	0	0	0	0	0	0	1
31	<i>O. bataua</i>	7,00	0	0	0	0	0	0	0	1
32	<i>M. saccifera</i>	3,00	0	0	0	0	0	0	0	1
33	<i>O. bataua</i>	6,00	0	0	0	0	0	0	0	1
34	<i>O. bataua</i>	6,00	0	0	0	0	0	0	0	1
Total			7	11	17	15	9	59	0	43

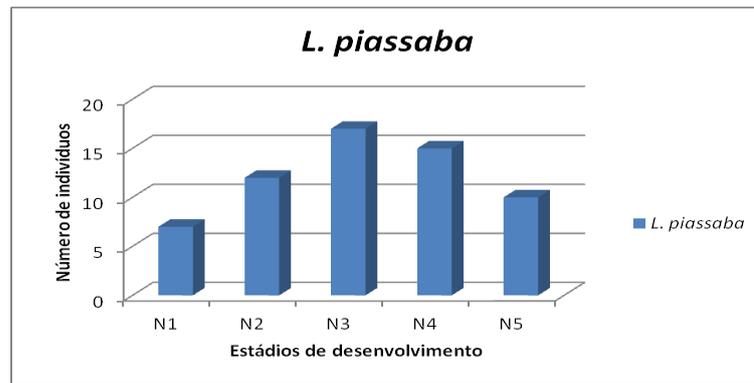


Gráfico 5.11: Quantidade de ninfas de *R. brethesi* capturadas nas armadilhas Noireau no piaçabal do Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

As armadilhas postas nas copas das palmeiras não foram positivas. A distância entre as palmeiras variou de 3 a 92 metros em linha reta. As distâncias podem ser verificadas na tabela 5.5. Observação: A partir da armadilha 31 até 34 não foram medidas as distâncias entre as palmeiras.

Tabela 5.5: Distância entre as palmeiras selecionadas no estudo no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Armadilhas	Distâncias (m)
01-02	21,10
02-03	92,10
03-04	22,10
04-30	9,00
30-05	21,70
05-29	3,80
29-28	20,30
28-06	19,00
06-07	73,00
07-27	21,00
27-26	51,70
26-08	30,00
08-25	10,50
25-24	31,90
24-23	4,70
23-09	27,80
09-22	16,60
22-10	15,20
10-20	49,90
20-21	20,50
21-19	22,60
19-18	41,00
18-17	17,20
17-11	11,30
11-16	38,30
16-15	26,60
15-14	4,00
14-13	40,10
13-12	31,70

Neste piaçabal a retirada da piaçaba é constante, ou seja, há sempre a presença de extrativistas na região. Estes trabalhadores fixam suas moradias provisórias próximas ao local de extração, exatamente como ocorreu conosco, porém por um tempo indeterminado. Nosso alojamento estava próximo ao início da trilha onde foram colocadas as armadilhas para capturas dos triatomíneos.

Percebeu-se a grande abundância da espécie de palmeira *Leopoldinia piassaba* de diferentes alturas que variam de 1,20 metro (Figura 5.1) a 16 metros (Figura 5.2), e a figura 5.3 demonstra a presença de sementes desta espécie coletadas no local. Verificou-se a presença de outras espécies de palmeiras nos locais de coleta, como por exemplo, buçu (*Manicaria saccifera*) (Figura 5.4), patauá (*Oenocarpus bataua*) e inajá (*Attalea maripa*) (Fig. 5.5). Estas não possuem a mesma abundância de exemplares como a *L. piassaba*. Todas as palmeiras foram medidas com auxílio de uma trena.



Figura 5.1: Palmeira jovem da espécie de *L. piassaba* de 1,20m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 5.2: Exemplar de *L. piassaba* de 16m de altura localizada no piaçabal Candido no município de Barcelos, rio Padauri, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 5.3: Sementes da palmeira *L. piassaba* coletada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 5.4: Exemplar de buçu (*M. saccifera*) de 2,5m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 5.5: Exemplar de inajá (*A. maripa*) de 3m de altura localizada no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

A sequência de distribuição das armadilhas no ambiente de piaçabal em todo o percurso da trilha pode ser observada na figura 5.6.

Na figura 5.7A visualiza-se a armadilha Noireau com ninfas de 5º estágio aderidas a fita dupla face e na figura 5.7B, adultos de *R. brethesi* capturados na armadilha luminosa.

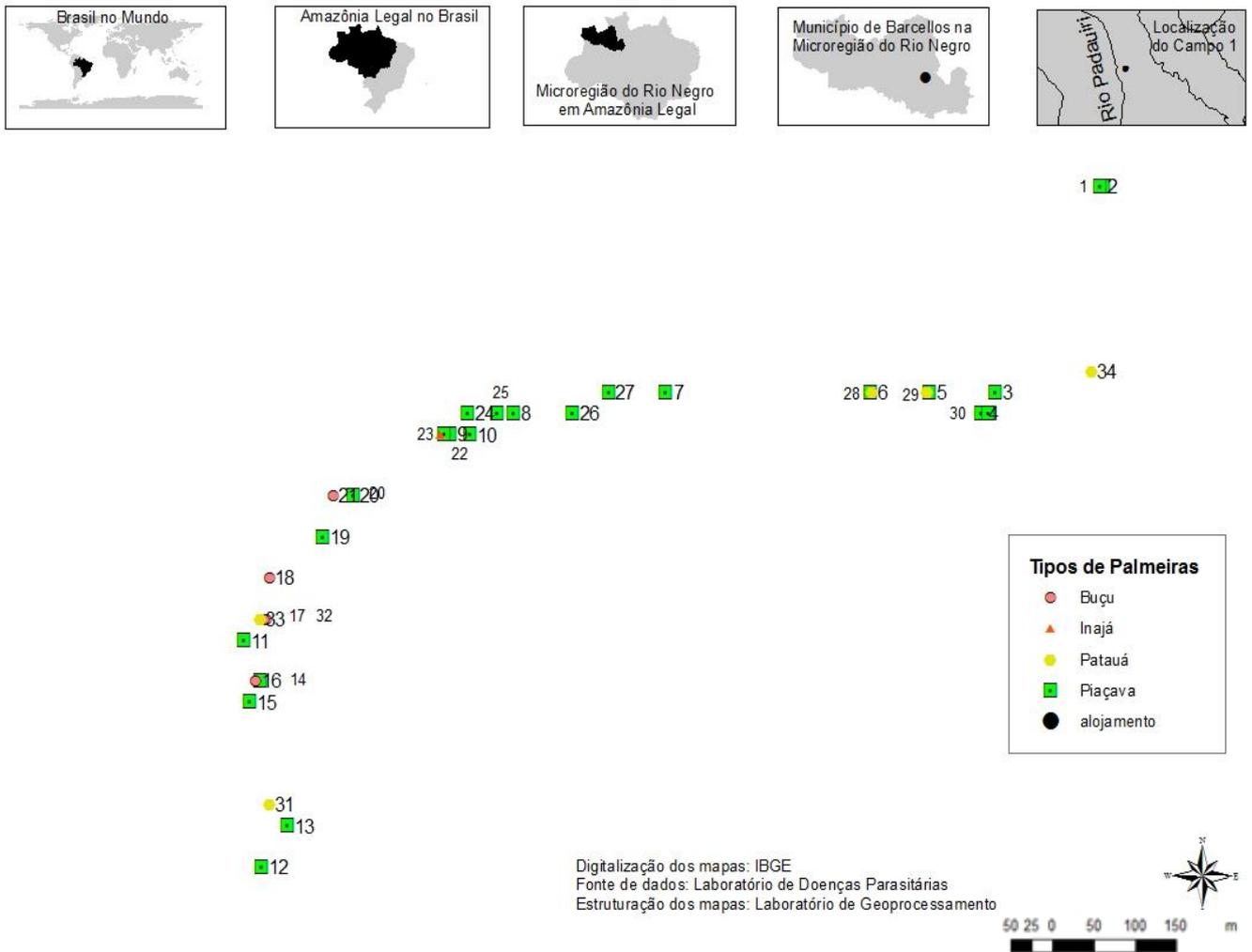


Figura 5.6: Distribuição das espécies de palmeiras pesquisadas com armadilhas Noireau no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil. Buçu= *Manicaria saccifera*; Inajá= *Attalea maripa*; Patauá= *Oenocarpus bataua*; Piaçaba= *Leopoldinia piassaba*.



Figura 5.7A: Armadilha Noireau positiva para ninfas de *R. brethesi* no piaçabal Candido, rio Padauri, município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

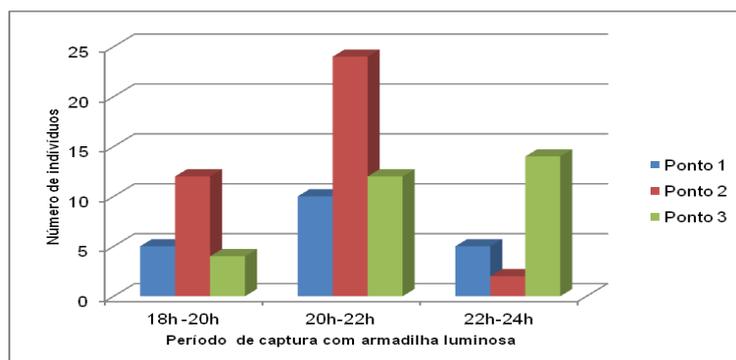


Figura 5.7B: Espécimes adultos de *R. brethesi* capturados na localidade do piaçabal do Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

Nos três pontos de captura com armadilha luminosa foram coletados 110 adultos de *R. brethesi*. Deste total 65 eram machos e 45 fêmeas e observou-se que o pico de maior incidência dos espécimes de *Rhodnius* foi no ponto 2 do piaçabal, durante o período de 20h a 22h (Gráfico 5.12). Sem armadilha, um indivíduo adulto de *R. brethesi* foi capturado no alojamento, encontrado nas costas, tentando se alimentar em um integrante da equipe.

Gráfico 5.12: Quantidade de *R. brethesi* adultos capturados em armadilha luminosas durante o período do crepúsculo vespertino e noturno no piaçabal Candido, rio Padauri, no município de Barcelos, estado do Amazonas, Brasil.



### 5.2.2.2. Margem direita do rio Negro: Piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, Município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas

Área com predominância de palmeiras da espécie *L. piassaba* de porte pequeno, até 3 metros de comprimento. Os tamanhos das palmeiras variaram de 1,15 metro (Fig. 5.8) a 13,60 metros (Fig. 5.9).



Figura 5.8: Exemplar de *L. piassaba* de 1,15m de altura localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.



Figura 5.9. Exemplar de *L. piassaba* de 13,60m de altura localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

Na região dos piaçabais de São Gabriel da Cachoeira, margem direita do rio Negro, registrou-se o primeiro informe da ocorrência de *R. brethesi*, pois, até a presente data não havia estudo nesta localidade. Nesta localidade não houve o mesmo êxito na captura de *R.*

*brethesi* que no piaçabal do município de Barcelos. Das 22 armadilhas expostas apenas 3 foram positivas, capturaram-se apenas quatro ninfas de *R. brethesi*, sendo uma de segundo, duas de quarto e uma de quinto estágio de desenvolvimento (Tabela 5.6).

Tabela 5.6: Espécimes de *R. brethesi* capturados no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estágio; 2ºe: 2º estágio; 3ºe: 3º estágio; 4ºe: 4º estágio; 5ºe: 5º estágio; A: adulto; Arm: armadilha; Alt: altura; T: total de ninfas; N° de arm: número de armadilha por palmeira.

Armadilha	Espécie de palmeira	Altura (m)	1ºe	2ºe	3ºe	4ºe	5ºe	Total	Adultos	N° de armadilha
1	<i>L. piassaba</i>	1,15	0	0	0	0	0	0	0	1
2	<i>L. piassaba</i>	2,15	0	0	0	0	0	0	0	1
3	<i>L. piassaba</i>	4,25	0	0	0	0	0	0	0	1
4	<i>L. piassaba</i>	3,10	0	0	0	0	0	0	0	1
5	<i>L. piassaba</i>	5,80	0	0	0	0	0	0	0	1
6	<i>L. piassaba</i>	6,90	0	0	0	0	0	0	0	1
7	<i>L. piassaba</i>	8,05	0	0	0	0	0	0	0	1
8	<i>L. piassaba</i>	12,30	0	0	0	0	0	0	0	1
9	<i>L. piassaba</i>	13,60	0	0	0	0	0	0	0	1
10	<i>L. piassaba</i>	2,40	0	0	0	0	0	0	0	1
11	<i>L. piassaba</i>	2,00	0	0	0	0	0	0	0	1
12	<i>L. piassaba</i>	2,00	0	0	0	0	0	0	0	1
13	<i>L. piassaba</i>	3,90	0	0	0	0	0	0	0	1
14	<i>L. piassaba</i>	5,80	0	0	0	0	0	0	0	1
15	<i>L. piassaba</i>	6,10	0	0	0	1	0	1	0	1
16	<i>L. piassaba</i>	11,90	0	0	0	0	0	0	0	1
17	<i>L. piassaba</i>	5,00	0	1	0	1	0	2	0	1
18	<i>L. piassaba</i>	3,20	0	0	0	0	0	0	0	1
19	<i>L. piassaba</i>	5,70	0	0	0	0	0	0	0	1
20	<i>L. piassaba</i>	6,15	0	0	0	0	0	0	0	1
21	<i>L. piassaba</i>	9,20	0	0	0	0	0	0	0	1
22	<i>L. piassaba</i>	6,30	0	0	0	0	1	1	0	1
Total			0	1	0	2	1	4	0	22

Este piaçabal está "desativado", pois, não existem trabalhadores realizando o extrativismo. O cenário encontrado nesta localidade foi de muitas palmeiras derrubadas, pois, antigamente este ato era uma prática comum para facilitar a retirada da fibra (informação de extrativista da região) diferente do piaçabal do município de Barcelos. Outro dado interessante é que as palmeiras de grande porte da espécie *L. piassaba* estavam com bastante cupim na base (Fig. 5.10).



Figura 5.10. Palmeira da espécie *L. piassaba* com a base infestada de cupins localizada no piaçabal do Mutum, rio Curicuriari, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

Nenhuma espécie de palmeira diferente da *L. piassaba* foi encontrada próxima à trilha onde foram fixadas as armadilhas, como no primeiro piassabal estudado.

Neste piaçabal encontram-se palmeiras de *L. piassaba* bem próximas às margens do rio Curicuriari. A atividade extrativista da fibra não é constante, o que difere completamente do encontrado no município de Barcelos.

A figura 5.11 apresenta os pontos das palmeiras pesquisadas com armadilhas Noireau, os pontos da armadilha luminosa e alturas das palmeiras. Nesta figura observa-se que as armadilhas Noireau que foram positivas, com a presença de triatomíneos, encontravam-se em palmeiras com altura entre 4,26 a 6,90 de altura.

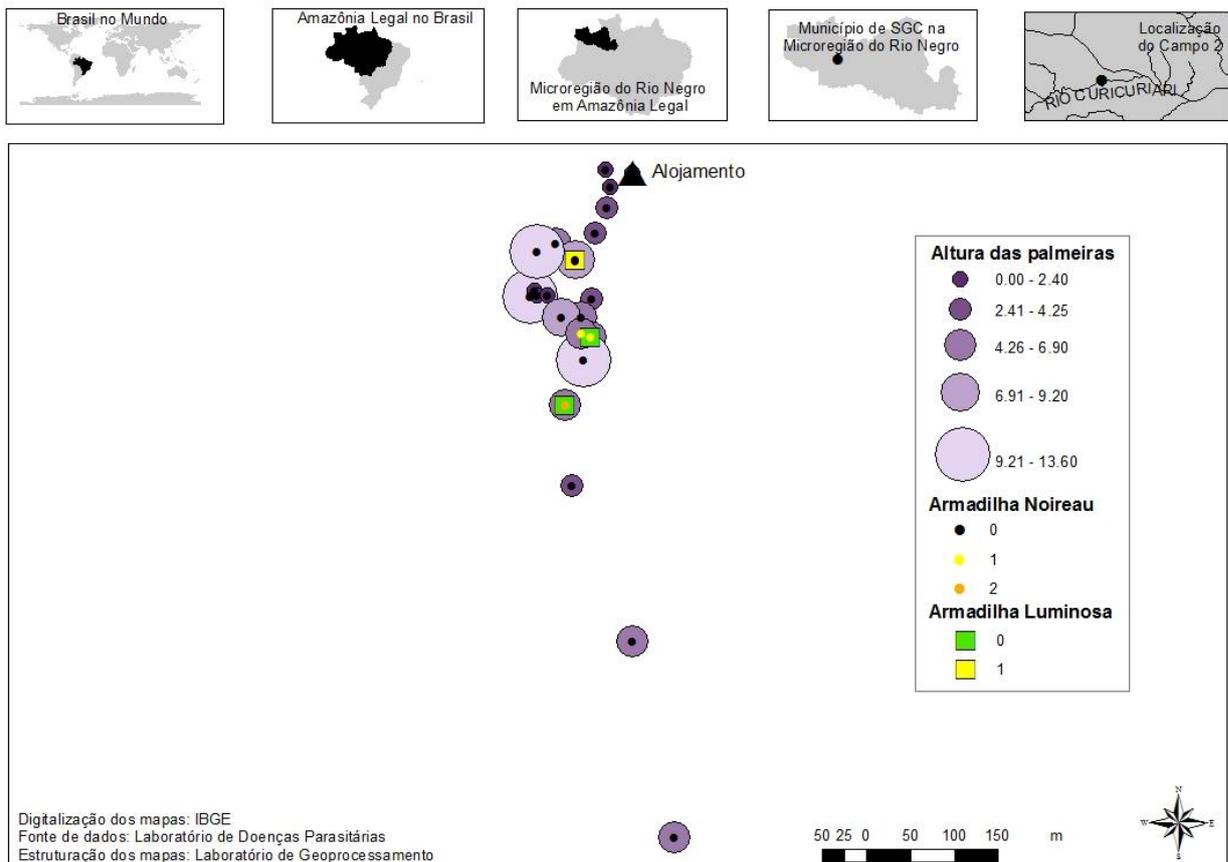


Figura 5.11: Altura das palmeiras estudadas e número de insetos capturados, empregando dois modelos distintos de armadilha, no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. Os ciclos de tons de lilás são as faixas de alturas das palmeiras. As circunferências preenchidas nas cores preta, amarela e laranja representam, respectivamente, nenhum, um e dois espécimes de triatomíneos. Os quadrados nas cores verde e amarela representam, respectivamente, nenhum e um espécime capturado.

Neste piaçabal foram realizados três pontos de captura e o resultado das capturas utilizando-se armadilha luminosa foi bastante discreto, onde apenas um espécime adulto foi coletado na armadilha luminosa, no ponto 2 no período de 18h a 20h (Tabela 5.7).

Tabela 5.7: Quantidade de espécimes adultos coletados por período no piaçabal do Mutum, rio Curicuriarí, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Ponto	Período de captura			Total
	18h-20h	20h-22h	22h-24h	
1	0	0	0	0
2	1	0	0	1
3	0	0	0	0

### 5.2.2.3. Margem direita do rio Negro: Piaçabal Pilão, rio Iá, Município de São Gabriel da Cachoeira, estado Amazonas

Área com a predominância da palmeira *L. piassaba* de porte médio (5m a 7m), entretanto, foram estudadas palmeiras de 2,35 metros a 8,40 metros de altura (Figura 5.12). Em relação a outras espécies observamos apenas a presença de patauá (*Oenocarpus bataua*).



Figura 5.12: Exemplar de *L. piassaba* de 4,26m de altura presente no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Foto: Amanda Coutinho de Souza.

O piaçabal desta área começa na margem direita do rio Iá, o qual possui características de igarapé, por ser um braço (afluente) de um rio maior chamado Marié. Neste local ainda ocorre o extrativismo da fibra da piaçaba.

As armadilhas Noireau permaneceram fixadas e identificadas durante todo período de captura. Foram colocadas na altura de 1,60m da base em 25 palmeiras, sendo 20 piaçabas (*L. piassaba*) e 5 patauás (*O. bataua*) (Tabela 5.8). Neste piaçabal não foi possível à pesquisa em outras espécies de palmeiras, pois, as mesmas se encontravam distantes dos pontos de estudo.

Foram utilizadas trinta armadilhas Noireau e nove foram positivas para ninfas de *R. brethesi*. No total 23 ninfas foram capturadas, destas 52% (12) eram de quinto estágio, 26% (6) ninfas no terceiro e 8% (2) ninfas no segundo estágio de desenvolvimento (Tabela 5.8 e gráfico 5.13).

A distância entre as palmeiras selecionadas para o estudo variou de 4,85m a 45,10m (Tabela 5.9). Mesmo optando por mais armadilhas no estipe não obtivemos um maior número de ninfas capturadas.

Das armadilhas postas nas copas das palmeiras selecionadas nenhuma foi positiva.

Tabela 5.8: Ninfas de *R. brethesi* capturadas no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. 1ºe: 1º estádio; 2ºe: 2º estádio; 3ºe: 3º estádio; 4ºe: 4º estádio; 5ºe: 5º estádio; A: adulto; Arm: armadilha; Alt: altura; N° de arm: número de armadilha por palmeira. \* 2 armadilha adicionada; \*\* 3 armadilhas adicionadas.

Armadilha	Espécie de palmeira	Altura (m)	1ºe	2ºe	3ºe	4ºe	5ºe	Total	Adulto	N° de armadilha
1*	<i>L. piassaba</i>	4,25	0	0	0	0	4	4	0	2
2	<i>L. piassaba</i>	7,36	0	1	2	0	0	3	0	1
3	<i>L. piassaba</i>	4,26	0	0	0	0	0	0	0	1
4	<i>O. bataua</i>	10,30	0	0	0	0	0	0	0	1
5	<i>L. piassaba</i>	6,10	0	0	0	0	0	0	0	1
6	<i>L. piassaba</i>	4,80	0	0	0	0	0	0	0	1
7	<i>O. bataua</i>	6,80	0	0	0	0	0	0	0	1
8	<i>L. piassaba</i>	7,90	0	0	0	0	0	0	0	1
9*	<i>L. piassaba</i>	7,00	0	0	1	1	1	3	0	2
10	<i>L. piassaba</i>	7,90	0	0	0	0	0	0	0	1
11	<i>L. piassaba</i>	8,05	0	0	0	0	0	0	0	1
12	<i>L. piassaba</i>	8,40	0	1	2	0	0	3	0	1
13	<i>O. bataua</i>	12,35	0	0	0	0	0	0	0	1
14	<i>L. piassaba</i>	5,65	0	0	0	0	1	1	0	1
15	<i>L. piassaba</i>	3,15	0	0	0	0	1	1	0	1
16	<i>L. piassaba</i>	5,10	0	0	0	0	0	0	0	1
17	<i>O. bataua</i>	8,64	0	0	0	0	0	0	0	1
18*	<i>L. piassaba</i>	7,25	0	0	1	0	0	1	0	2
19	<i>L. piassaba</i>	2,35	0	0	0	0	0	0	0	1
20	<i>O. bataua</i>	8,00	0	0	0	0	0	0	0	1
21	<i>L. piassaba</i>	4,25	0	0	0	0	0	0	0	1
22	<i>L. piassaba</i>	5,30	0	0	0	0	0	0	0	1
23	<i>L. piassaba</i>	8,15	0	0	0	0	2	2	0	1
24**	<i>L. piassaba</i>	7,65	0	0	0	2	3	5	0	3
25	<i>L. piassaba</i>	7,45	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Total</b>			0	2	6	3	12	23	0	30

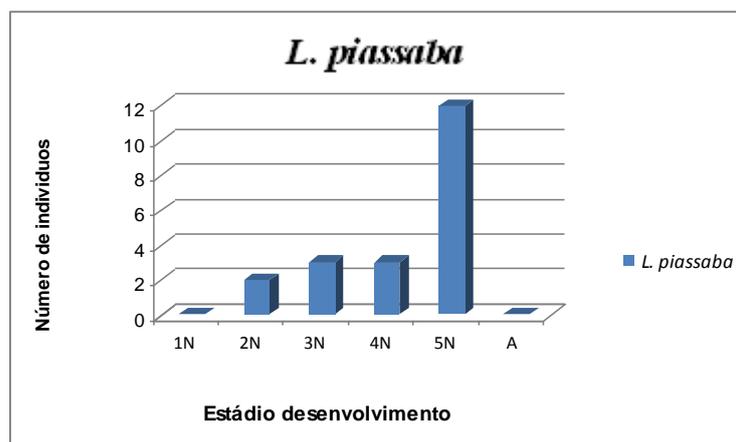


Gráfico 5.13: Quantidade de ninfas capturadas em armadilhas Noireau no piaçabal Pilão, rio Iá, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Tabela 5.9: Distância entre as palmeiras pesquisadas no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Armadilhas	Distâncias (m)
01-02	45,10
02-03	8,40
03-04	10,35
04-05	22,40
05-06	9,70
06-07	16,80
07-08	8,20
08-09	7,75
09-10	8,80
10-11	8,60
11-12	7,75
12-13	12,50
13-14	9,00
14-15	22,20
15-16	31,80
16-17	4,90
17-18	21,10
18-19	14,95
19-20	4,85
20-21	46,50
21-22	22,85
22-23	22,50
23-24	8,70
24-25	9,70

As figuras 5.13 e 5.14 indicam a sequência das armadilhas Noireau, os pontos da armadilha luminosa, as espécies e altura das palmeiras pesquisadas. A altura das palmeiras positivas varia de 3m a 8,40m.

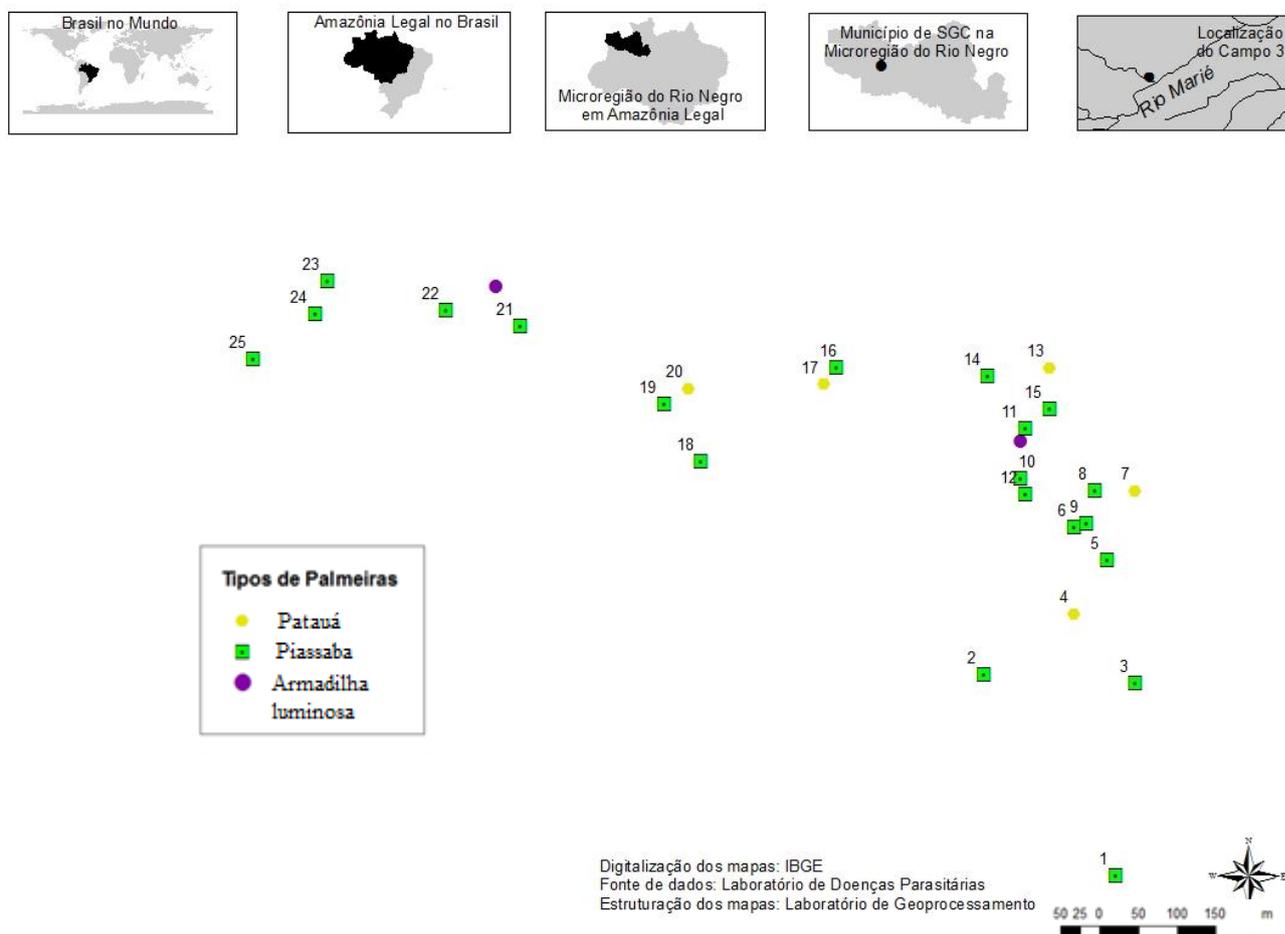


Figura 5.13: Sequência das armadilhas Noireau e as espécies de palmeiras pesquisadas no piçabal do Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

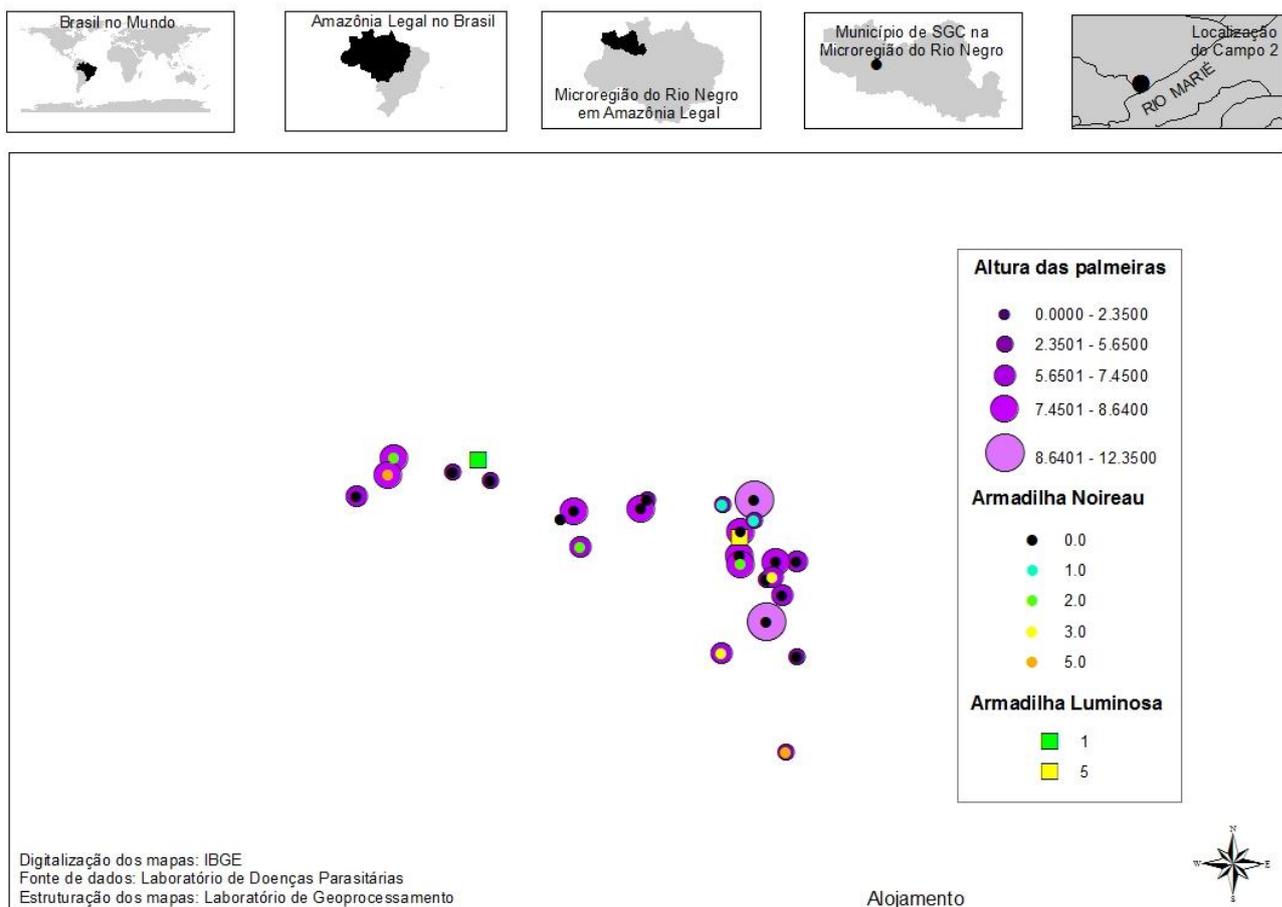


Figura 5.14: Altura das palmeiras estudadas e número de insetos capturados, empregando dois modelos distintos de armadilha, no piaçabal Pilão no rio Iá, São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil. Os símbolos em formato de círculos correspondem as alturas das palmeiras. As circunferências preenchidas nas cores preta, azul, verde, amarela e laranja representam, respectivamente, nenhum, um, dois, três e cinco espécimes de triatomíneos. Os quadrados nas cores verde e amarela representam, respectivamente, um e cinco espécimes capturados.

Nesta localidade apenas dois pontos foram escolhidos para captura com auxílio da armadilha luminosa (Tabela 5.10). No ponto 1 houve um maior número de espécimes adultos coletados (Gráfico 5.14). Próximo a este ponto há um aglomerado de *L. piassaba*, que variam de 2 metros a 12 metros de altura, com seis armadilhas Noireau positivas.

Tabela 5.10: Quantidade de insetos adultos coletados com armadilha luminosa, por período, no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

Ponto	Período de captura			Total
	18h-20h	20h-22h	22h-24h	
1	3	2	0	5
2	0	1	0	1

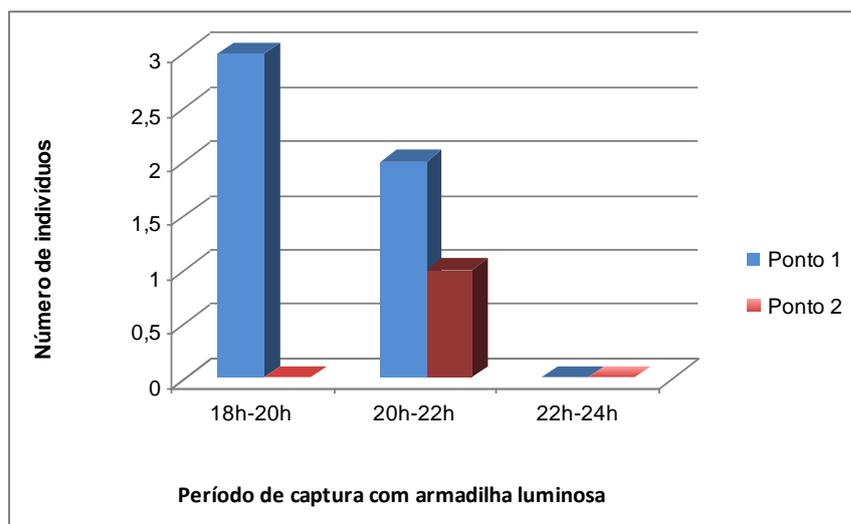


Gráfico 5.14: Quantidade de *R. brethesi* adultos capturados em armadilha luminosa durante o período do crepúsculo vespertino e noturno no piaçabal Pilão, rio Ia, no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, Brasil.

### 5.3. Descrição geral do fenótipo antenal de *R. brethesi*

Ao todo, foram estudados 93 espécimes que representavam 43 procedentes da colônia mantida no Laboratório de Doenças Parasitárias – FIOCRUZ/IOC e 50 *R. brethesi* silvestres capturados na Microrregião do Rio Negro, AM.

Machos e fêmeas de *R. brethesi* tanto de laboratório quanto de palmeira silvestre possuem maior quantidade de TPF sobre o F1, e não de TPG como ocorre em outras espécies de *Rhodnius*. O quimiorreceptor TPF está em maior quantidade em espécimes do laboratório.

Outro fenótipo importante apresentado foi o comprimento diferenciado de TPF e TPG. Encontraram-se resultados estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ) na comparação do comprimento destas *sensilla* em relação a outras espécies do gênero *Rhodnius*, onde os espécimes de *R. brethesi*, independente do tempo que estejam em colônias, e os provenientes do campo possuem estes dois quimiorreceptores (TPF e TPG) maiores que outras onze espécies de *Rhodnius* analisadas.

### 5.4. Análise dos fenótipos antenais

A partir das análises quantitativas das *sensilla* (P-BR, F1-BR, F1-TPF, F1-TPG, F1-BA, F2-BR, F2-TPF, F2-TPG, F2-BA) presentes nos três segmentos (pedicelo, flagelo 1 – F1 e flagelo 2 – F2) das antenas dos espécimes de *R. brethesi* (laboratório e palmeira silvestre), obtivemos os seguintes resultados:

#### 5.4.1. *R. brethesi* criado no laboratório

##### 5.4.1.1. Fenótipo antenal por sexo

Comparando as *sensilla* entre machos e fêmeas não houve diferença significativa (Teste t;  $p < 0,01$ ) (Anexo 6 ). Com isso, não se observa a existência de dimorfismo sexual entre os espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório (Tabela 5.11, Figuras 5.15 e 5.16).

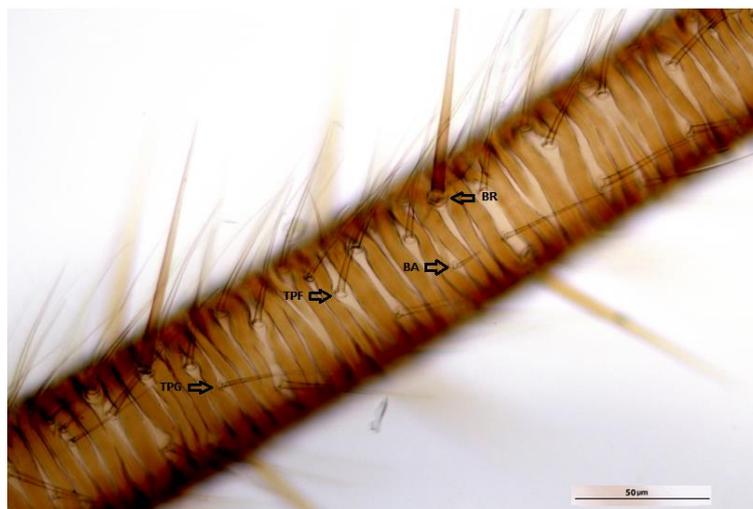


Figura 5.15: Campo ocular do segmento F1 da antena de fêmea de *R. brethesi* criada no laboratório. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ).



Figura 5.16: Campo ocular do segmento F1 da antena de macho de *R. brethesi* criado no laboratório. TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ).

Tabela 5.11: Média e desvio padrão dos diferentes tipos de *sensilla* estudadas de machos e fêmeas da espécie *R. brethesi* criado no laboratório. P-BR: pedicelo-bristles, F1-BR: flagelo1-bristles, F1-TPF: flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG: flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica.

Receptores									
Sexo	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
Macho (n=23)	57,21 (8,01)	18,52 (3,52)	98,43 (20,81)	64,21 (33,01)	18,78 (6,91)	8,30 (2,63)	32,08 (10,19)	59,26 (13,13)	28,86 (10,21)
Fêmea (n=20)	58,80 (7,96)	18,55 (2,70)	109,35 (20,00)	62,15 (32,93)	16,50 (5,58)	8,20 (2,30)	28,70 (10,12)	64,50 (15,54)	29,25 (7,39)

#### 5.4.1.2. Fenótipo antenal morfotipo cromático

Na análise quantitativa das *sensilla* presentes nos segmentos de estudo (pedicelo, F1 e F2) entre os indivíduos do laboratório com mancha (PRESENTE) e indivíduos sem mancha (AUSENTE) não foi observado diferença significativa entre os grupos (Teste t;  $p < 0,01$ , Anexo 7).

A Tabela 5.12 indica a média e o desvio padrão de todas as *sensilla* presentes nos três segmentos das antenas em indivíduos separados de acordo com a variação cromática.

Tabela 5.12: Média e desvio padrão dos diferentes tipos de *sensilla* estudadas de acordo com a variação cromática no pronoto da espécie *R. brethesi* criada no laboratório. PRES: mancha presente; AUS: mancha ausente; P-BR:pedicelo-bristles, F1-BR:flagelo1-bristles,F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica.

Receptores									
Mancha	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
<b>PRES</b> (n=24)	58,29 (7,87)	18,58 (3,45)	104,00 (19,80)	58,33 (24,99)	17,12 (5,95)	8,37 (2,61)	32,91 (11,88)	61,16 (10,54)	27,62 (6,34)
<b>AUS</b> (n=19)	57,52 (8,20)	18,47 (2,77)	102,89 (22,82)	69,47 (40,10)	18,47 (6,93)	8,10 (2,30)	27,47 (6,64)	62,36 (18,42)	30,84 (11,30)

#### 5.4.1.3. Comprimento de TPF e TPG por sexo

De acordo com a análise do comprimento dos quimiorreceptores TPF e TPG, presente no flagelo 1, entre machos e fêmeas do laboratório não se observou diferenças estatísticas significativas (Teste t;  $p < 0,05$ ) (Anexo 8). Fato que evidencia a ausência de dimorfismo sexual. Os comprimentos de TPF variaram de 100 a 87,5  $\mu\text{m}$  e TPG de 100 a 85  $\mu\text{m}$  (Tabela 5.13).

Tabela 5.13: Média, desvio padrão e valor máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG de espécimes de *R. brethesi* separados por sexo. C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina ( $\mu\text{m}$ ); C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa ( $\mu\text{m}$ ); Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Sexo	Comprimento	
	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
Macho (n=23)	93,91	95,10
	(4,04)	(4,29)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 85,00
Fêmea (n=20)	93,62	93,75
	(5,28)	(4,47)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 85,00

#### 5.4.1.4. Comprimento de TPF e TPG segundo morfotipo cromático

De acordo com a análise do comprimento dos quimiorreceptores TPF e TPG, presentes no flagelo 1, de 43 espécimes entre machos e fêmeas com variações cromáticas não se observou diferenças estatísticas significativas (Teste t;  $p < 0,05$ ) (Anexo 9). Com isso, não ocorre diferença entre os indivíduos de laboratório com mancha - PRESENTE e indivíduos sem mancha - AUSENTE.

O comprimento de F1-TPF variou de 100 a 80  $\mu\text{m}$  e F1-TPG de 100 a 85  $\mu\text{m}$  em espécimes de *R. brethesi* separados pela variação cromática (Tabela 5.14).

Tabela 5.14: Média, desvio padrão e valor máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG em espécimes de *R. brethesi* separados por variação cromática. PRES: Mancha Presente; AUS: Mancha Ausente; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina ( $\mu\text{m}$ ); C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa ( $\mu\text{m}$ ); Máx.: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín.: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Mancha	Comprimento	
	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
PRES (n=24)	93,12	94,37
	(4,73)	(4,90)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 80	Mín.: 85
AUS (n=19)	94,60	94,60
	(4,43)	(3,75)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 87,50

## 5.4.2. *R. brethesi* silvestres

### 5.4.2.1. Fenótipo antenal por sexo

A análise comparativa do número de *sensilla* em 50 espécimes de *R. brethesi*, entre 26 machos e 24 fêmeas, demonstrou dimorfismo sexual entre os dois grupos estudados. De acordo com a análise estatística houve uma diferença significativa no receptor F2-TPF e F2-TPG (Teste t;  $p < 0,01$ ) (Tabela 5.15). Os machos possuem maior densidade de TPF e as fêmeas de TPG sobre o F2 (Tabela 5.16).

Os receptores presentes nos flagelos 1 e 2, de machos e fêmeas silvestres, estão demonstrados nas figuras 5.17 e 5.18.

Tabela 5.15: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Machos: n=26; Fêmeas: n=24. Os resultados em negrito são valores estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ).

Variável	Test t
P-BR	0,9238753
F1-BR	0,6414855
F1-TPF	0,8748967
F1-TPG	0,6018485
F1-BA	0,9027881
F2-BR	0,8074527
F2-BA	0,1858272

Variável	Mann Whitney U test
F2-TPF	<b>0,026613</b>
F2-TPG	<b>0,026613</b>

Tabela 5.16: Média, desvio padrão e mediana dos diferentes tipos de *sensilla* estudadas de machos e fêmeas da espécie *R. brethesi* silvestres. P-BR:pedicelo-bristles; F1-BR:flagelo1-bristles; F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina; F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa; F1-BA:flagelo1-basiconica; F2-BR:flagelo2-bristles; F2-TPF:flagelo2-bristles; F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede fina; F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa; F2-BA:flagelo2-basiconica. Os resultados em negrito indicam valores significativos  $p < 0,05$ .

Receptores sensoriais									
Sexo	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
Macho (n=26)	56,46 (7,70) 55	15,92 (3,68) 17	81,69 (11,42) 78	80,11 (19,19) 74	21,26 (5,11) 21	7,76 (1,92) 8	<b>30,26</b> <b>(6,70)</b> <b>32</b>	<b>59,46</b> <b>(8,62)</b> <b>60</b>	25,96 (7,27) 27
Fêmea (n=24)	58,50 (7,54) 58	15,00 (4,05) 15,5	81,25 (11,78) 83,5	76,58 (17,20) 70,5	23,54 (4,97) 24	8,00 (2,02) 8	<b>23,58</b> <b>(4,63)</b> <b>23</b>	<b>64,87</b> <b>(7,28)</b> <b>65,5</b>	28,83 (5,51) 28

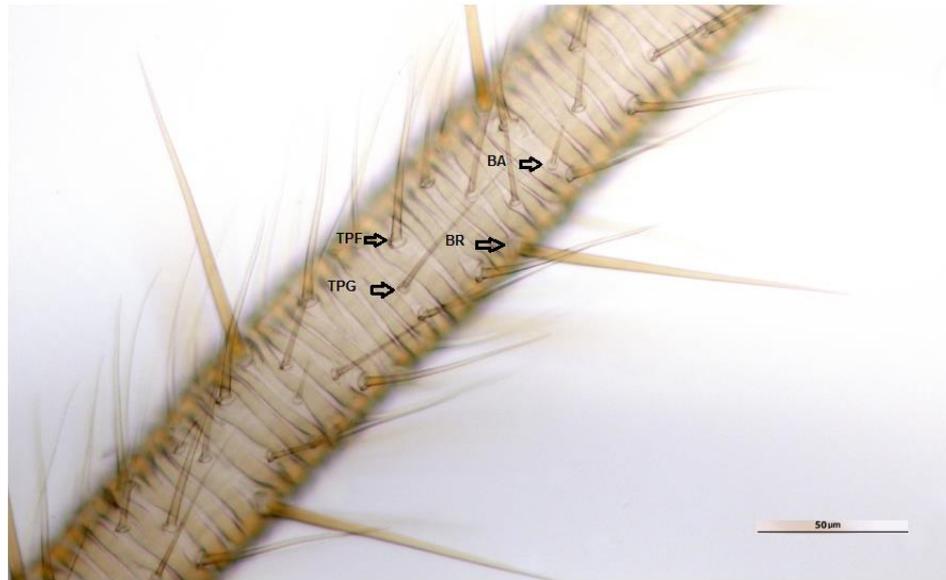


Figura 5.17. Campo ocular do segmento F2 de fêmea silvestre de *R. brethesi* capturada no piaçabal Candido no município de Barcelos, AM. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ).

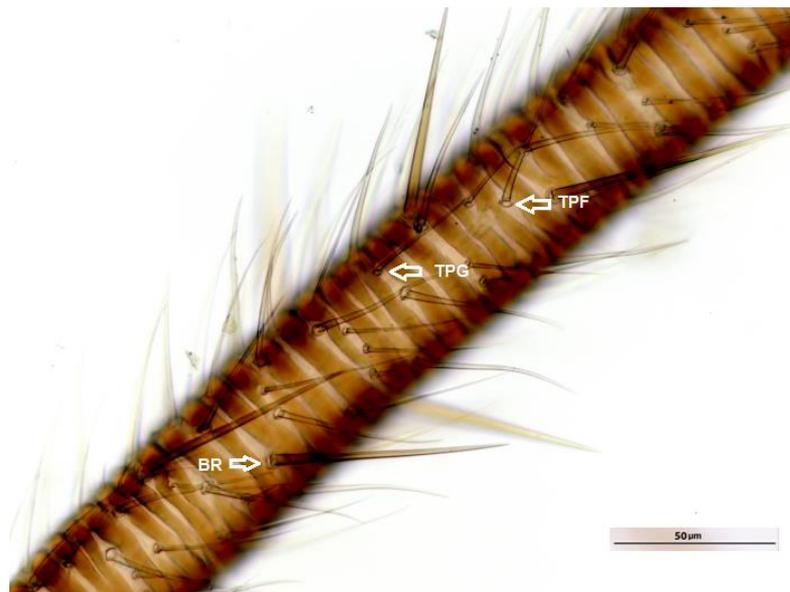


Figura 5.18: Campo ocular do segmento F1 de macho silvestre de *R. brethesi* capturado no piaçabal Candido no município de Barcelos, AM. BR: bristles; TPF: tricoidea de parede fina; TPG: Tricoidea de parede grossa; BA: basicônica. (Foto: Igor José da Silva – Laboratório de Patologia - IOC / FIOCRUZ; Tratamento da foto: Rodrigo Mexas – Serviço de Produção e Tratamento de Imagem - IOC / FIOCRUZ).

#### 5.4.2.2. Morfotipo cromático

Na análise quantitativa dos receptores presentes nos três segmentos (pedicelo, F1 e F2) entre os indivíduos com mancha (n=27) e indivíduos sem mancha (n=23), observou-se diferenças estatísticas significativas (Teste t;  $p < 0,05$ ) no receptor F2-BR. Com isso, pode separá-los em dois grupos, presente e ausente, respectivamente, nos espécimes silvestres (PRES= 27; AUS= 23) (Tabela 5.17). Os espécimes com mancha possuem maior quantidade deste *sensillum* (Tabela 5.18).

Tabela 5.17: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Mancha presente: n=27; Mancha ausente: n=23. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ).

Variável	Test t
P-BR	0,9167
F1-BR	0,1414
F1-TPF	0,0137
F1-TPG	0,8931
F1-BA	0,3737
F2-TPF	0,0267
F2-TPG	0,3599
F2-BA	0,4215

Variável	Mann Whitney U Test
F2-BR	<b>0,005332</b>

Tabela 5.18: Média, desvio padrão e mediana dos diferentes tipos de *sensilla* estudadas em indivíduos silvestres de *R. brethesi* separados por variação cromática. PRES: mancha presente; AUS: mancha ausente; P-BR:pedicelo-bristles,F1-BR:flagelo1-bristles,F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:falgelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ).

Receptores sensoriais									
Mancha	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
<b>PRES</b> (n=27)	57,33	16,07	82,66	81,22	22,85	<b>8,44</b>	27,66	60,51	27,81
	(7,62)	(3,26)	(8,55)	(17,88)	(5,56)	<b>(1,73)</b>	(7,90)	(7,55)	(7,12)
	55,5	17,5	82	76	22,5	<b>9</b>	27	63	27
<b>AUS</b> (n=23)	57,56	14,78	80,08	75,13	21,78	<b>7,21</b>	26,34	63,86	26,78
	(7,77)	(4,42)	(14,26)	(18,34)	(4,61)	<b>(2,02)</b>	(4,91)	(9,10)	(6,00)
	57	15	77	72	22	<b>7</b>	25	61	27

#### 5.4.2.3. Comprimento de TPF e TPG por sexo

De acordo com a análise do comprimento das *sensilla* do tipo quimiorreceptores, TPF e TPG entre machos e fêmeas, não apresenta valores significativos (Teste t;  $p < 0,01$ ) (Anexo 10). Esses resultados não evidenciam a existência de dimorfismo sexual entre os morfotipos.

O comprimento de TPF-F1 variou entre 87,50 e 100  $\mu\text{m}$  e TPG-F1 entre 100 e 75  $\mu\text{m}$  nos espécimes, machos e fêmeas, de *R. brethesi* silvestres (Tabela 5.19).

Tabela 5.19: Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG dos indivíduos silvestres separados por sexo. C.TPF: Comprimento do receptor tricoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor tricoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Sexo	Comprimento	
	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
Macho (n=26)	95,28	94,71
	(4,08)	(6,72)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 75
Fêmea (n=24)	95,41	95,62
	(2,82)	(4,67)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 90	Mín.: 87,50

#### 5.4.2.4. Comprimento de TPF e TPG de acordo com morfotipo cromático

Na análise do comprimento das *sensilla* TPF e TPG entre machos e fêmeas, com variações cromáticas, não houve valores significativos ( $p < 0,05$ ). Assim dentro da amostra estudada não existe diferença de comprimento destas *sensilla* entre os indivíduos com mancha - PRESENTE e indivíduos sem mancha – AUSENTE (Anexo 11). O comprimento de TPF-F1 variou entre 87,50 a 100  $\mu\text{m}$  e TPG-F1 entre 75 e 100  $\mu\text{m}$  (Tabela 5.20).

Tabela 5.20: Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento F1-TPF e F1-TPG de *R. brethesi* separados pela variação cromática. PRES: Mancha Presente; AUS: Mancha Ausente; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Comprimento		
Mancha	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
PRES (n=27)	95,00	94,35
	(3,53)	(5,44)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 87,50
AUS (n=23)	95,76	96,08
	(3,48)	(6,16)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 75

#### 5.4.3. Comparação do fenótipo antenal dos *R. brethesi* de laboratório e silvestres

##### 5.4.3.1. Machos de diferentes ecótopos

Na análise comparativa da quantidade de receptores sensoriais, quimio e mecanorreceptores, presentes nas antenas de 49 machos de diferentes ecótopos, laboratório (n=23) e palmeira silvestre (n=26), observou uma diferença estatística significativa (Teste t;  $p < 0,01$ ).

A análise demonstrou que os espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório possuem maior densidade de BR e TPF sobre F1. Assumindo no Teste t  $p < 0,05$  observou o valor significativo para o receptor F1-TPG, onde machos silvestres apresentam maior quantidade destas *sensilla* (Tabela 5.21).

Pode-se afirmar que através das *sensilla* F1-BR, F1-TPF e F1-TPG é possível separar machos adultos de ecótopo silvestre de machos de ecótopo artificial (Tabela 5.22).

Tabela 5.21: Média, desvio padrão e mediana dos receptores presentes nos três segmentos das antenas de machos criados no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório e SILV: Silvestre, município de Barcelos; P-BR:pedicelo-bristles, F1-BR:flagelo1-bristles, F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores significativos  $p < 0,05$ .

Receptores sensoriais									
Ecótopo	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
<b>Machos LAB</b> (n=23)	57,21 (8,01) 56	<b>18,52</b> <b>(3,52)</b> <b>18</b>	<b>98,43</b> <b>(20,81)</b> <b>94</b>	64,21 (33,01) 49	18,78 (6,91) 18	8,30 (2,63) 9	32,08 (10,19) 29	59,26 (13,13) 59	28,86 (10,21) 29
<b>Machos SILV</b> (n=26)	56,46 (7,70) 55,5	<b>15,92</b> <b>(3,68)</b> <b>17,5</b>	<b>81,69</b> <b>(11,42)</b> <b>80,5</b>	80,11 (19,19) 80,5	21,26 (5,11) 21	7,76 (1,92) 8	30,26 (6,70) 34	59,46 (8,62) 60,5	25,96 (7,27) 27

Tabela 5.22: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Laboratório: n=23; Palmeira silvestre: n=26. Em negrito são valores estatísticos significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ .

Variável	Test t
P-BR	0,842864
F1-BA	0,145981
F2-BR	0,130546
<b>F2-TPF</b>	<b>0,045226</b>
<b>F2-TPG</b>	<b>0,043956</b>
F2-BA	0,103289

Variável	Mann Whitney U Test
<b>F1-BR</b>	<b>0,019705</b>
<b>F1-TPF</b>	<b>0,002581</b>
<b>F1-TPG</b>	<b>0,000763</b>

### 5.4.3.2. Comprimento de TPF e TPG dos machos por ecótopo

De acordo com a análise do comprimento das *sensilla* do tipo quimiorreceptores, TPF e TPG, entre machos de laboratório e silvestre não houve diferenças estatísticas significativas (Teste t;  $p < 0,01$ ) (Anexo 12). Com isso, não foi observada diferença nos comprimentos destes receptores nos espécimes capturados na *L. piassaba* e provenientes do laboratório.

O comprimento de F1-TPF variou entre 87,50 e 100  $\mu\text{m}$  e F1-TPG entre 75 e 100  $\mu\text{m}$  (Tabela 5.23).

Tabela 5.23: Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento de F1-TPF e F1-TPG de machos de *R. brethesi* criados no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório; SILV: Silvestre, município de Barcelos; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Ecótopo	Comprimento	
	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
LAB (n=23)	93,91	95,10
	(4,04)	(4,29)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 85
SILV (n=26)	95,28	94,71
	(4,08)	(6,72)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,50	Mín.: 75

### 5.4.3.3. Fêmeas de diferentes ecótopos

Comparando o fenótipo antenal entre 44 fêmeas de dois diferentes ambientes, laboratório (n=20) e silvestre (n=24), três marcadores sensoriais obtiveram diferenças estatísticas significativas (Teste t;  $p < 0,01$ ), F1-BR, F1-TPF e F1-BA (Tabela 5.24). As fêmeas provenientes do laboratório apresentam maior densidade dos receptores BR e TPF sobre F1, e fêmeas silvestres possuem um maior número de BA sobre F1 (Tabela 5.25).

Assumindo  $p < 0,05$  o número de marcadores aumenta para quatro, ou seja, incluímos aos três anteriormente citados F2-TPF. As fêmeas do laboratório apresentam em maior quantidade F2-TPF do que as provenientes do campo.

Tabela 5.24: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico). Laboratório: n=20; Silvestre: n=24. Em negrito são valores estatísticos significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ .

Variável	Test t
P-BR	0,794483
<b>F1-TPG</b>	<b>0,003714</b>
F2-BR	0,540147
<b>F2-TPF</b>	<b>0,000545</b>
<b>F2-TPG</b>	<b>0,000780</b>
F2-BA	0,181198

Variável	Mann Whitney U Test
<b>F1-BR</b>	<b>0,000922</b>
<b>F1-TPF</b>	<b>0,000007</b>
<b>F1-BA</b>	<b>0,000072</b>

Tabela 5.25: Média, desvio padrão e mediana de todos os receptores presentes no pedicelo, F1 e F2 das antenas de fêmeas de *R. brethesi* separadas pelo ecótopo. LAB: Laboratório e SILV: Silvestre, município de Barcelos. P-BR:pedicelo-bristles, F1-BR:flagelo1-bristles, F1-TPF:flagelo1-tricoidea de parede fina, F1-TPG:flagelo1-tricoidea de parede grossa, F1-BA:flagelo1-basiconica, F2-BR:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-bristles, F2-TPF:flagelo2-tricoidea de parede fina, F2-TPG:flagelo2-tricoidea de parede grossa, F2-BA:flagelo2-basiconica. Em negrito são valores significativos  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ .

Receptores sensoriais									
Ecótopo	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
<b>Fêmeas</b>	58,80	<b>18,55</b>	<b>109,35</b>	62,15	<b>16,50</b>	8,20	<b>28,70</b>	64,50	29,25
<b>LAB</b>	(7,96)	<b>(2,70)</b>	<b>(20,00)</b>	(32,93)	<b>(5,58)</b>	(2,30)	<b>(10,12)</b>	(15,54)	(7,39)
<b>(n=20)</b>	59	<b>19</b>	<b>109</b>	55,5	<b>16</b>	8,5	<b>27</b>	61	31
<b>Fêmeas</b>	58,50	<b>15,00</b>	<b>81,25</b>	76,58	<b>23,54</b>	8	<b>23,58</b>	64,87	28,83
<b>SILV</b>	(7,54)	<b>(4,05)</b>	<b>(11,78)</b>	(17,20)	<b>(4,97)</b>	(2,02)	<b>(4,63)</b>	(7,28)	(5,51)
<b>(n=24)</b>	58	<b>15,5</b>	<b>83,5</b>	70,5	<b>24</b>	8	<b>23</b>	65,5	28

#### 5.4.3.4. Comprimento de TPF e TPG por ecótopo

Na análise do comprimento das *sensilla*, F1-TPF e F1-TPG, entre fêmeas de diferentes ecótopos não foi significativo (Teste t;  $p < 0,01$ ). Assim nas fêmeas capturadas no campo e provenientes do laboratório não se encontrou diferença nos comprimentos destes receptores (Anexo 13). Os comprimentos dos quimiorreceptores TPF e TPG variaram entre 80 a 100  $\mu\text{m}$  e 85 e 100  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Tabela 5.26).

Tabela 5.26: Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo do comprimento de F1-TPF e F1-TPG das fêmeas criadas no laboratório e silvestres. LAB: Laboratório; SILV: Silvestre; C.TPF: Comprimento do receptor trichoidea de parede fina; C.TPG: Comprimento do receptor trichoidea de parede grossa; Máx: Valor Máximo de C.TPF e TPG; Mín: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Ecótopo	Comprimento	
	C.TPF ( $\mu\text{m}$ )	C.TPG ( $\mu\text{m}$ )
LAB (n=20)	93,62	93,75
	(5,28)	(4,47)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 80	Mín.: 85
SILV (n=24)	95,41	95,62
	(2,82)	(4,67)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 90	Mín.: 87,50

#### 5.4.3.5. Interação ecótopo e sexo

Após a análise (ANOVA *two way*) da interação entre os diferentes ecótopos e o sexo pode se observar que oito receptores foram significativos do total de nove receptores estudados (Tabela 5.27).

Tabela 5.27: Análise ANOVA *two way* para ecótopo, sexo e interação ecótopo e sexo para os nove receptores estudados dos espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório e capturados na localidade do município de Barcelos, Amazonas. NS: Não Significativo. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ).

Fonte	Receptores								
	P-BR	F1-BR	F1-TPF	F1-TPG	F1-BA	F2-BR	F2-TPF	F2-TPG	F2-BA
Ecótopo	NS	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	NS	<b>0,000</b>	NS	<b>&lt;0,025</b>
Sexo	NS	NS	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	NS	NS	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>&lt;0,025</b>
Interação (Ecótopo.Sexo)	NS	NS	<b>0,000</b>	NS	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>&lt;0,025</b>	NS	<b>&lt;0,025</b>

#### 5.4.4. Distância fenotípica considerando sexo e ecótopo

De acordo com os resultados, onde foram observados valores significativos para três tipos de *sensilla* (BR, TPF e BA) no flagelo 1, analisou-se a distância fenotípica a partir da Distância de Mahalanobis após a correção de Bonferroni ( $p < 0,00833$ ) (Tabela 5.28). Entretanto, nesta análise foram utilizados todos os receptores estudados (P-BR, F1-BR, F1-TPF, F1-TPG, F1-BA, F2-BR, F2-TPF, F2-TPG, F2-BA).

Através da distância de Mahalanobis fica clara a separação fenotípica entre os grupos dos diferentes ecótopos, esta distância é mais acentuada nas fêmeas (Figura 5.19).

Tabela 5.28: Distância de Mahalanobis para comparação entre espécimes de *R. brethesi* silvestres e criados no laboratório. Rb M Lab: *R. brethesi* macho laboratório; Rb M Silv: *R. brethesi* macho silvestre; Rb F Lab: *R. brethesi* fêmea laboratório; Rb F Silv: *R. brethesi* silvestre. Em negrito são valores estatísticos significativos ( $p < 0,05$ ).

	Rb M Lab	Rb M Silv	Rb F Lab	Rb F Silv
Rb M Lab	0,00			
Rb M Silv	<b>1,89</b>	0,00		
Rb F Lab	1,24	<b>2,81</b>	0,00	
Rb F Silv	<b>2,24</b>	1,25	<b>2,82</b>	0,00

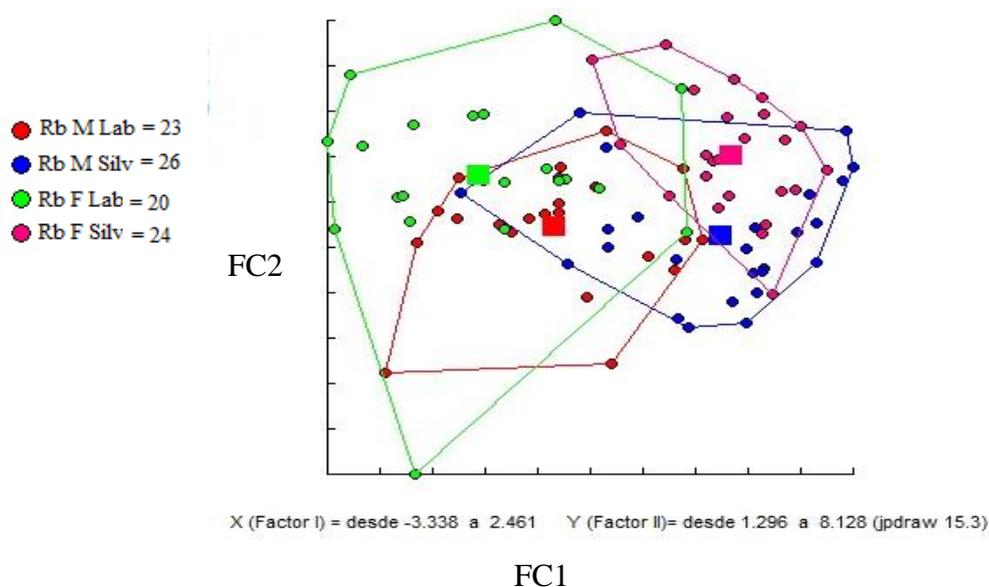


Figura 5.19: Distância fenotípica a partir da análise discriminante das nove *sensilla* antenais estudadas entre os grupos de *R. brethesi* de acordo com sexo e ecótopo. FC1: Fator 1; FC2: Fator 2.

### 5.4.5. Análise comparativa do comprimento das sensilla do tipo TPF e TPG de *R. brethesi* com outras espécies do gênero *Rhodnius*

Nesta análise utilizaram-se espécimes de *R. brethesi* de ambiente silvestre, pois, os outros espécimes de *Rhodnius* inseridos no estudo também foram capturados no campo.

Pela medição dos comprimentos das *sensilla* do tipo TPF e TPG no flagelo 1 (F1-TPF e F1-TPG) pode-se verificar que os espécimes de *R. brethesi* possuem maior comprimento que os outros espécimes de *Rhodnius* (Tabela 5.29 e tabela 5.30).

Tabela 5.29: Média, desvio padrão e valores máximo e mínimo dos C.TPF e C.TPG de *R. brethesi* (n=33♂ e ♀) e outras espécies de *Rhodnius* (n=33): *R. robustus* (n=3♂), *R. pictipes* (n=3♂), *R. neglectus* (n=3♂), *R. neivai* (n=3♀), *R. nasutus* (n=3♀), *R. ecuadoriensis* (n=3♂), *R. stali* (n=3♂), *R. colombiensis* (n=3♀), *R. pallescens* (n=3♀), *R. prolixus* (n=3♂) e *R. domesticus* (n=3♀). C.TPF: comprimento do TPF; C.TPG: comprimento do TPG; Máx.: Valor Máximo de C.TPF e C.TPG; Mín.: Valor Mínimo de C.TPF e C.TPG.

Grupos	Comprimento	
	C.TPF (µm)	C.TPG (µm)
<i>R. brethesi</i> (n=33)	95,07	94,84
	(3,39)	(5,26)
	Máx.: 100	Máx.: 100
	Mín.: 87,5	Mín.: 85
Outros <i>Rhodnius</i> (n=33)	66,28	69,62
	(8,45)	(8,97)
	Máx.: 77,5	Máx.: 92,5
	Mín.: 47,5	Mín.: 55

Tabela 5.30: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney (teste não paramétrico).

Variável	Test t	Mann Whitney U Test
C.TPF	0,000039	0,000000
C.TPG	0,009428	0,000000

## 5.5. Morfometria geométrica

### 5.5.1. Descrição geral da morfometria geométrica das asas de *R. brethesi*

Os resultados obtidos a partir das análises do tamanho centróide (CS) (Figura 5.20) das asas dos espécimes, machos e fêmeas de *R. brethesi*, criados no laboratório e silvestres, foram estatisticamente significativos, pois tanto as fêmeas do laboratório quanto os espécimes silvestres apresentam maior tamanho das estruturas das asas que os machos. Desta forma através da análise se detectou que o tamanho das asas é capaz de estruturar o grupo de fêmeas silvestres e fêmeas de laboratório, dos machos silvestres e do laboratório. Não se observou, porém, diferença estatística entre CS de machos do laboratório e silvestres, e fêmeas do laboratório e silvestres. Também não houve diferença estatística no tamanho centróide (CS) entre machos com mancha e sem mancha no pronoto dos diferentes ecótopos. O mesmo ocorreu para as fêmeas.

Com a análise da conformação das estruturas alares foi possível verificar a existência de diferenças estatísticas significativas entre o sexo e os ecótopos dos espécimes de *R. brethesi*. A proximidade da conformação entre os grupos, utilizando a distância de Mahalanobis, também confirmou esta diferença. Não foi possível agrupar os indivíduos de acordo com a variação cromática. Não ficou demonstrado pendente alométrica comum entre ecótopo e sexo; e sexo, ecótopo e mancha.

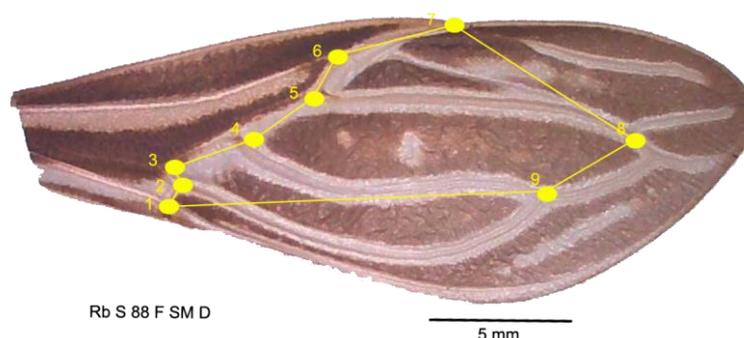


Figura 5.20: Asa direita de *Rhodnius brethesi* com nove landmarks.

### 5.5.2. Tamanho Centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados de acordo com ecótopo e sexo.

Uma análise univariada do tamanho centróide das asas de *R. brethesi*, realizada com intuito de comparar os indivíduos coletados no ambiente silvestre e os criados no laboratório, mostrou diferenças significativas entre os sexos ( $t= 1,9686$ ;  $\alpha= 0,05$ ;  $p<0,0001$ ). As fêmeas silvestres e de laboratório, apresentam um tamanho centróide maior que o tamanho centróide dos machos, demonstrando que existe dimorfismo sexual em ambos os ecótopos (Figura 5.21 e Tabela 5.31).

Não existem diferenças significativas entre o CS dos machos do ecótopo silvestre e do laboratório, o mesmo ocorre com o CS das fêmeas.

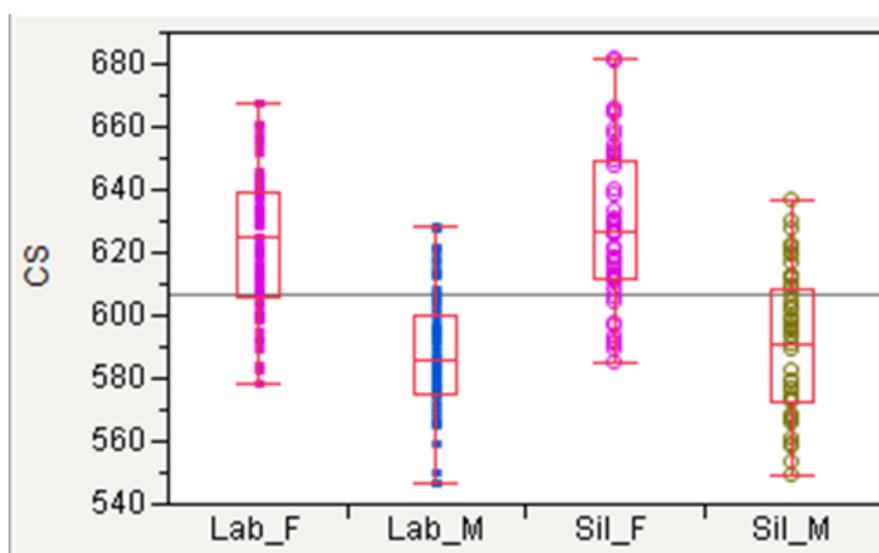


Figura 5.21: Tamanho centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados segundo ecótopo: Laboratório (Lab) e Silvestre (Silv); e sexo (F: fêmea e M: macho). As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa o quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a grande média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos.

Tabela 5.31: Teste *t Student* indicando os valores significativos (em negrito) entre o tamanho centróide dos espécimes de *R. brethesi*. F.SILV: fêmea silvestre; F.LAB: fêmea laboratório; M.SILV: macho silvestre; M.LAB: macho laboratório.

	Sexo / Ecótopo			
	F.Silv	F.Lab	M.Silv	M.Lab
F.Silv	-8,036			
F.Lab	-2,035	-6,561		
M.Silv	<b>30,041</b>	<b>25,451</b>	-7,822	
M.Lab	<b>33,626</b>	<b>29,108</b>	-4,227	-6,405

### 5.5.3 Conformação (*Shape*) das asas de *R. brethesi* agrupados de acordo com ecótopo e sexo.

Para as variáveis de conformação, o mapa fatorial elaborado a partir de uma análise canônica, mostrou que existem diferenças significativas entre o sexo e os ecótopos dos espécimes de *R. brethesi* (Figura 5.22).

Os níveis de reclassificação dos espécimes de *R. brethesi* foram considerados moderados a aceitáveis, com 62% (34/54) para fêmeas silvestres, seguido de 68% (58/85) para machos de laboratório, 71% (41/57) para machos silvestres e 74% (60/81) para fêmeas do laboratório. A contribuição dos fatores canônicos resultou de 79%, 16% e 5% para os três primeiros fatores. O teste de permutação corrigido por Bonferroni ( $p < 0,0083$ ) mostrou que existem diferenças significativas para as distâncias de Mahalanobis (Tabela 5.32).

Um dendrograma UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) derivado das distâncias de Mahalanobis mostrou uma clara separação entre os grupos estudados que pertencem ao ambiente silvestre e ao laboratório (Figura 5.23).

Sobre o efeito alométrico, uma análise multivariada de regressão (MANCOVA) realizado com as variáveis de conformação e tamanho, mostrou um efeito do tamanho sobre a conformação (*Wilks' Lambda* 0,757;  $F=1,77$ ;  $gL1= 42$ ,  $gL2= 1760,18$ ;  $p= 0,0022$ ) indicando que não existe pendente alométrica comum.

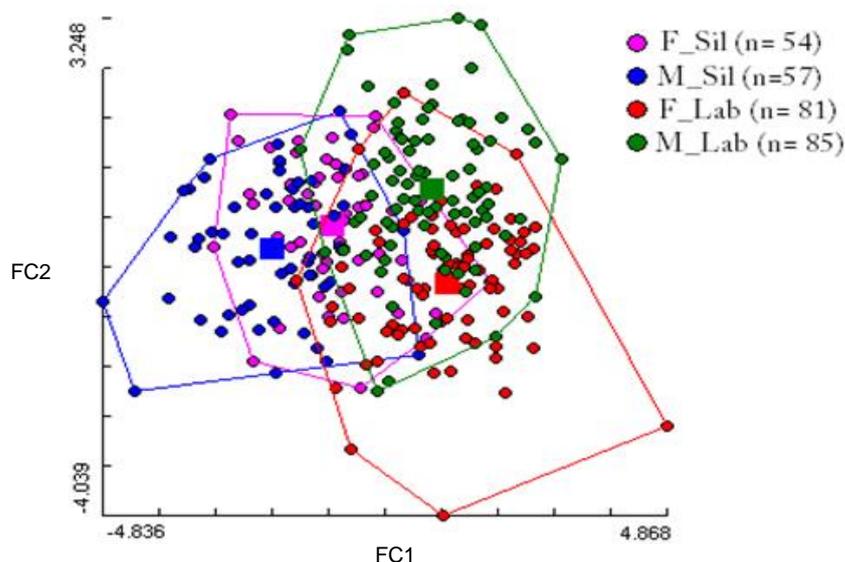


Figura 5.22: Análise canônica dos grupos de *R. brethesi* analisados. A figura mostra a distribuição do centróide (média multivariada) sobre o fator canônico 1 (FC1) e o 2 (FC2). Os polígonos representam a dispersão dos pontos de cada população. O FC1 explicou o 79% da variância, entretanto o CF2 explicou o 16%. F\_SIL: fêmea silvestre; M\_SIL: macho silvestre; F\_LAB: fêmea laboratório; M\_LAB: macho laboratório.

Tabela 5.32: Distância de Mahalanobis para as populações de *R. brethesi* analisadas (\*valores significativos pela correção de Bonferroni  $p < 0,0083$ ).

Sexo / Ecótopo				
	F.Silv	F.Lab	M.Silv	M.Lab
F.Silv	0,00			
F.Lab	1,42*	0,00		
M.Silv	2,23*	3,06*	0,00	
M.Lab	1,94*	2,88*	1,42*	0,00

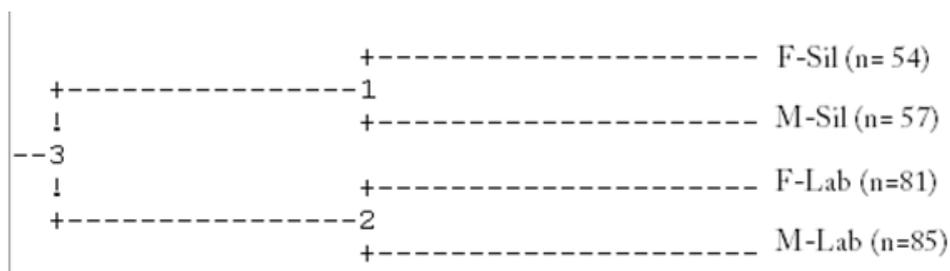


Figura 5.23: Dendrograma UPGMA derivado da distância de Mahalanobis baseado na conformação das asas de *R. brethesi*. F-Sil: fêmea silvestre; M-Sil: macho silvestre; F-Lab: fêmea laboratório; M-Lab: macho laboratório.

### 5.5.4 Tamanho do Centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados de acordo sexo, mancha e ecótopo

Como foram encontradas diferenças significativas entre machos e fêmeas de cada ecótopo estudado, as análises a seguir foram realizadas separando os grupos por sexo, mancha e ecótopo (Figura 5.24).

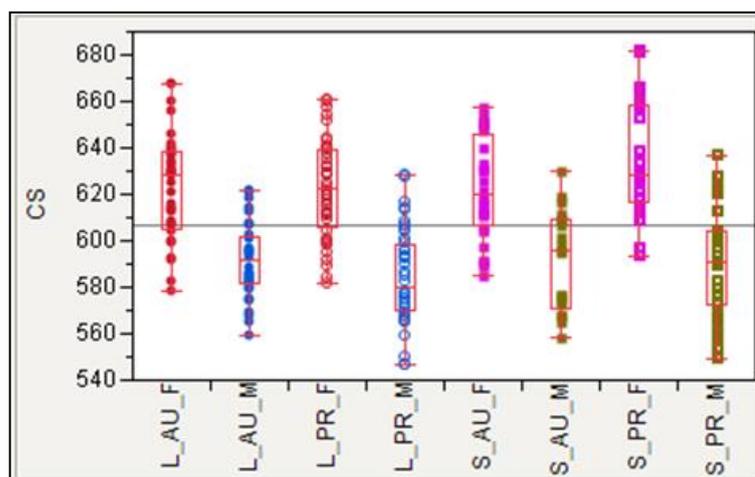


Figura 5.24: Tamanho centróide (CS) das asas de *R. brethesi* agrupados segundo sexo, mancha e ecótopo. Laboratório (L), Silvestre (S); Presença (PR) ou ausência (AU) da mancha no pronoto e sexo (F= Fêmea, M= Macho). As caixas mostram os valores médios em cada grupo, a linha central separa o quartéis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a grande média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos.

### 5.5.5. Tamanho do centróide (CS) das fêmeas

De acordo a análise realizada nas asas de fêmeas de *R. brethesi* separadas por ecótopo e variação cromática observa-se que não há diferença estatística significativa no tamanho CS dos espécimes provenientes do laboratório e silvestres (Figura 5.25).

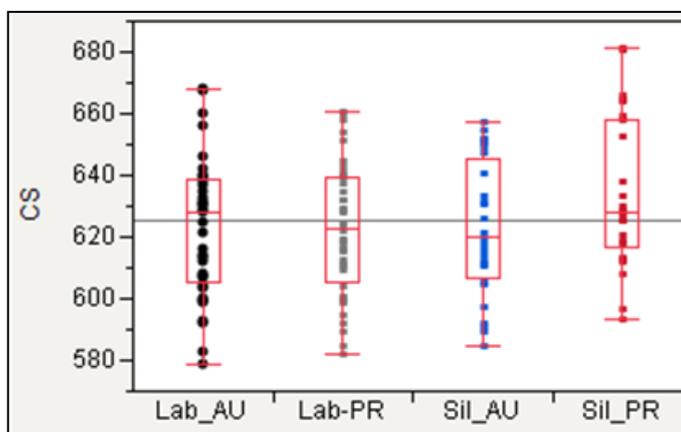


Figura 5.25: Tamanho centróide (CS) das asas das fêmeas de *R. brethesi* agrupados segundo seu ecótopo e mancha: Laboratório e Silvestre; com (presente) ou sem (ausente) mancha no pronto. As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa os quartis 25 e 75 e as linhas extremas o 10 e 90. A linha central denota a média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos. Lab\_AU: laboratório ausente; Lab\_PR: laboratório presente; SIL\_AU: silvestre ausente; SIL\_PR: silvestre presente.

### 5.5.6. Tamanho do centróide (CS) dos machos

Na análise realizada para verificar o tamanho CS das asas de machos de *R. brethesi* separados por ecótopo e variação cromática nota se que não há diferença estatística significativa nos espécimes estudados (Figura 5.26).

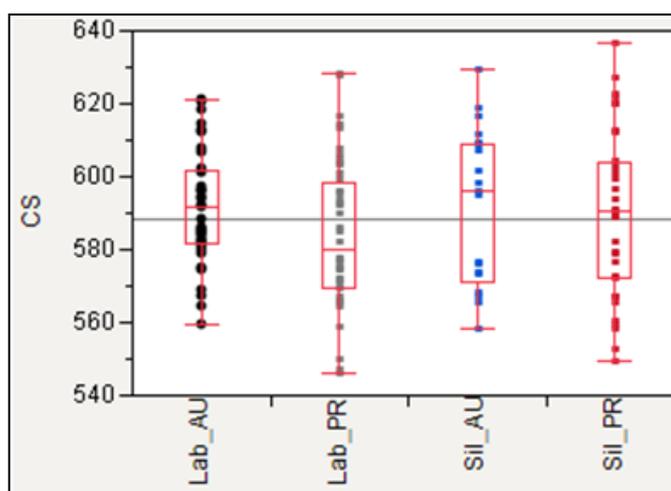


Figura 5.26: Tamanho centróide (CS) das asas dos machos de *R. brethesi* agrupados segundo seu ecótopo e mancha: Laboratório e Silvestre; com (presente) ou sem (ausente) mancha no pronto. As caixas representam os valores médios em cada grupo, a linha central separa os quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a média e os pontos, no centro das caixas, a distribuição dos indivíduos. Lab\_AU: laboratório ausente; Lab\_PR: laboratório presente; SIL\_AU: silvestre ausente; SIL\_PR: silvestre presente.

### 5.5.7. Conformação (*Shape*) das asas de *R. brethesi* agrupados de acordo sexo, mancha e ecótopo.

O mapa fatorial elaborado a partir de uma análise canônica das variáveis de conformação mostrou um solapamento entre os grupos analisados (Figura 5.27).

Os níveis de reclassificação dos indivíduos de *R. brethesi* foram considerados de moderados a baixos, variando de 37% a 62%. Machos com ausência de mancha provenientes do laboratório, possuem menor similaridade, apresentando 37% e fêmeas também com ausência de mancha e do laboratório possuem 62% demonstrando maior similaridade entre os espécimes. A contribuição dos fatores canônicos resultou de 63%, 17% e 10% para os três primeiros fatores.

O teste de permutação corrigido por Bonferroni ( $p < 0,00179$ ) para as distâncias de Mahalanobis mostrou que existem diferenças significativas entre o sexo e os ecótopos, entretanto não foi possível distinguir uma agrupação entre os espécimes com e sem mancha no pronoto. Esta separação clara entre os grupos estudados foi demonstrada no dendograma UPGMA (Figura 5.28).

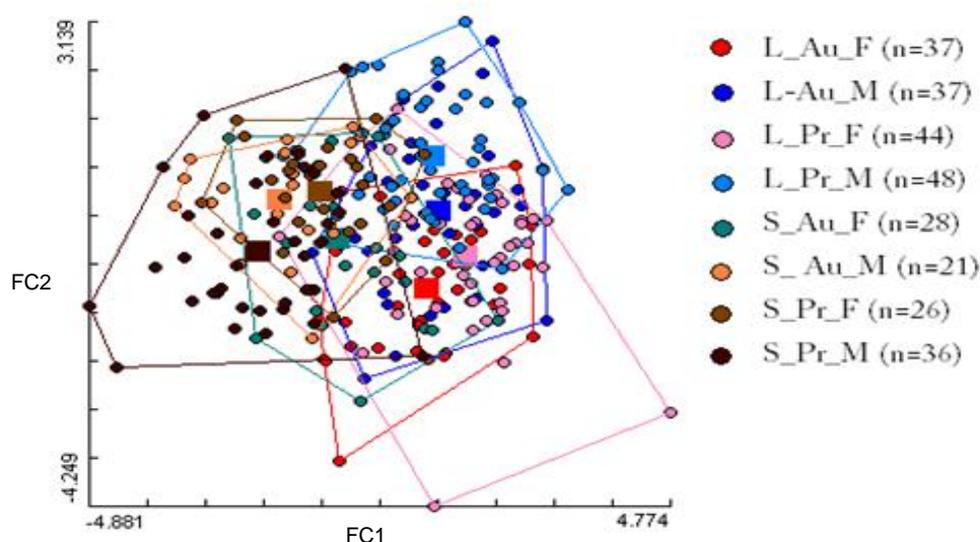


Figura 5.27: Análise canônica das populações de *R. brethesi*. A figura mostra a distribuição do centróide (média multivariada) sobre o fator canônico 1 (FC1) e o 2 (FC2). Os polígonos representam a dispersão dos pontos de cada população. O FC1 explicou o 63% da variância, e o FC2 explicou 17%. L\_Au\_F: laboratório ausente fêmea; L\_Au\_M: laboratório ausente macho; L\_Pr\_F: laboratório presente fêmea; L\_Pr\_M: laboratório presente macho; S\_Au\_F: silvestre ausente fêmea; S\_Au\_M: silvestre ausente macho; S\_Pr\_F: silvestre presente fêmea; S\_Pr\_M: silvestre presente macho.

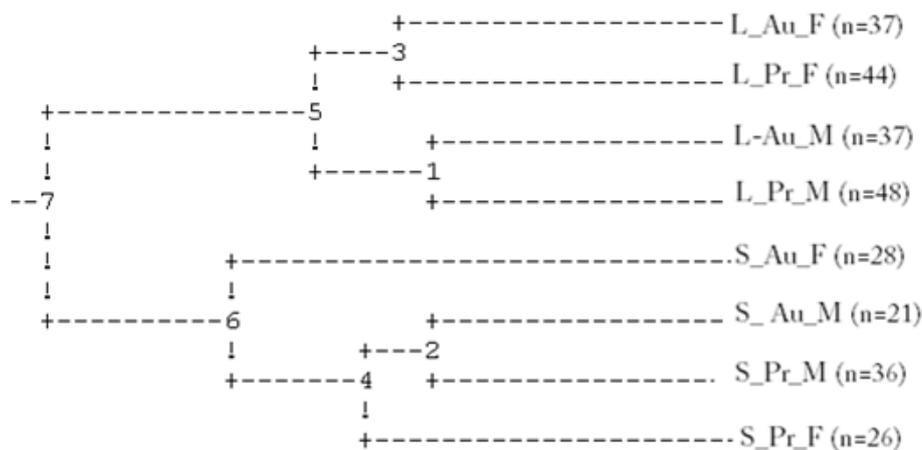


Figura 5.28: Dendrograma UPGMA derivado das distâncias de Mahalanobis baseado na conformação das asas de *R. brethesi*. L\_Au\_F: laboratório ausente fêmea; L\_Au\_M: laboratório ausente macho; L\_Pr\_F: laboratório presente fêmea; L\_Pr\_M: laboratório presente macho; S\_Au\_F: silvestre ausente fêmea; S\_Au\_M: silvestre ausente macho; S\_Pr\_F: silvestre presente fêmea; S\_Pr\_M: silvestre presente macho.

### 5.5.8. Efeito Alométrico

A análise multivariada de covariância (MANCOVA) realizada com as variáveis de conformação e tamanho mostrou que não existe pendente alométrica comum ao sexo, ecótopo e mancha no pronoto (*Wilks' Lambda* 0,508;  $F=1,88$ ;  $gL1=98$ ,  $gL2=1577,41$ ;  $p=0,0000$ ).

## 6. Discussão

Na Amazônia a doença de Chagas humana pode ser considerada como um agregado de diferentes perfis epidemiológicos, que se sobrepõem no espaço e no tempo, onde a transmissão do *Trypanosoma cruzi* para humanos depende da capacidade de dispersão ativa do vetor silvestre. Estes vetores se deslocam do seu habitat natural para as casas e entram em contato com humanos e/ou contaminam seus alimentos (Aguilar *et al.* 2007; Coura *et al.* 1999, 2002).

Na primeira situação, a transmissão de baixa intensidade gera um padrão hipoendêmico (Aguilar *et al.* 2007 e Abad-Franch *et al.* 2010). Este perfil é amplamente distribuído e heterogêneo, ocorrendo com a maioria da população da Amazônia. O mecanismo da transmissão é a invasão esporádica do domicílio por vetores adultos (*R. pictipes*, *R. robustus*, *T. maculata* e *P. geniculatus*), devido a presença de palmeiras e outros ecótopos próximo as casas (Luitgards-Moura *et al.* 2005; Aguilar *et al.* 2007). A grande maioria desses acontecimentos é mediada por triatomíneos do gênero *Rhodnius* que estão

associados às palmeiras (Luitgards-Moura *et al.* 2005; Abad-Franch *et al.* 2009 e Abad-Franch *et al.* 2010, Ricardo-Silva *et al.* 2012).

A segunda situação está relacionada à intensa transmissão em algumas sub-regiões. A transmissão vetorial silvestre, associada ao extrativismo da fibra de piaçaba, da palmeira *Leopoldinia piassaba*, e a transmissão oral atribuída ao consumo de sucos contaminados, como o açaí (Valente AS *et al.* 2006; Souza-Lima *et al.* 2011; Nóbrega *et al.* 2009). A retirada da fibra é uma atividade econômica relevante no médio e alto rio Negro, abrangendo os países: Brasil, Colômbia e Venezuela (Aguilar *et al.* 2007).

Um terceiro perfil ou situação pode ser atribuído à presença de casos humanos não autóctones, de indivíduos chagásicos que migraram de áreas endêmicas para áreas de ocupação humana recentes na Amazônia Brasileira (Luitgards-Moura *et al.* 2005; Massaro *et al.* 2008).

Estas diferentes situações e perfis de transmissão do *T. cruzi*, conduzem a necessidade de um controle e uma vigilância entomológica diferenciada para cada perfil apresentado na região amazônica. Devido a isto, aumentou o interesse em entender as características ecológicas e comportamentais de populações de triatomíneos silvestres existentes (Abad-Franch *et al.* 2005).

A ocorrência generalizada de palmeiras infestadas por populações de *Rhodnius* na Amazônia e juntamente com evidências epidemiológicas, sugere seu papel ativo na transmissão da doença. Ressaltando a importância de se obter estimativas confiáveis de índices de infestação de palmeiras por esses vetores (Batista & Gurgel-Gonçalves 2009; Abad-Franch *et al.* 2010; Gurgel-Gonçalves *et al.* 2012).

Certas características de algumas espécies de palmeiras podem favorecer o estabelecimento de colônias de *Rhodnius* (Barreto, 1967; Barreto *et al.* 1969; Forattini, 1971; Barrett, 1991) e podem influenciar na variabilidade morfológica de espécimes de *R. nasutus* (Dias *et al.* 2011). Assim, como a *Attalea butyracea* foi considerada como o principal ecótopo silvestre de populações de *R. pallescens*. Através do mapeamento da presença e abundância desta espécie de palmeira será possível indicar áreas de risco de contato entre os ciclos de transmissão silvestre e domiciliar da doença de Chagas (Romaña *et al.* 1999; Massaro *et al.* 2008).

As palmeiras, segundo Romaña *et al.* (1999), estão definidas como “ecótopos de risco”, uma vez que as espécies de triatomíneos que as infestam demonstram comportamento sinantrópico e estão frequentemente infectadas com *T. cruzi*, podendo alcançar alta densidade. Saber quais são as características dos ecótopos silvestres, que favorecem a infestação de

triatomíneos, é o primeiro passo para identificar estes ecótopos, permitindo traçar estratégias de controle (Abad-Franch *et al.* 2005).

Com o aumento da densidade de insetos por palmeiras, sem aumento de fonte alimentar, pode induzir a dispersão dos adultos, pelo voo, em busca de alimento (Abad-Franch *et al.* 2005). Este comportamento representa a principal fonte de risco de transmissão da doença de Chagas na Amazônia (Coura *et al.* 1994; Teixeira *et al.* 2001; Coura *et al.* 2002).

As palmeiras do gênero *Attalea* (Arecoideae) possuem um papel importante como ecótopo para populações de *Rhodnius* silvestres na Amazônia (Romaña *et al.* 1999; Abad-Franch *et al.* 2010; Ricardo-Silva *et al.* 2012). Esta forte associação *Rhodnius* - *Attalea* sugere que a presença destas palmeiras pode ser usada como “indicador ecológico” de áreas onde ocorre o ciclo de transmissão do *T. cruzi* (Romaña *et al.* 1999; Abad-Franch *et al.* 2010). Outros pesquisadores também demonstraram o papel significativo das palmeiras como ecótopos de espécies do gênero *Rhodnius*, por exemplo: *Acromia sclerocarpa*, *Scheelea phalerata*, *Mauritia flexuosa*, *Mauritia vinifera*, *Copernicia prunifera* e *Orgygnia speciosa*. Estas palmeiras favorecem a infestação por triatomíneos em diferentes regiões do país (Barretto *et al.* 1969, Forattini 1971; Gurgel-Gonçalves *et al.* 2004; Massaro *et al.* 2008; Dias *et al.* 2011).

A espécie *R. brethesi* é considerada especialista, ou seja, somente é encontrada em uma única espécie de palmeira (Abad-Franch *et al.* 2004). Matta (1919) e Mascarenhas (1987 e 1991) já haviam descrito a presença e a formação de colônias deste triatomíneo em palmeiras da espécie *L. piassaba*.

O extrativismo da fibra da palmeira *L. piassaba* é a principal fonte de renda de muitos trabalhadores da região de Barcelos, AM (Coura *et al.* 1994, Aguilar *et al.* 2007). Assim, as famílias ficam dias acampadas nos piaçabais em contato direto com *R. brethesi*, conhecido popularmente como “piolho da piaçaba” (Coura *et al.* 1994).

Ao longo dos anos vários pesquisadores vêm demonstrando, através da soroprevalência e do reconhecimento da população local sobre o triatomíneo *R. brethesi*, a importância da transmissão vetorial da doença de Chagas humana por este vetor silvestre (Coura *et al.* 1994, Coura *et al.* 1999, Dias *et al.* 2001, Coura *et al.* 2002, Dias *et al.* 2002).

Segundo a literatura o *R. brethesi* está presente nos seguintes estados brasileiros: Amazonas, Microrregião do Rio Negro (Coura *et al.* 1999 e 2002), Pará (Almeida 1971) e Maranhão nos municípios de Sambaíba, Loreto e São Félix das Balsas (Rebêlo *et al.* 1998; Rebêlo 2000). Entretanto, a distribuição geográfica da palmeira *L. piassaba* tem registro somente na bacia do alto rio Negro, estado do Amazonas, (Lorenzi 2010; Henderson 2011).

Um dos questionamentos do trabalho, aqui apresentado, foi sobre a presença do *R. brethesi* em locais onde não está descrita a presença da *L. piassaba*, como nos estados do Pará e Maranhão. Sendo uma espécie de triatomíneo considerada ecótopo específico, qual seria o ecótopo das populações de *R. brethesi* nestas localidades?

Para responder esta pergunta, buscou-se o contato com o pesquisador responsável pelo depósito dos espécimes de *R. brethesi* no Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Dr. Bento Marcarenhas, e com a chefe da Divisão de Entomologia do LACEN/SESPA, Dra. Paola Cristina Vieira Amorim. Ambos informaram que até o presente momento não há registro de ocorrência desta espécie no estado do Pará.

No intuito de verificar a distribuição desta espécie no estado do Maranhão, nos municípios de São Félix das Balsas, Sambaíba e Loreto, enviaram-se kits de reconhecimento de triatomíneos e da palmeira. Segundo as respostas obtidas nos questionários observa-se que a maioria da população de moradores dos municípios de São Félix das Balsas e Sambaíba não conhecem a espécie *R. brethesi* e a palmeira *L. piassaba*. As respostas para algumas das questões abordadas apresentam contradição, por exemplo: algumas pessoas responderam na questão cinco que já haviam visto a palmeira da piaçaba, mas na questão onze informaram que não conhecem a *L. piassaba* apresentada na figura presente no kit. Outras pessoas contraditoriamente informaram que não conhecem as três espécies de barbeiros apresentados na figura (também presente no kit), mas responderam positivamente quando questionadas se haviam visto o *R. brethesi* em outras palmeiras.

As respostas obtidas a partir da aplicação dos questionários apresentaram lacunas de conhecimento que suscitam fortes evidências que as respostas obtidas com a aplicação do questionário estejam equivocadas e que a população entrevistada possa ter confundido espécimes de *R. brethesi* com outras espécies de triatomíneos do gênero *Rhodnius* presentes na região, tais como: *R. nasutus*, *R. neglectus*, *R. pictipes* e *R. robustus* (Rebêlo *et al.* 1998; Rebêlo 2000). Outra situação que explicaria estas repostas duvidosas seria a forma como os entrevistadores aplicaram os questionários nas comunidades e como foi realizada a abordagem das pessoas para realizar o questionário. Uma vez que estes kits foram enviados para o LACEN-MA e gentilmente distribuídos nos municípios pelo entomologista responsável.

A necessidade de identificar as lacunas existentes no saber coletivo, no intuito de que as ações de controle dos vetores dos insetos transmissores do agente causadores de Chagas não sejam seriamente comprometidas foram abordadas por Abad-Franch *et al.* (2010). Entretanto a falta de pessoal treinado e de recursos financeiros disponíveis que promovessem condições a infraestrutura teria inviabilizado o processo de obtenção de tais informações.

Informações acerca da distribuição geográfica e especificidade por determinado ecótopo de insetos do gênero *Rhodnius* vêm sendo utilizadas no intuito de dirimirem suspeitas de ocorrência desta espécie em áreas onde não há presença de ecótopo específico. Contatos com os setores de endemias são de suma importância para traçar o perfil de dispersão de espécimes de *R. brethesi* que, segundo Rebêlo, autor do manual para técnicos e profissionais da área da saúde, as informações sobre *R. brethesi* foram retiradas dos arquivos antigos da FUNASA do Maranhão.

A partir destas informações pode-se concluir que a presença da espécie *R. brethesi* e da palmeira *L. piassaba*, no Brasil, ocorre apenas na Microrregião do Rio Negro, estado do Amazonas. Esta especificidade em relação ao ecótopo demonstra a baixa valência ecológica desta espécie de triatomíneo, e torna os piaçabais áreas de risco para transmissão do *T. cruzi*.

No estado do Amazonas onde ocorreram as capturas dos triatomíneos houve uma diferença significativa no número de insetos coletados entre os municípios de Barcelos – margem esquerda - onde a região do piaçabal é de difícil acesso, estando este em área predominantemente silvestre e as regiões dos piaçabais de São Gabriel da Cachoeira – margem direita - onde a área se apresenta mais aberta e próxima às margens dos rios Curicuriari e rio Iá.

Abad-Franch *et al.* (2005) desenvolveram uma proposta de trabalho de campo que relaciona a relação entre variáveis ecológicas e botânicas, e a presença de colônia de *Rhodnius* nas palmeiras. Demonstraram que as palmeiras infestadas por *R. ecuadoriensis* são geralmente adultas com mais de 3 metros de comprimento. Muitas delas são classificadas como “sujas”, ou seja, possuem folhas antigas ou plantas epífitas ligadas ao tronco. Isto aumentaria até três vezes a probabilidade da palmeira está infestada. Este trabalho sugere também que a atividade humana pode alterar a dinâmica da população silvestre de *R. ecuadoriensis* habitando a palmeira da espécie *Phytelephas aequatorialis*. Apresentaram também que a infestação é mais comum em paisagens antrópicas.

No presente trabalho, constatou-se que a distribuição, abundância de *L. piassaba*, bem como sua arquitetura e altura formam um conjunto de características próprias de cada região com piaçabal. O fato de todas as palmeiras de piaçabas positivas possuírem mais de três metros de comprimento, com exceção de uma palmeira com 2,80 metros, e a própria característica da palmeira, como as longas fibras que cobrem todo o tronco onde formam um micro ambiente específico, sejam fatores importantes que influenciam a grande quantidade de insetos na localidade do município de Barcelos.

Estas observações podem contribuir para definir estratégias de controle de vigilância em áreas onde populações de triatomíneos silvestres, que são potencialmente envolvidas na

transmissão do *T.cruzi* para humanos (Abad-Franch *et al.* 2005), uma que os nossos dados reforçam a papel da palmeira como ecótopo de risco das espécies vetoras.

A partir das nossas investigações, ficou comprovada a distribuição restrita, porém nas duas margens do Rio Negro, da espécie *R. brethesi*, ou seja, em afluentes não apenas da margem esquerda do rio Negro, como desmostrado por alguns autores, mais também na margem direita desse mesmo rio, no Município de São Gabriel da Cachoeira, nos afluentes rios Marié e Curicuriarí, AM (Matta, 1919; Mascarenhas, 1987; Coura *et al.* 1994).

Os nossos estudos foram inovadores ao mostrarem uma relação entre o fenótipo antenal e comportamento ecótopo específico, e a utilização desse padrão e da morfometria das asas para separar populações distintas de *R. brethesi*.

O interesse central deste trabalho em analisar o fenótipo antenal de *R. brethesi* se baseou na sua presença exclusiva na palmeira *L. piassaba*, onde espera se que a antena mostre alguma modificação no número, localização e/ou tipo de *sensilla* quimiorreceptores que indicam uma maior capacidade da espécie para selecionar o ecótopo específico. Diversos trabalhos anteriores demonstraram que o fenótipo antenal reflete a pressão seletiva do ambiente sobre o indivíduo, tanto nos insetos em geral (Chapman 1982) como nos triatomíneos (Catalá 1997; Catalá *et al.* 2004; Gracco & Catalá 2000; Carbajal de La Fuente *et al.* 2002; Dujardin *et al.* 2009; Moreno *et al.* 2005; Hernández *et al.* 2008, 2011, 2013; Abrahan *et al.* 2008; Villacis *et al.* 2010).

Duas características observadas pela análise quantitativa das *sensilla* permitiram pensar que o *R. brethesi* possui uma excelente capacidade olfativa, que permitirá selecionar sua palmeira-habitat dentro do ambiente silvestre. Ambas as características se relacionam com as *sensilla* tricoidea de parede fina (TPF), que são receptores sensoriais multiporosos com especialização para detectar odores que definem habitat e hospedeiro (Guerenstein & Lazzari 2009).

Observamos que os *R. brethesi* possuem maior ou igual densidade do receptor TPF quando comparado com o TPG, sobre o primeiro segmento flagelar (F1). Esta característica do fenótipo antenal é diferente do que foi encontrado em outras espécies da tribo Rhodniini (Catalá & Schofield 1994) e outras espécies de triatomíneos (Catalá 1997). Também, se comprovou um maior comprimento dos TPF presentes em F1, característica que superou a média dos outros *Rhodnius*, estudados neste trabalho, e dos *Triatoma sp.*, entretanto, não superou as espécies do gênero *Mepraia* endêmico do Chile (Moreno *et al.* 2005). Os insetos do último gênero se caracterizam pelo seu polimorfismo alar e vivem em habitats muito particulares como em áreas quase desérticas.

Moreno *et al.* (2005), demonstraram que o fenótipo antenal associado a outras

variações morfológicas é excelente modelo para analisar as adaptações a habitats específicos. Demonstraram que o polimorfismo de asas em *Mepraia* se corresponde com as singularidades do fenótipo antenal desta espécie no número e comprimento das *sensilla* tricoidea multiporosos (TPF), relacionado com a capacidade de voo e busca de parceiro. O aumento do tamanho das *sensilla* TPF significa um aumento da sua superfície porosa, permitindo a maior eficiência na percepção de moléculas de odor. A habilidade na percepção de odores pode ser adaptação para ecótopos muito extremos com baixa disponibilidade de hospedeiros e a procura de parceiros requer uma percepção olfativa refinada (Moreno *et al.* 2005).

A completa ausência de *sensilla* tricoidea (quimiorreceptores) sobre o pedicelo das espécies do gênero *Rhodnius* é uma característica compartilhada com espécies do gênero *Psammolestes*, mas não com os outras do gênero *Triatoma*, *Dipetalogaster* e *Panstrongylus* (Catalá & Schofield, 1994). Os dados obtidos com *R. brethesi* demonstraram que o segmento pedicelo apresenta bristles, *sensillum* do tipo mecanorreceptor, e ausência de quimiorreceptores, confirmando esa peculiaridade das espécies do gênero *Rhodnius*.

Comparando *R. brethesi* silvestres e de laboratório esperava se que o fenótipo antenal mostrasse alguma modificação em número de mecano e/ou quimiorreceptores que indiquem uma plasticidade fenotípica já evidenciada em outras espécies de triatomíneos (Dujardin *et al.* 2009). Na presente análise individual do fenótipo antenal, dos grupos do laboratório, não foi possível detectar o dimorfismo sexual nos indivíduos e nem a separação por sua variação cromática no pronoto. Entretanto, já para os espécimes silvestres, através do perfil do fenótipo antenal, se detectou um forte dimorfismo sexual e obteve-se com êxito a separação do grupo através da variação cromática.

Varias modificações do fenótipo antenal foram observadas nos espécimes de *R. brethesi* do laboratório o que permitiu diferencia-los dos insetos silvestres. As mudanças observadas estariam relacionadas à mudança de ambiente e fonte alimentar, que pode ser devido aos processos de endocruzamentos dos insetos no laboratório. Seu micro ambiente natural, copa das palmeiras, com certeza é diferente do ambiente controlado de um laboratório, mesmo mantendo estáveis a temperatura e umidade. Os triatomíneos deixam de andar sobre as fibras da piaçaba e passam a viver em grandes copos de vidro, com papel de filtro para absorver urina e fezes. E com uma mudança brusca no tipo de alimentação, deixam de se alimentar de sangue de animais silvestres e a sua única fonte de alimento passa a ser sangue de galinhas. Talvez isso explique a grande dificuldade em iniciar a criação desta espécie em laboratório.

Com a utilização do teste ANOVA com dupla classificação para análises das variáveis ecótopo e sexo pôde-se obter a informação que alguns marcadores sensoriais separam os

grupos. O número do mecanorreceptor BR presente em F1 separou os espécimes de ecótopos distintos. Corroborando com os resultados encontrados por Freitas *et al.* (2012) através da variação cromática do pronoto, obtivemos o *sensillum* BR sobre F2 (F2-BR) com valor estatístico significativo separando estes morfotipos. Os espécimes com mancha, seja forte ou fraca, apresentaram maior quantidade deste receptor que os indivíduos sem mancha.

O número dos quimiorreceptores TPF, TPG e BA foi estatisticamente diferente nos dois segmentos flagelares (F1 e F2). O *sensillum* TPF obteve valores estatísticos extremamente significativos para o local e sexo. Este tipo de receptor F2-TPF aparece em maior quantidade nos machos silvestres, sendo um dos determinantes para o dimorfismo sexual juntamente com F2-TPG que é mais abundante nas fêmeas silvestres.

O número de *sensilla* F1-TPF separa machos e fêmeas silvestres de machos e fêmeas do laboratório. O F1-TPG pode ser considerado mais um marcador sensorial, pois está presente em maior quantidade em machos silvestre. Esta característica, já observada em outras espécies de triatomíneos (Catalá 1997; Esteban *et al.* 2005), sugere que a fêmea é responsável por exalar o feromônio, sendo o macho responsável pela procura do parceiro sexual. O número de *sensilla* BA sobre F1 apresenta valor estatístico significativo para distinção de ecótopo e está em maior abundância nas fêmeas silvestres. Estes resultados evidenciam que os espécimes silvestres possuem maior quantidade de quimiorreceptores de percepção olfativa, feromônio e umidade, que está relacionado com a alta eficiência na percepção de feromônios ou outras moléculas relevantes para os insetos.

No trabalho de Moreno *et al.* 2005, os autores apresentaram uma associação entre TPF e sexo, pois as fêmeas de *Mepraia sp.* possuem este receptor em menor quantidade e comprimento, enfatizando a hipótese que este *sensillum* esteja envolvido na percepção de moléculas relacionadas com comportamento sexual. Nos espécimes de *R. brethesi* esta característica não está relacionada somente ao comportamento sexual, pois ambos os quimiorreceptores possuem o mesmo tamanho em machos e fêmeas independente do ecótopo. Entretanto, os machos possuem em maior quantidade, que indicaria que estão ligados ao reconhecimento de micro ambiente em ambos os sexos e a busca por parceiro sexual nos machos.

Através das *sensilla* percebe-se a diferença morfológica entre os indivíduos de ecótopos diferentes. Desta forma, o fenótipo antenal pode ser utilizado para verificar variação intraespecífica em triatomíneos. Assim as razões para explorar estas variações dentro da espécie são epidemiológicas e taxonômicas conforme informado em Catalá *et al.* (2001) porque o fenótipo antenal está diretamente relacionado ao comportamento do inseto.

Mesmo sendo possível a separação, por sexo e ecótopo, dos espécimes de *R. brethesi* pela análise do fenótipo antenal, buscou-se complementar este estudo realizando técnica de morfometria geométrica, nas estruturas alares, para verificar a ocorrência de modificações devido ao estresse provocado pela mudança de ambiente. Alguns autores Leary & Allendorf (1989) observaram que alguns organismos podem ser indicadores de estresse causados por modificação de habitat, sendo importantes para evitar impactos irreversíveis ao ambiente. Estas observações foram apresentadas por Souto (2011) na análise de duas espécies de dípteros *Euxesta* coletados em ambientes distintos, onde uma das espécies apresentou maior susceptibilidade em variações plásticas no tamanho e na simetria corpórea devido ao estresse ambiental.

Diferenças morfométricas também foram observadas em triatomíneos de diferentes habitats para tentar explicar a origem das alterações morfológicas (Batista *et al.* 2012). Estas diferenças podem estar ligadas à adaptação para um determinado ecótopo (Dujardin *et al.* 1997a), mas pode ter uma base genética (Schachter-Broide *et al.* 2009). As técnicas morfométricas têm sido amplamente utilizadas em diferentes estruturas morfológicas de várias espécies de triatomíneos (Dujardin *et al.* 1997a, 1997b; Borges *et al.* 2005; Hernandez *et al.* 2011; Batista *et al.* 2012).

Dujardin *et al.* (1999b), a partir da técnica de morfometria geométrica, observaram mudanças de conformação e tamanho em cabeças de espécimes adultos de *R. domesticus* e *T. infestans* na transição do habitat natural para o artificial, detectando a redução de dimorfismo sexual das populações de laboratório quando comparadas com as provenientes do ambiente silvestre. Também através da morfometria geométrica das asas, Gurgel-Gonçalves *et al.* (2006) apresentaram a diferenciação entre a origem geográfica de espécies de *Rhodnius*, identificando principalmente aquelas que se encontram invadindo as casas no ecossistema de cerrado. Desta forma o emprego desta técnica vem possibilitando a elucidação de dúvidas quanto ao *status* taxonômicos em Triatominae (Villegas *et al.* 2002; Carbajal de la Fuente *et al.* 2011) e também avaliando a tendência de separação das populações dentro de suas zonas de distribuição geográfica como Dias *et al.* (2011), que demonstraram a influência de espécies de palmeiras, como micro clima e a presença de animais como fonte alimentar, sobre o tamanho de cabeças de *R. nasutus*.

No presente estudo, a análise do tamanho das asas confirmou a existência do dimorfismo sexual em ambos os ecótopos, onde tanto as fêmeas, provenientes do laboratório e silvestres, apresentavam maior tamanho das estruturas alares que os machos. Segundo Dujardin *et al.* (1999a,b), isto é uma característica de população silvestre, e a perda desta característica é um início de processo sinantrópico. Jaramillo *et al.* (2000) encontrou uma

redução significativa no dimorfismo sexual de cabeças e asas de *R. pallescens*, demonstrando que este fenômeno ocorre em colônias com mais de dez gerações no laboratório. Contudo, os triatomíneos criados no laboratório estão mais de dez anos neste ambiente artificial, pertencem a vigésima primeira geração do grupo inicial coletado na Microrregião do Rio Negro, a mesma região dos espécimes silvestres utilizados neste estudo. Então, podemos dizer que a população de *R. brethesi* presente na colônia do nosso laboratório não está em processo sinantrópico, pois conservam características silvestres.

Esta particularidade está na ausência de alterações no tamanho das asas entre machos do laboratório e silvestres, o mesmo ocorre com as fêmeas. Uma explicação para este fato é porque as antenas são consideradas estruturas vitais para os triatomíneos criados em ambientes artificiais, ao contrário das asas. Isto também foi observado por Jaramillo *et al.* (2002) quando analisaram, cabeças e asas, espécimes silvestre e de laboratório de *P. geniculatus*. Verificou-se que cabeças, consideradas estruturas vitais para os triatomíneos em laboratório, sofreram modificações entre as gerações, silvestre e laboratório, o que não ocorreu nas asas.

Segundo Dujardin *et al* (2009), ambientes extremos podem desestabilizar a expressão do fenótipo em triatomíneos levando-os a expressar essa variação na morfologia. Com isto, se ressaltam os cuidados necessários ao se utilizar para estudos de morfológicos uma espécie de triatomíneo criada em ambientes artificiais. As técnicas utilizadas para verificar os padrões morfológicos, fenótipo antenal e morfometria geométrica das asas, são recursos importantes para observações de populações de triatomíneos de ambiente artificial e natural.

## 7. Conclusão

- O estado do Pará não está incluído em áreas de distribuição do triatomíneo *Rhodnius brethesi* e da palmeira *Leopoldinia piassaba*.
- Em relação aos três municípios do estado do Maranhão, apesar de algumas respostas ao questionário levantarem o reconhecimento da espécie *R. brethesi* no estado, há presença de contradição nas respostas, a ausência de *L. piassaba* e o não recebimento de espécimes desta espécie aos atuais Serviços de Entomologia, nos sugere que este estado não está incluído em área de distribuição deste triatomíneo e da palmeira.
- Confirmamos que a distribuição da palmeira *Leopoldinia piassaba*, no Brasil, está restrita a Microrregião do Rio Negro, AM, e a espécie vetora *R. brethesi* só foi encontrada colonizando essas palmeiras, demonstrando baixa valência ecológica, sendo por isso considerado um vetor ecótopo específico.
- A partir da análise das *sensilla* pode se observar que não há características que diferem machos e fêmeas do laboratório.
- Através do fenótipo antenal pode se observar que existem marcadores sensoriais que diferem machos e fêmeas silvestres. Os machos apresentam mais receptores olfativos sugerindo maior capacidade de dispersão corroborando com a literatura.
- Em relação ao tamanho centróide das asas, os espécimes de *R. bethesi* do laboratório possuem características idênticas dos triatomíneos silvestres, o que significa que as asas apresentam tamanhos semelhantes.
- A partir da análise de conformação das asas foi possível separá-los de acordo com o sexo e o ecótopo, mas não pela variação cromática no pronoto. Isso sugere que existe algum fator genético que influencia na conformação das asas dos espécimes de laboratório.

- As técnicas aplicadas para definir o padrão das populações de *R. brethesi* tanto através do fenótipo antenal, quanto da morfometria geométrica foram eficientes na separação de populações silvestres e de laboratório. No entanto, a técnica que analisa o fenótipo antenal foi mais robusta para diferenciar populações de *Rhodnius brethesi*.

- A maior densidade e comprimento do quimiorreceptor TPF nos espécimes de *R. brethesi* comparado com outras espécies generalistas do gênero *Rhodnius* sugere uma especificidade de ecótopo.

## 8. Referências Bibliográficas

Abad-Franch F, Palomeque FS, Aguilar M, Miles MA 2004. The ecology of palm tree-living *Rhodnius* populations: A methodological proposal for the characterisation of “risk ecotopes”. *Proceedings of the International workshop on Chagas disease surveillance in the Amazon region (ECLAT-AMCHA)*. Bogotá - Universidad de los Andes: 64-74.

Abad-Franch F, Palomeque FS, Aguilar HMV, Miles MA 2005. Field ecology of sylvatic *Rhodnius* populations (Heteroptera, Triatominae): risk factors for palm trees infestations in western Ecuador. *Trop Med Int Health* 10 (12): 1258-1266.

Abad-Franch F, Monteiro, FA 2007. Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae) implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 57-69.

Abad-Franch F, Monteiro FA, Jaramillo N, Gurgel-Gonçalves R, Dias FBS, Diotaiuti L 2009. Ecology, evolution and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: a multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). *Acta Trop* 110: 159-177.

Abad-Franch F, Ferraz G, Campos C, Palomeque FS, Grijalva MJ, Aguilar HM, Miles MA 2010. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect: infestation of Amazonian palm trees by triatomine bugs at three spatial scales. *Plos Negl Trop Dis* 4(3): e620.

Abraham, L, Hernandez L, Gorla D, Catalá S 2008. Phenotypic diversity of *Triatoma infestans* at the microgeographic level in the Gran Chaco of Argentina and the Andean valleys of Bolivia. *J Med Entomol* 45: 660-666.

Aguilar HM, Abad-Franch F, Dias JCP, Junqueira ACV, Coura JR 2007. Chagas disease in the Amazon region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (Suppl.1): 47-55.

Aldana E; Heredia-Coronado E; Avendaño-Rangel F; Lizano E; Concepción JL; Bonfante-Cabarcas R; Rodríguez-Bonfante C; Pulido MM 2011. Análise morfológico de *Panstrongylus geniculatus* de Caracas, Venezuela. *Biomédica* (31): 108-117.

Almeida FB 1971. Encontro de três espécies naturalmente infectadas por *Trypanosoma* semelhante ao *cruzi*, no estado do Amazonas (Hemiptera, Reduviidae). *Act Amazon* 1 (1): 89-93.

Andrade ZP, Gonçalves TCM, Carvalho-Moreira CJ, Junqueira ACV, Spata CM, Santos-Mallet JR 2002. Morphological and morphometric analysis of antennal *sensilla* of *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) by scanning electron microscopy. *Simpósio de Metodologias Integradas nos Estudos da Biologia/Evento de Microscopia e Microanálise do Mercosul*, Curitiba, PR.

Angulo VM, Esteban L, Luna KP 2012. *Attalea butyracea* próximas a las viviendas como posible fuente de infestación domiciliar por *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) em los Llanos Orientales de Colômbia. *Biomédica* 32: 277-285.

Araújo MGP, Queiroz MSM 2007. Morfologia da inflorescência de *Leopoldinia pulchra* Mart. (Arecaceae – Arecoideae). *Rev Bras Bio* 5 (Supl.1): 891-893.

Avila-Pires FD 1976. Ecology of small mammals in relation to sylvan and domestic transmission cycles. *International Symposium on New Approaches in American Trypanosomiasis. Research Pan American Health Organization. Belo Horizonte, Brazil, 18-21 March, Scientific Publication n. 318.*

Barreto MP 1967. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVII. Contribuição para o estudo dos focos naturais da tripanossomose americana, com especial referência à Região Nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1: 23-35.

Barreto MP 1975. Possible role of wild mammals and triatomines in the transmission of *Trypanosoma cruzi* to man. *International Symposium on New Approaches in American Trypanosomiasis Research Pan American Health Organization. Belo Horizonte, Brazil, Scientific Publication, n. 318.*

Barreto MP, Albuquerque DRR, Funayama GK 1969. Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVI: Investigação sobre triatomíneos de palmeiras no município de Uberaba, MG, Brasil. *Rev Bras Biol* 29: 577-88.

- Barrett TV 1991. Advances in triatomine bug ecology in relation to Chagas disease. *Adv Dis Vect Res* 8: 143-176.
- Batista TA, Gurgel-Gonçalves 2009. Ecological niche modelling and differentiation between *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 and *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (8): 1165-1170.
- Batista VSP, Fernandes FA, Cordeiro-Estrela P, Sarquis O, Lima MM 2012. Ecotope effect in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) suggests phenotypic plasticity rather than adaptation. *Med Vet Entomol* (3): 1-8.
- Bookstein FL 1991. Morphometrics tools for landmark data: geometry and biology. *Cambridge: Cambridge University Press: New York*, 435pp.
- Borges EC, Dujardin JP, Schofield CJ, Romaña AJ & Diotatiuti L 2005. Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará state, northeastern Brazil. *Act Trop* 93: 119-126.
- Brener Z, Andrade A, Barral-Neto M 2000. *Trypanosoma cruzi e a doença de Chagas*. 2° Ed. Guanabara Koogan, São Paulo, cap. 3.
- Carbajal de la Fuente AL, Catalá S 2002. Relationship between antennal *sensilla* pattern and habitat in six species of Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1121-1125.
- Carbajal de La Fuente AL, Jaramillo N, Barata JMS, Noireau F, Diotaiuti L 2011. Misidentification of two brazilian triatomes, *Triatoma arthurneivai* and *Triatoma wygodzinskyi*, revealed by geometric morphometrics. *Med Vet Entomol* 25: 178-183.
- Carcavallo RU, Jurberg J, Lent H, Noireau F, Galvão C 2000. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. *Entomol Vect* 7 (Suppl. 1): 1-86.
- Catalá S, Schofield CJ 1994. Antennal *sensilla* of *Rhodnius*. *J Morphol* 219: 193-203.

Catalá S 1997. Antennal *sensilla* of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae): a comparative of five genera. *Int J Insect Morphol Embryol* 26 (2): 67-73.

Catalá S, Tomasi V, Hliba E, Rovasio R 1998. The cave organ in Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) Antennae: An Olfactory Receptor? *Biocell* 22 (1): 1-7.

Catalá S, Dujardin JP 2001. Antennal sensilla patterns indicate geographic and ecotopic variability among *Triatoma infestans* populations (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol* 38: 423-428.

Catalá S, Maida DM, Caro-Riaño, Jaramillo N, Moreno J 2004. Changes associated with laboratory rearing in the antennal *sensilla* patterns of *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*, and *Rhodnius pallescens* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99 (1): 25-30.

Chagas CRJ 1909. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1 (2): 159-218.

Coura JR, Barrett TV, Naranjo MA 1994. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão chagásica? *Rer Soc Bras Med Trop* 27: 251-253.

Coura JR, Junqueira ACV, Bóia MN, Fernandes O 1999. Chagas disease: from bush to huts and house. Is it the case of the Brazilian Amazon? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl. I): 379-384.

Coura JR, Junqueira ACV, Fernando O, Valente SAS, Miles MA 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol* 18 (4): 171-176.

Coura JR, Albajar-Viñas 2010. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature* 465: S6-S7.

Dias JCP, Vinhaes MC, Silveira AC, Schofield CJ, Cardoso B, Coura JR 2001. Pesquisas prioritárias sobre doença de Chagas na Amazônia: agenda de curto-médio prazo. *Rev Soc Bras Med Trop* 34 (5): 497-498.

Dias JCP, Prata A, Schofield CJ 2002. Chagas disease in the Amazon: an overview of the current situation and perspective for prevention. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 669-678.

Dias FBS, Paula AS, Belisário CJ, Lorenzo MG, Bezerra CM, Harry M, Diotaiuti L 2011. Influence of the palm tree species on the variability of *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Infec Genet and Evol* 11: 869-877.

Dujardin JP, Bermudez H, Casini C, Schofield CJ, Tibayrenc M 1997a. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* Heteroptera: Reduviidae in Bolivia. *J Med Entomol* 34: 544-551.

Dujardin JP, Bermudez H, Schofield CJ 1997b. The use of morphometrics in entomological surveillance of silvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Trop* 66: 145-153.

Dujardin JP 1998. Population genetics and the natural history of domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 34-36.

Dujardin JP, Panzera F, Schofield CJ 1999a. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl.1): 223-228.

Dujardin JP, Steindel M, Chavez T, Machane M, Schofield CJ. 1999b. Change in the sexual dimorphism Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (4): 565-569.

Dujardin JP, Catalá S 2001. Antennal sensilla patterns indicate geographic and ecotopic variability among *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations. *J Med Entomol* 38 (3): 423-428.

Dujardin JP, Le Pont F, Baylac M 2003. Geographic versus interspecific differentiation of sand flies: a landmark data analysis. *Bull Entomol Res* 93:87-90.

Dujardin JP, Costa J, Bustamante D, Jaramillo N, Catalá S 2009. Deciphering morphology in Triatominae: The evolutionary signals. *Acta Trop* 110:101-111.

Dujardin JP, Kaba D, Henry AB 2010. The exchangeability of shape. *BMC Research Notes*, 3: 266. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1756-0500-3-266.pdf>

Esteban L, Angulo VM, Feliciangeli MD, Catalá S 2005. Analysis of antennal *sensilla* patterns of *Rhodnius prolixus* from Colômbia and Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100(8): 909-914.

Falconer DS 1981. *Introduction to quantitative genetics*. Longman, London and New York, 300pp.

Feliciangeli MD, Sanchez-Martin M, Marrero R, Davies C, Dujardin JP 2007. Morphometric evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the State of Barinas (Venezuela). *Acta Trop* 101: 169-177.

Freitas SPC, Bonifácio SF, Junqueira ACV, Souza AL, Gonçalves TCM 2012. Testicular and color variation in the kissing bug, *Rhodnius brethesi* in Amazonas, Brazil. *J Insect* 12: 01-11.

Forattini O 1971. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana II. Distribuição e dispersão local de triatomíneos em ecótopos naturais e artificiais. *Rev Saúde Púb* 5: 163-199.

Galvão C, Carcavallo RU, Rocha DS, Jurberg J 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemíptera, Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa* 202: 1-36.

Gaspe MS, Schachter-Broide J, Gurevitz JM, Kitron U, Gürtler RE, Dujardin JP 2012. Microgeographic spatial structuring of *Triatoma infestans* (Hemíptera: Reduviidae) populations using wing geometric morphometry in the Argentine Chaco. *J Med Entomol*, 49 (3): 504-514.

Gonçalves TCM, Teves-Neves SC, Santos-Mallet JR, Carbajal de la Fuente AL, Lopes CM 2013. *Triatoma jatai* sp. Nov. in the state of Tocantis, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 108 (4): 429-437.

Gracco M, Catalá S 2000. Inter-specific and developmental differences on the array of antennal chemoreceptors in four species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 67-74.

Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D 2007. Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) em Colômbia. *Biomédica* 27 (Supl.1): 143-162.

Gullan PJ, Cranston OS 2012. Os insetos: Um resumo de Entomologia, Roca, 4° ed., São Paulo.

Gurgel-Gonçalves R, Duarte MA, Ramalho ED, Palma ART, Romaña CA, Cuba Cuba CA 2004. Distribuição espacial de populações de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 37, 241-247.

Gurgel-Gonçalves R, Santana DB, Starling J, Ferreira JBC, Cuba Cuba CA 2006. Qual a espécie de *Rhodnius* está invadindo as casas no Brasil Central? Uma abordagem da morfometria geométrica de asas. XXII Reunião de Pesquisa Aplicada em Doenças de Chagas e Leishmaniose, Uberaba.

Gurgel-Gonçalves R, Ferreira JBC, Rosa AF, Bar ME, Galvão C 2011. Geometric morphometrics and ecological niche modelling for delimitation of near-sibling triatomine species. *Med Vet Entomol* 25: 84-93.

Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Costa J, Peterson AT 2012. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *J Trop Med*: 1-15.

Henderson A 2011. A revision of *Leopoldinia* (Arecaceae). *Phytotaxa* 32: 1-17.

Henández L, Abraham L, Moreno M, Gorla D, Catalá S 2008. Phenotypic variability associated to genomic changes in the main vector of Chagas disease in the southern cone of South America. *Acta Trop* 106: 60-67.

Hernández ML, Abrahan LB, Dujardin JP, Gorla DE, Catalá S 2011. Phenotypic variability and population structure of peridomestic *Triatoma infestans* in rural areas of the arid Chaco (western Argentina): spatial influence of macro- and microhabitats. *Vect Born Zoonot Dis* 11 (5): 503-513.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>.

Jaramillo NO, Schofield CJ, Gorla D 2000. The role of *Rhodnius pallescens* as a vector of Chagas disease in Colombia and Panamá. *Res Rev Parasitol* 60: 75-82.

Jaramillo N, Castillo D, Wolff M 2002. Geometric morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97 (5): 667-673.

Junqueira ACV 2005. *Trypanosoma cruzi*, Chagas 1909 em Áreas do Médio e Alto Rio Negro, Amazonas, Brasil. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas/Departamento de Parasitologia: 144pp.

Junqueira ACV, Gonçalves TCM, Moreira CJC 2011. *Manual de Capacitação na detecção de Trypanosoma cruzi para microscopistas de malária e laboratoristas da rede pública*. 2º ed. Rio de Janeiro: SCV/ICICT.

Lazzari CR, Lorenzo MG 2009. Exploiting triatomine behaviour: alternative perspectives for their control. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl I): 65-70.

Leary RF, Allendorf FW 1989. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. *Trends Ecol Evol* 4: 214-217.

Lent H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat Hist* 163: 123-520.

Lopes CM, Noireau F, Santos-Mallet JR 2008. Morfometria geométrica aplicada ao estudo das populações brasileiras de *Triatoma sordida* (Stal, 1859) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). III Fórum de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Lorenzi H, Kahn F, Noblick LR, Ferreira E 2010. Flora Brasileira: Arecaceae (palmeiras). Instituto Plantarum. Nova Odessa, SP.

Luitgards-Moura JF, Borges-Pereira J, Costa J, Zauza PL, Rosa-Freitas MG 2005. On the possibility of autochthonous Chagas disease in Roraima, Amazon Region, Brazil, 2000-2001. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 47 (1): 45-54.

Mascarenhas BM 1987. Descrição dos estádios imaturos de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae). *Bol Mus Paran Emílio Goeldi, ser Zool* 3: 183-194.

Mascarenhas BM 1990. Triatomíneos da Amazônia: sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Bol Mus Paran Emílio Goeldi, ser Zool* 6: 191-202.

Mascarenhas BM 1991. Triatomíneos da Amazônia: sobre o habitat e algumas considerações comportamentais de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) na região do médio Rio Negro, Amazonas. *Bol Mus Paran Emílio Goeldi, ser Zool* 7: 107-116.

Massaro DC, Rezende DS, Camargo LMA 2008. Study of the triatomine fauna and occurrence of Chagas disease in Monte Negro, Rondônia, Brazil. *Rev Bras Epidemiol* 11 (2): 228-40.

Matias A, de la Riva JX, Torrez M, Dujardin JP 2001. *Rhodnius robustus* in Bolívia identified by its wings. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 947-950.

Matta A 1919. Um novo reduvídeo do Amazonas, *Rhodnius brethesi* n. sp. *Amazonas Med* 2: 93-94.

Meira M 1993. O tempo dos padrões: extrativismo da piaçaba entre os índios do rio Xié (Alto rio Negro). Dissertação de mestrado. Campinas: Unicamp, 128pp.

Ministério da Saúde, 2007. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Nota técnica: doença de Chagas aguda por transmissão oral. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota\\_chagas2308.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_chagas2308.pdf).

Moreno ML, Gorla D, Catalá S 2005. Association between antennal phenotype, wing polymorphism and sex in the genus *Mepraia* (Reduviidae: Triatominae). *Infect Genet Evol* 6: 228-234.

Nogueira OL, Figueirêdo FJC, Müller AA 2005. Açaí. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, Sistemas de Produção (4): 137 pp.

Nóbrega AA, Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J, Araújo WN 2009. Oral transmission of Chagas disease by consumption of açaí palm fruit, Brazil. *Emerg Infect Disease* 15 (4): 653-655.

Noireau F, Abad-Franch F, Valente SAS, Dias-Lima A, Lopes CM, Valente VC, Palomeque FS, Carvalho-Pinto CJ, Sherlock J, Aguilar M, Steindel M, Crisand E 2002. Trapping triatominae in silvatic habitats. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97 (1): 61-63.

Noireau F, Diosque P, Jansen AM 2009. *Trypanosoma cruzi* adaptation to its vectors and its hosts. *Vet Res* 40: 1-23.

Oliete-Josa I 2008. Piaçabeiros e piaçaba no médio rio Negro (Amazonas Brasil), socioeconomia da atividade extrativista e ecologia da *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853). Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / INPA, 107pp.

Rebêlo JMM, Barros VLL, Mendes WA 1998. Espécies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) do Estado do Maranhão, Brasil. *Cad Saúde Publ* 14 (1): 187-192.

Rebêlo JMM 2000. Triatomíneos vetores da doença de Chagas. Manual para técnicos e profissionais da área da saúde. São Luís: GQV-FUNASA (1): 84p.

Ricardo-Silva AH, Lopes CM, Ramos LB, Marques WA, Mello CB, Duarte R, Carbajal de la Fuente AL, Toma HK, Reboredo-Oliveira L, Kikuchi SA, Baptista TF, Santos- Mallet JR, Junqueira ACV, Gonçalves TCM 2012. Correlation between populations of *Rhodnius* and presence of palm trees as risk factors for the emergence of Chagas disease in Amazon region, Brazil. *Acta Trop* 123: 217-223.

Rodriguez AA 2007. Descripción morfométrica del aparato bucal de cinco especies de roedores muridos del Municipio de Santiago Comaltepec. Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México, 61pp.

Rohlf FJ 1990. Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 299-316.

Rohlf FJ, Marcus LF 1993. A revolution morphometrics. *Trends Ecol Evol* 8 (4): 129-132.

Romaña CA, Pizarro JC, Rodas E, Guilbert E 1999. Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas disease. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 93: 594-595.

Santos-Mallet JR, Junqueira ACV, Moreira CJC, Andrade Z, Coura JR, Goncalves TCM 2005. Morphobiological aspects of *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) from the Upper and Middle Negro River, Amazon region of Brazil. I - Scannig electron microscopy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100 (8): 915-923.

Schachter-Broide J, Dujardin JP, Kitron U & Gurtler R 2004. Spatial structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) populations from northwestern Argentina using wing geometric morphometry. *J Med Entomol* 41: 643-649.

Schachter-Broide J, Gürtler RE, Kitron U & Dujardin JP 2009. Temporal variations of wing size and shape of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations from northwestern Argentina using geometric morphometry. *J Med Entomol* 46: 994-1000.

Schofield CJ, Diotaiuti L, Dujardin J 1999. The process of domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl.1): 375-378.

Schofield CJ, Galvão C 2009. Classification, evolution and species groups within the Triatominae. *Acta Trop* 110: 88-100.

Soto-Vivas A 2013. Distribución Geográfica de Triatominos en Venezuela: Importância Epidemiológicas. Disponível em: <http://www.bvs.org.ve/php/index.php>.

Souto KCFL 2011. Influência Ambiental na Morfometria de Insetos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, 55pp.

Souza-Lima RC, Barbosa MGV, Coura JR, Arcanjo ARL, Nascimento AS, Ferreira JM BB, Magalhães LK, Albuquerque BC, Araújo GAN, Guerra JAO 2011. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Tropical*, Short Communication.

Szumlewicz AP 1976. Laboratory colonies of Triatominae, biology and population dynamics. In American Tripanosomiasis Research. *PAHO Scientific Publication* 318: 63-82.

Teixeira ARL, Monteiro PS, Rebelo JM, Argañaraz ER, Vieira D, Lauria-Pires L, Nascimento R, Vexenat CA, Silva AR, Ault SK, Costa JM 2001. Emerging Chagas disease: trophic network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. *Emerg Infect Diseases* 7: 100-112.

Valente SA, Valente VC, Pinto AY 2006. Epidemiologia e transmissão oral da doença de Chagas na Amazônia brasileira. In: Informe de la consulta técnica em epidemiologia, prevencion y manejo de la transmission de la enfermedad de chagas como enfermedad transmitida por alimentos (ETA), p.21-6.

Villacís AG, Grijalva MJ, Catalá S 2010. Phenotypic variability of *Rhodnius ecuadoriensis* populations at the Ecuadorian Central and Southern Andean Region. *Journal Med Entomol*, 47 (6): 1034-1043.

Villegas J, Feliciangeli MD, Dujardin JP 2002. Wing shape divergence between *Rhodnius prolixus* from Cojedes (Venezuela) and *Rhodnius robustus* from Mérida (Venezuela). *Infect Genetic Evol* 2: 121-128.

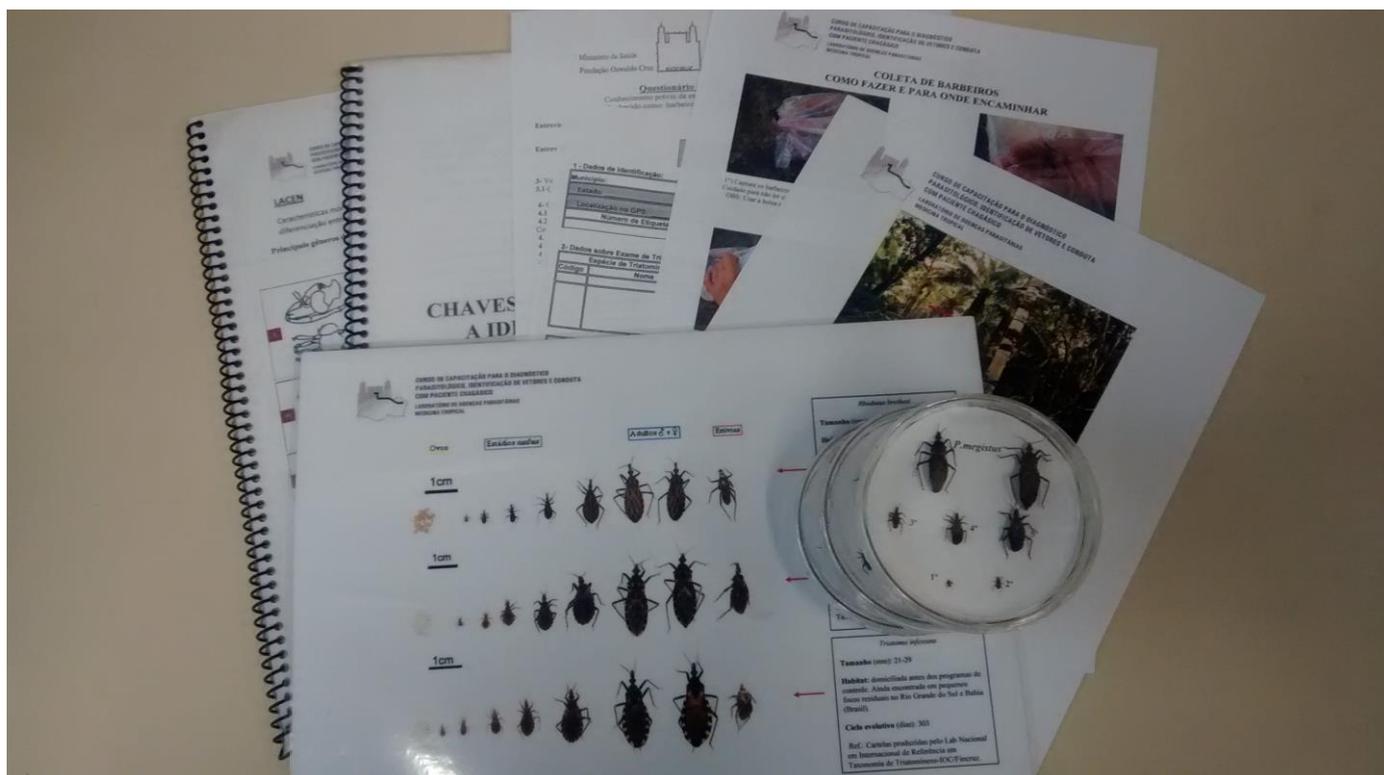
Villela MM, Catalá S, Juberg J, Silva IG, Dias JCP 2005. Patterns of antennal *sensilla* of *Panstrongylus megistus* from three Brazilian states. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 100 (7): 699-702.

Wallace AR 1853. Palm trees of the Amazon and their uses. *Van Hoorst, London*. 129pp.

WHO 2013. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Second WHO report on neglected tropical diseases. WHO/HTM/NTD/2013.1. Disponível em: [http://www.who.int/neglected\\_diseases/9789241564540/en](http://www.who.int/neglected_diseases/9789241564540/en).

## 9. Anexos

A1. Kit informativo utilizado para investigar o conhecimento, da população, sobre a presença do *R. brethesi* e da *L. piassaba* nas áreas de estudo, através da participação das equipes municipais de saúde.



A2. Investigação da distribuição do *Rhodnius brethesi* no Brasil: estado do Pará.



A Ilma Sra. Amanda Coutinho de Souza  
Laboratório de Doenças Parasitárias  
IOC-Fiocruz

Prezada Senhora,

Conforme solicitado informo que os espécimes de *Rhodnius brethesi* depositados na Coleção Entomológica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) foram todos coletados no Rio Araçá, Microrregião do Rio Negro, Estado do Amazonas, Brasil, e criados por mim. Esclareço também, que só ocorreram em um mesmo ecótopo, a palmeira *Leopoldinia piassava*; procurei os mesmos em outras palmeiras, contudo não obtive sucesso.

Quanto à existência de *Rhodnius brethesi* (Hemiptera; Reduviidae; Triatominae), no estado do Pará, desconheço se neste estado, até a presente data, tenha sido coletado algum exemplar da referida espécie.

Atenciosamente,

Belém, 21 de maio de 2012.

Prof. Dr. Bento Melo Mascarenhas  
Museu Paraense Emílio Goeldi  
Avenida Perimetral 1901- Bairro Terra Firme  
Caixa postal 399, Belém-Pará  
[bmelo@museu-goeldi.br](mailto:bmelo@museu-goeldi.br)

A3. Investigação da distribuição do *Rhodnius brethesi* no Brasil: estado do Pará.

**GOVERNO DO  
PARÁ**  
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA  
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE  
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA À SAÚDE  
LABORATÓRIO CENTRAL

Ofício nº 1145 /DLAENT/LACEN

Belém 30 de agosto de 2012

À Senhora  
Amanda Coutinho de Souza  
Laboratório de Doenças Parasitárias  
Fundação Osvaldo Cruz

Em resposta ao documento enviado pela Mestranda em Medicina Tropical, Amanda Coutinho de Souza, informamos que até a presente data não há registro de ocorrência da espécie *Rhodnius brethesi* no Estado do Pará.

Atenciosamente,

  
**PAOLA CRISTINA VIEIRA AMORIM**  
Chefe da Divisão de Entomologia/LACEN/SESPA

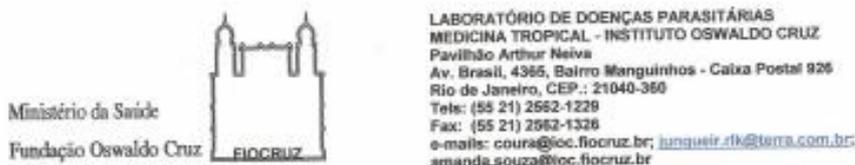
**LACEN**  
  
**SEBASTIÃO LICÍNIO LIRA DOS SANTOS**  
Diretor do LACEN - PA  
**LACEN - LABORATÓRIO CENTRAL  
DO ESTADO DO PARÁ**



SESPA/LACEN - Rodovia Augusto Montenegro, km 10, Distrito de Icoaraci, CEP: 66823010  
Belém-Pará-Brasil - Fone/fax (91) 3202-4900 / 3202-4903 - DIREÇÃO LACEN-PA e-mail:  
entomolacempa@gmail.com



A.5. Questionário aplicado, na população, dos municípios de Barcelos e São Gabriel da Cachoeira, no estado do Amazonas e nos municípios de Sambaíba e São Félix das Balsas, Estado do Maranhão.



### Questionário – Município de \_\_\_\_\_

Conhecimento prévio da espécie *Rhodnius brethesi*: vetor da doença de Chagas.  
(Conhecido como: barbeiro, bicudo, piolho da piassava, percevejo do sertão, etc.)

Entrevistador: 1- Nome completo: \_\_\_\_\_  
1.1- Telefone: ( ) \_\_\_\_\_  
1.2- E-mail: \_\_\_\_\_ 1.3- Local de trabalho: \_\_\_\_\_  
Entrevistado: 2- Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.  
2.1- Nome completo: \_\_\_\_\_ 2.2- Idade: \_\_\_\_\_  
2.3- Endereço/Forma de contato: \_\_\_\_\_

3- Você já ouviu falar ou viu o inseto que transmite o parasito que causa a doença de Chagas?  
3.1- ( ) Sim 3.2- ( ) Não 3.3- ( ) Não sabe/Não lembra

4- Onde ouviu falar ou viu?  
4.1- ( ) Livros e cartilhas (escola)  
4.2- ( ) Informações repassadas pelos profissionais de saúde (SUCAN, FUNASA, Agentes de Vigilância em Saúde (AVS), Agentes Comunitários em Saúde (ACS), etc.)  
4.3- ( ) Viu dentro de casa (parede, colchão, rede, etc.)  
4.4- ( ) Viu fora da casa (galinheiro, chiqueiro, curral, etc.)  
4.5- ( ) Viu na mata (oco de árvores, palmeiras, tocas de animais, pedras, ninhos de aves, etc.)  
4.6- ( ) Outro lugar, qual (is)? \_\_\_\_\_

5- Qual destas palmeiras, relacionadas abaixo, você já viu no lugar onde mora atualmente?

5.1- ( ) Macaubeira (*Acrocomya sclerocarpa*)  
5.2- ( ) Ouricuri (*Cocos coronata*)  
5.3- ( ) Babaçu (*Orbignya phalerata*)  
5.4- ( ) Buriti (*Mauritia vinifera*)  
5.5- ( ) Muçujá (*Acrocomya sclerocarpa*)  
5.6- ( ) Inajá (*Maximiliana regia*)  
5.7- ( ) Outra (s), qual (is)? \_\_\_\_\_

6- Você já viu barbeiro em alguma das palmeiras citadas acima? 6.1- ( ) Sim 6.2- ( ) Não 6.3- ( ) Não sabe/Não lembra

7- Em qual (is) palmeira (s) citada (s) acima você viu? \_\_\_\_\_

**SOMENTE APÓS RESPONDER AS PERGUNTAS ACIMA, MOSTRAR AS FIGURAS (1 E 2) E A PLACA PLÁSTICA CONTENDO EXEMPLARES MORTOS DE BARBEIROS DA ESPÉCIE *Rhodnius brethesi*.**

8- Das espécies de barbeiros mostradas na figura 1, você já viu alguma no lugar onde mora atualmente?  
8.1- ( ) Sim 8.2- ( ) Não 8.3- ( ) Não sabe/Não lembra

9- Caso sim, responda qual (is) espécie (s) de barbeiro a seguir você já viu:  
9.1- ( ) *Rhodnius brethesi* (Rb) 9.4- ( ) Rb e Tl 9.7- ( ) Rb, Tl e Pm  
9.2- ( ) *Triatoma bifestans* (Tl) 9.5- ( ) Rb e Pm  
9.3- ( ) *Panstrongylus megistus* (Pm) 9.6- ( ) Tl e Pm

10- Observando a placa plástica qual fase/estadio de barbeiro você viu?  
10.1- ( ) Ovo 10.2- ( ) Ninfas 10.3- ( ) Adulto 10.4- ( ) Exúvia 10.5- ( ) Não sabe/Não lembra

11- Você já viu, no município onde mora ou em outro município no estado do Maranhão, a palmeira da figura 2?  
11.1- ( ) Sim 11.2- ( ) Não 11.3- ( ) Não sabe/Não lembra

12- Caso responda que sim, onde encontrou a palmeira? \_\_\_\_\_

13- Você já viu barbeiro nesta palmeira? 13.1- ( ) Sim 13.2- ( ) Não 13.3- ( ) Não sabe/Não lembra

14- Você já viu o *R. brethesi* em outra palmeira que não a da figura 2? 14.1- ( ) Sim 14.2- ( ) Não 14.3- ( ) Não sabe/Não lembra

15- Qual (is) palmeira (s)? \_\_\_\_\_

A.6. Resultado, dos testes estatísticos, do fenótipo antenal por sexo de *R. brethesi* criado em laboratório.

Tabela A.4: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Fenótipo antenal de machos (n=23) e fêmeas (n=20) de *R. brethesi* criados no laboratório.

<b>Variável</b>	<b>Test t</b>
P-BR	0,987867
F1-BR	0,245930
F1-TPF	0,869108
F1-TPG	0,999626
F1-BA	0,351240
F2-BR	0,562328
F2-TPF	0,983605
F2-TPG	0,445570
F2-BA	0,158836

A.7. Resultados, dos testes estatísticos, do fenótipo antenal por morfotipo cromático de *R. brethesi* criado em laboratório.

Tabela A.5: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Fenótipo antenal dos espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório, separados por variação cromática: Mancha presente (n=24); mancha ausente (n=19), criados no laboratório.

<b>Variável</b>	<b>Test t</b>
P-BR	0,843170
F1-BR	0,349821
F1-TPF	0,514899
F1-TPG	0,034024
F1-BA	0,482156
F2-BR	0,589448
F2-TPF	0,014534
F2-TPG	0,012868
F2-BA	0,010112

A.8. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por sexo de *R. brethesi* criado em laboratório.

Tabela A.6: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG de espécimes de *R. brethesi*, criados em laboratório, separados por sexo (Macho: n=23; fêmea: n=20).

<b>Variável</b>	<b>Test t</b>
C.TPF	0,228910
C.TPG	0,843160

A.9. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG segundo morfotipo cromático de *R. brethesi* criado em laboratório.

Tabela A.7: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG em espécimes de *R. brethesi*, criados em laboratório, separados por variação cromática (Mancha presente: n=24; mancha ausente: n=19).

<b>Variável</b>	<b>Test t</b>
C.TPF	0,78253
C.TPG	0,24932

A.10. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por sexo dos espécimes de *R. brethesi* silvestres.

Tabela A.8: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG em espécimes silvestres de *R. brethesi* separados por sexo (Macho: n=26; fêmea: n=24).

<b>Variável</b>	<b>Test t</b>
C.TPF	0,079740
C.TPG	0,084845

A.11. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG de acordo com morfotipo cromático dos espécimes de *R. brethesi* silvestres.

Tabela A.9: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG em espécimes silvestres de *R. brethesi* separados por variação cromática (Mancha presente: n=27; mancha ausente: n=23).

Variável	Test t
C.TPF	0,959006
C.TPG	0,539687

A.12. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por ecótopo de machos de *R. brethesi* silvestres.

Tabela A.10: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG em machos de *R. brethesi* separados por ecótopo (Laboratório: n=23; Palmeira silvestre: n=26).

Variável	Test t
C.TPF	0,974129
C.TPG	0,037477

A.13. Resultados, dos testes estatísticos, do comprimento de TPF e TPG por ecótopo de fêmeas de *R. brethesi* silvestres.

Tabela A.10: Testes estatísticos utilizados: Teste t e Mann-Whitney U Test. Comprimento F1-TPF e F1-TPG em fêmeas de *R. brethesi* separadas por ecótopo (Laboratório: n=20; Palmeira silvestre: n=24).

Variável	Test t
C.TPF	0,004978
C.TPG	0,856950