

**Estudos comparativos do ciclo evolutivo de *Rhodnius pictipes*
Stal, 1872 alimentado artificialmente em membrana de silicone
e em camundongos albinos
(Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)**

DAYSE DA SILVA ROCHA

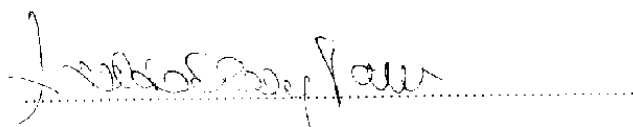
1996

Estudos comparativos do ciclo evolutivo de *Rhodnius pictipes* Stal, 1872
alimentado artificialmente em membrana de silicone e em camundongos albinos
(Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)

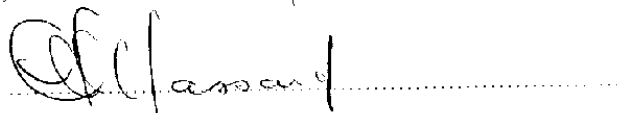
Dayse da Silva Rocha

APROVADO EM 18/12/96

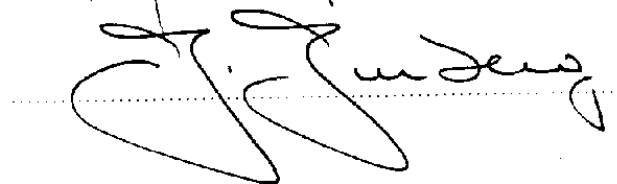
Adivaldo Henrique da Fonseca



Carlos Luís Massard



José Jurberg



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA ANIMAL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

ESTUDOS COMPARATIVOS DO CICLO EVOLUTIVO DE *RIODNIUS PICTIPES*
STAL, 1872 ALIMENTADO ARTIFICIALMENTE EM MEMBRANA DE SILICONE E
EM CAMUNDONGOS ALBINOS
(HEMIPTERA, REDUVIIDAE, TRIATOMINAE)

DAYSE DA SILVA ROCHA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR: ADIVALDO HENRIQUE DA FONSECA

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau
de *Magister Scientiae* em Medicina
Veterinária, Área de concentração em
Parasitologia Veterinária.

Seropédica, Rio de Janeiro

Dezembro, 1996

AGRADECIMENTOS

À Coordenação do Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária pela oportunidade concedida.

Ao Prof. Adivaldo Henrique da Fonseca, orientador e amigo, pela generosidade com a qual me recebeu, pelo apoio e pela liberdade que me concedeu na condução deste trabalho.

Ao Prof. Erik Daemon, pelo apoio e incentivo e pelo privilégio de compor a minha Comissão de Orientação.

Ao Prof. José Jurberg pelo apoio, incentivo e amizade e pelas condições oferecidas para o pleno desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Francisco Ademar Costa pelo tratamento estatístico dado aos resultados obtidos.

Ao Prof. Julio Viana Barbosa pela amizade e apoio sempre constantes.

Ao Prof. Rubens Pinto de Mello por aceitar participar da minha Comissão de Orientação, e pela leitura crítica do texto.

Aos técnicos do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos: Vanda Cunha, José Luís da Costa Giesteira e Luciana da Fonseca Silva pela manutenção do insetário.

Aos colegas de curso pelo agradável convívio e amizade.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Ao BIRD, FNS e FIOCRUZ pelos recursos concedidos através do convênio 027/93.

BIOGRAFIA

Dayse da Silva Rocha nasceu a 20 de setembro de 1967 no Rio de Janeiro, filha de José Ribeiro da Rocha e Nilza da Silva Rocha.

Em 1990, foi selecionada através de concurso público para ingressar no Curso Técnico em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, e em 1991 integrou-se ao Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos do Departamento de Entomologia (IOC).

Em 1994, obteve o grau de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas, pela Faculdade de Humanidades Pedro II, no Rio de Janeiro. Neste mesmo ano, ainda como estudante de graduação, publicou seu primeiro artigo científico nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, versando sobre a biologia de um triatomíneo. Desde então vem participando de diversos projetos de

pesquisa nas áreas de biologia, morfologia e taxonomia dos vetores da doença de Chagas.

Em 1995 foi admitida como aluna no curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária da UFRRJ em nível de Mestrado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Procedência dos insetos.....	11
3.2 Alimentação artificial.....	15
3.3 Alimentação <i>in vivo</i> (grupo controle).....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Número de repastos realizados por <i>R. pictipes</i>	27
4.2 Ingestão de sangue por <i>R. pictipes</i>	35
4.3 Período de desenvolvimento das ninfas e longevidade dos adultos de <i>R. pictipes</i>	45

4.4 Percentual de mortalidade de <i>R. pictipes</i>	49
5. CONCLUSÕES	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

ÍNDICE DAS FIGURAS

FIGURA	1. Vista geral do insetário de triatomíneos do LNIRTT.....	13
FIGURA	2. Colônia de <i>Rhodnius pictipes</i> Stal, 1872 mantida em temperatura ambiente no insetário de triatomíneos.....	14
FIGURA	3. Frascos de vidro utilizados para acondicionar os insetos utilizados no experimento, mantidos em estufa B.O.D.....	17
FIGURA	4. Placas de vidro, utilizadas para alimentação artificial através de membrana de silicone.....	18
FIGURA	5. Placa aquecedora utilizada para aquecimento do sangue contido nas placas de vidro.....	19
FIGURA	6. “Becker” de 250 ml utilizado para acondicionar os insetos durante o repasto através de membrana de silicone.....	21
FIGURA	7. Ninfas de 1 ^o estágio de <i>Rhodnius pictipes</i> Stal, 1872 realizando repasto sanguíneo através de membrana de silicone.....	22
FIGURA	8. Adultos de <i>Rhodnius pictipes</i> Stal, 1872 realizando repasto sanguíneo através de membrana de silicone.....	23

FIGURA	9. Sacos de tela de náilon para contenção de camundongos utilizados na alimentação do grupo controle.....	25
FIGURA	10. Cristalizador (20cm altura x 20cm de diâmetro) utilizado na alimentação do grupo controle.....	26
FIGURA	11. Quantidade média de sangue ingerido por repasto, em <i>Rhodnius pictipes</i> Stal, 1872 alimentado através de membrana de silicone.....	41
FIGURA	12. Quantidade média de sangue ingerido por repasto, em <i>Rhodnius pictipes</i> Stal,1872 alimentado em camundongos (grupo controle).....	42
FIGURA	13. Percentual de mortalidade de ninfas de <i>Rhodnius pictipes</i> Stal,1872 alimentadas artificialmente através de membrana de silicone.....	52
FIGURA	14. Percentual de mortalidade de ninfas de <i>Rhodnius pictipes</i> Stal, 1872 alimentadas em camundongos (grupo controle).....	53

ÍNDICE DAS TABELAS

TABELA	1. Número de repastos realizados em cada fase do desenvolvimento de <i>R. pictipes</i> alimentado artificialmente através de membrana de silicone.....	31
TABELA	2. Número de repastos realizados em cada fase do desenvolvimento de <i>R. pictipes</i> alimentado em camundongos albinos.....	32
TABELA	3. Frequência de repastos realizados por <i>R. pictipes</i> alimentado artificialmente através de membrana de silicone.....	33
TABELA	4. Frequência de repastos realizados por <i>R. pictipes</i> alimentado em camundongos albinos.....	34
TABELA	5. Quantidade média (mg) de sangue ingerido por triatomíneos completamente ingurgitados (Baseado em CARCAVALLO e cols., 1985).....	40
TABELA	6. Peso médio (em mg) antes e após o repasto, e aumento médio de peso de <i>R. pictipes</i> alimentado artificialmente através de membrana de silicone.....	43

TABELA	7. Peso médio (em mg) antes e após o repasto, e aumento médio de peso de <i>R. pictipes</i> alimentado em camundongos albinos.....	44
TABELA	8. Duração das fases de desenvolvimento (em dias) de <i>R. pictipes</i> alimentado artificialmente através de membrana de silicone.....	47
TABELA	9. Duração das fases de desenvolvimento (em dias) de <i>R. pictipes</i> Stal, 1872 alimentado em camundongos albinos.....	48

RESUMO

Hemípteros da espécie *Rhodnius pictipes* procedentes de Serra Norte, Estado do Pará e aclimatados no insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos do Departamento de Entomologia, Instituto Oswaldo Cruz foram alimentados artificialmente em membrana de silicone e em camundongos albinos. Para conhecer a viabilidade e a eficiência desta membrana foram observados o número de repastos realizados; o período de desenvolvimento dos cinco estádios ninfais; a longevidade dos adultos; a quantidade média de sangue ingerido em cada repasto e o percentual de mortalidade. Foram utilizados 310 insetos sendo 50 ninfas de cada estágio, 30 machos e 30 fêmeas. Verificou-se que nos estádios alimentados artificialmente os períodos mínimos e máximos foram inferiores aos obtidos no grupo alimentado em camundongos. O maior aumento de peso

corporal foi observado no 2^o estágio seguido pelo 1^o, e a quantidade de sangue ingerido aumentou com o decorrer do desenvolvimento dos insetos, alcançando o pico no 5^o estágio em ambos os grupos. No período de desenvolvimento dos insetos não houve diferença significativa entre os grupos alimentados artificialmente e em camundongos segundo o teste de Tukey para $p < 0,05$. Os percentuais de mortalidade no 1^o estágio nos dois grupos foram de 18% para os alimentados artificialmente e 16% para o grupo controle. Esses percentuais diminuíram a medida que os insetos se desenvolviam até o 4^o estágio onde não houve mortalidade, voltando a crescer no 5^o estágio. *R. pictipes* demonstrou fácil adaptabilidade à alimentação artificial, podendo ser considerado um importante e viável modelo experimental.

SUMMARY

Rhodnius pictipes (Hemiptera:Reduviidae) from the Serra Norte, PA, Brasil acclimatized at insectary conditions of Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Departamento de Entomologia, IOC where fed through silicone membrane. In order to know the viability and the efficiency of this membrane compared with insects fed in mice, the number of bloodmeal performed, period of development of the 5 nymphal instars, longevity of adults, average amount of blood intake in each meal and percent of mortality were observed. 310 insects, 50 nymphs of each instar, 30 males and 30 females were used. Insects fed artificially presented minimal and maximal periods of development lower than the group fed on mice. The largest increase of body weight was observed in 2nd instar followed by the 1st, and the

increase of blood amount ingested increased during the as development, reaching the top in the 5th instar for both groups. There are no significant differences between the groups fed artificially and in vivo according to Tukey's test for $p < 0.05$. The percents of mortality in the 1st instar were 18% for artificially fed and 16% for the group fed on mice; these percents decreased as the insects developed until the 4th instar, where there was no mortality, returning to increase in the 5th instar. *R. pictipes* showed high adaptability to artificial food, and could be considered as an important and viable experimental model.

1. INTRODUÇÃO

Os triatomíneos são hemípteros hematófagos da família Reduviidae, transmissores do *Trypanosoma cruzi* (Chagas,1909). Até o momento, foram descritas 123 espécies de triatomíneos, todas consideradas potencialmente transmissoras da doença de Chagas. Segundo ZELEDÓN & RABINOVICH (1981) e estimativas da WHO (1991) existem 16 a 18 milhões de pessoas infectadas e outras 90 milhões vivendo em áreas de risco.

A grande maioria das espécies de triatomíneos pode ser encontrada na Região Neotropical e já foram assinalados desde "Salt Lake City" (EUA), a 41 ° de latitude norte, até a Patagônia, a 46° de latitude sul. Em "Salt Lake City", encontrou-se *Triatoma protracta* (Uhler, 1894), enquanto que na

Patagônia, encontrou-se *T. patagonica* Del Ponte, 1929. Das 123 espécies descritas, a única tropicopolita é *T. rubrofasciata* (De Geer, 1773) e somente 13 espécies ocorrem fora do continente Americano (LENT & WYGODZINSKY, 1979).

A partir da descoberta de CHAGAS (1909) tornou-se imprescindível o estudo da biologia dos triatomíneos, que até então vinham sendo estudados apenas sob a ótica morfológico-descritiva. Os triatomíneos são conhecidos como hematófagos em todas as fases do desenvolvimento em ambos os sexos, e são resistentes a longos períodos de jejum. Podem ser criados em laboratório com relativa facilidade, através da alimentação *in vivo*, utilizando-se diversos hospedeiros como: cabras, camundongos, coelhos, galinhas e ovelhas (BUXTON, 1930; RYCKMAN, 1952; GOMEZ-NÚÑEZ, 1964; RYCKMAN & RYCKMAN, 1977; GARDINER & MADDRELL, 1972) ou *in vitro* (alimentação artificial) através da utilização de dispositivos de látex contendo sangue de citratado ou desfibrinado de mamíferos, aquecido a temperatura em torno de 37 ° C (ROMANA & GILL, 1947; BORZONE, 1949; NUSSENSZVEIG & SONNTAG, 1952; HARINGTON, 1960;

SALAMA, 1966; FRIEND & SMITH, 1977; SANCHEZ & KATZIN, 1980).

A manutenção em laboratório de artrópodos hematófagos é de grande importância para estudos biológicos, aprimoramento de metodologias de criação, testes de inseticidas, e conhecimento da interação do vetor com o agente etiológico. Estudos de biologia tem sua importância ressaltada por vários autores que, através do registro de características biológicas específicas, avaliam a potencialidade vetora das diferentes espécies e fornecem dados para aplicação de medidas de controle. A necessidade de manutenção de insetos em laboratório, vem motivando diversos autores a estudarem metodologias alternativas à utilização de animais mantidos em laboratório. A alimentação artificial visa suprir as necessidades nutricionais dos artrópodos hematófagos, sem os inconvenientes da manutenção de hospedeiros vivos, além de minimizar efeitos de características individuais dos hospedeiros no estudo da transmissão de patógenos. O uso desse método tem sua importância quando utilizado como isca em medidas de controle, conforme demonstrado por LIMA e cols. (1991;1992) e LIMA (1994); para manutenção de colônias em laboratório (CUNHA & MAC CORD, 1992) além da utilização no xenodiagnóstico

artificial. Neste último caso, torna-se ainda mais adequada já que podem ocorrer em humanos casos de reações alérgicas cutâneas às picadas desses insetos (MOTT e cols., 1980; COSTA e cols., 1981) ou mesmo anafilaxia generalizada (TEO & CHEAH, 1973). Outro ponto importante é a eliminação quase que completa da presença de animais hospedeiros no laboratório, atendendo a uma exigência cada vez mais forte da sociedade, em especial das organizações de defesa dos animais, reservando o uso de cobaias para as áreas da ciência aonde ainda são absolutamente indispensáveis.

Rhodnius pictipes Stal, 1872 é uma espécie silvestre de ampla distribuição na América do Sul. Tem sido encontrada no Brasil nos Estados do Acre, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí. Após a divisão do Estado de Goiás, os municípios de ocorrência desse triatomíneo passaram a pertencer ao Estado do Tocantins (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; LENT & WYGODZINSKY, 1979; SILVEIRA e cols. 1984; BRAZIL e cols. 1985 e SILVA & SILVA, 1990). Apesar de apresentar hábitos silvestres, *R. pictipes* já foi encontrada em biótopos artificiais (domicílios humanos) o que pode indicar uma tendência dessa espécie à domiciliação (SERRA e cols. 1980 e SILVA e cols. 1992).

Quanto a infecção por flagelados, *R. pictipes* foi encontrada naturalmente infectada pelo *T. cruzi*, pelo *T. rangeli*, e com infecção mista (CARCAVALLO e cols.1975 e OTERO e cols. 1976). MILES e cols. (1983) encontraram *R. pictipes* infectado com *T. cruzi*, comumente e em grande número, nas palmeiras *Maximiliana regia* (inajá), *Acrocomia sclerocarpa* (macujá) e *Orbignya phalerata* (babaçú) na Amazônia brasileira. Esses autores sugerem ser *R. pictipes* a provável fonte de infecção em um caso agudo de doença de Chagas nas vizinhanças de Belém, PA.

ROCHA e cols. (1994) observaram grande avidez e baixo percentual de mortalidade nesta espécie o que levou a crer que poderia ser utilizada com sucesso como modelo na alimentação artificial através de membrana de silicone. Os objetivos do presente trabalho foram verificar a viabilidade e eficiência da membrana de silicone na alimentação artificial de *R. pictipes*; registrar o número de repastos realizados em cada fase do desenvolvimento; verificar a quantidade de sangue ingerido em cada repasto sanguíneo; avaliar o tempo de desenvolvimento dos cinco estádios ninfais e o período de longevidade dos adultos e registrar também o percentual de mortalidade das ninfas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Deve-se a NEIVA (1910) a primeira publicação contendo informações sobre o ciclo de vida de um triatomíneo, o *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), constatando que sem os repastos sanguíneos as ecdises não ocorriam. Desde então, inúmeros trabalhos vem sendo realizados com as mais variadas espécies, mostrando a importância da criação e manutenção desses insetos em laboratório, para compreender sua bionomia visando o controle.

A primeira técnica desenvolvida para alimentação artificial de triatomíneos, foi descrita por ROMANA & GILL (1947). Tratava-se de tubos de ensaio cobertos por pele de pequenos roedores recém sacrificados contendo sangue.

PACHCKANIAN (1948) interessado no desenvolvimento dos triatomíneos usou um chumaço de algodão embebido em sangue e envolto em gaze e conseguiu alimentá-los e BORZONE (1949) mencionou um método onde os insetos foram alimentados diretamente com o sangue desfibrinado, sem o uso de qualquer tipo de membrana.

ROBERTS (1950) usou, como membrana pele de galinha fixada com álcool e dessecada enquanto, NUSSENZVEIG & SONNTAG (1952), descreveram um sistema mais eficiente para a criação de hemípteros hematófagos, com sangue citratado, aquecido a 37° C e contido em tubos fechados com membrana de intestino de bovinos.

HARINGTON (1960) desenvolveu um dispositivo contendo sangue desfibrinado em funis de vidro que eram recobertos com pele de animais e aquecidos a 40° C.

A primeira utilização de sangue em tubos fechados com membrana de borracha foi feita por CARVALHO (1961), sendo esses tubos aquecidos a 37° C em estufa. FRIEND & CARTWRIGHT (1963) também desenvolveram um aparelho confeccionado em vidro utilizando membrana artificial e sangue aquecido a 37°C através de um suporte metálico.

SALAMA (1966) descreveu um aparelho similar ao descrito por Friend & Cartwright (1963), porém, dando preferência às membranas naturais.

GARDINER & MADDRELL (1972) foram os primeiros capazes de alimentar todos os estádios de *R. prolixus* através de membranas artificiais, com sangue desfibrinado de carneiro; entretanto, a mortalidade foi inaceitavelmente alta, e um baixo percentual de ecdises foi obtido no 5° estágio. Apesar disso, seus resultados demonstraram que a técnica de alimentação *in vitro* desenvolvida para moscas tsé-tsé usando sangue de carneiros era adaptável para a alimentação de triatomíneos, e que a dieta de sangue desfibrinado de suíno resultou na postura de ovos maiores e em maior quantidade do que havia sido relatado para essa espécie até então.

Alguns autores já sugeriram que o calor é necessário para estimular o reflexo da picada. Segundo GARCIA e cols. (1975), *R. prolixus* só se

a próxima da fonte alimentar se a temperatura do sangue estiver entre 36 e 38° C, sendo repellido quando o sangue alcança temperaturas superiores à 40° C.

LANGLEY & PIMLEY (1978) criaram *R. prolixus* com sucesso por três gerações em uma dieta de sangue desfibrinado de suíno, através de parafilme ou membrana de silicone. Seus resultados mostraram que a produção dos ovos em termos de número e tamanho foi superior, e a sobrevivência de ovo a adulto foi igual aos relatos para esses insetos alimentados em hospedeiros vivos. Essa técnica obteve êxito também para *P. megistus*, *T. infestans* e *T. brasiliensis* Neiva, 1911.

WURTZ & RUTLEDGE (1980) alimentaram com facilidade *R. prolixus* e *T. infestans* através de membranas utilizadas em salsichas.

MAC CORD e cols. (1990) visando uma melhor eficácia na criação e manutenção de triatomíneos no laboratório, elaboraram um sistema de alimentação artificial através de membrana de látex, utilizando como fonte alimentar sangue desfibrinado de carneiro. Todas as seis espécies utilizadas conseguiram se alimentar satisfatoriamente.

LIMA e cols. (1991, 1992) e LIMA (1994) alimentando várias espécies através de alimentador artificial descrito por LIMA e cols. (1989),

sem acrescentar qualquer tipo de aquecimento ao sangue, observaram que uma significativa proporção dos insetos testados, não só se aproximavam da fonte sanguínea (mantida em temperatura ambiente), como também conseguiam se alimentar com grande facilidade. Observou inclusive nítida preferência de *T. pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 pelo sangue mantido em temperatura ambiente.

CUNHA & MAC CORD (1992) descreveram um dispositivo para alimentação de pequenas colônias de triatomíneos, feito de um tubo contendo água aquecida inserido em outro tubo contendo sangue desfibrinado de carneiro com uma membrana de látex na extremidade, por onde os insetos sugavam o sangue.

O comportamento alimentar de seis espécies, submetidas à alimentação em membranas de látex contendo sangue mantido à $26 \pm 1^\circ$ e $36 \pm 1^\circ$ C foi observado por PINTO e cols. (1992) que avaliaram todos as fases do desenvolvimento, constatando que embora a maioria dos insetos tenha preferido o sangue aquecido, grande parte se alimentou também no sangue mantido a 26° C.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedência dos insetos

Foram utilizados triatomíneos provenientes de uma colônia oriunda de insetos capturados em Serra Norte, PA, Brasil e aclimatados desde setembro de 1989, no insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz, onde são mantidos em temperatura ambiente (Figs. 1 e 2).

Os insetos e ovos foram retirados aleatoriamente da colônia, e agrupados de acordo com a fase de desenvolvimento. As ninfas receberam uma alimentação em camundongos albinos com o intuito de padronizar o período de ocorrência das ecdises. Após a eclosão e ecdise das ninfas, os insetos foram

acondicionados, de acordo com a fase de desenvolvimento, em frascos de vidro transparente (com aproximadamente 15 cm de altura e 6 cm de diâmetro) forrados no fundo com papel de filtro e contendo tiras do mesmo papel dobradas em sanfona para aumentar a superfície de contato e absorver a umidade (Fig. 3).



FIGURA 1. Vista geral do insetário de triatomíneos do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, IOC.



FIGURA 2. Colônia de *Rhodnius pictipes* Sta1,1872 mantida em temperatura ambiente no insetário de triatomíneos.

3.2 Alimentação artificial

Foram utilizados 310 espécimes assim distribuídos: 50 ninfas de cada estágio, 30 machos e 30 fêmeas. A alimentação foi realizada através de membrana de silicone, conforme descrito por BUTLER e cols. (1984) em relação à carrapatos do gênero *Ornithodoros*. Para alimentação foi utilizado sangue desfibrinado de carneiro, retirado assépticamente por processo a vácuo, e fornecido pelo Biotério Central da Fundação Oswaldo Cruz e mantido por até oito dias em refrigerador à 5° C. O sangue foi colocado em placas retangulares de vidro de 9 cm de comprimento x 7 cm de largura e capacidade de 16 ml, e estas sobre uma placa aquecedora de 38 cm de comprimento x 30 cm de largura, mantida a 39- 40° C; a temperatura da placa foi controlada através de um termômetro de precisão, e por meio de testes prévios foi verificado que com esta temperatura, o sangue contido nas placas de vidro atingia a temperatura de 37-38°C (Figs. 4 e 5). De acordo com diversos estudos, foi demonstrado que a temperatura ideal para alimentação de triatomíneos varia de 36 a 38° C, e que o aquecimento do sangue estimula o reflexo da picada, embora seja possível alimentá-los em sangue mantido a temperatura ambiente (CARVALHO, 1961; FRIEND & CARTWRIGTH, 1963; GARCIA e cols., 1975; LIMA e cols.

1991, 1992; **CUNHA & MAC CORD**, 1992; **PINTO** e cols., 1992 e **LIMA**, 1994).



FIGURA 3. Frascos de vidro utilizados para acondicionar os insetos utilizados no experimento, mantidos em estufa B.O.D.



FIGURA 4. Placas de vidro (7 cm de largura x 9 cm de comprimento com capacidade para 16 ml de sangue) utilizadas na alimentação artificial através de membrana de silicone.



FIGURA 5. Placa aquecedora (38 cm de comprimento x 30 cm de largura) utilizada para o aquecimento do sangue contido nas placas de vidro.

As placas de vidro foram cobertas com a membrana de silicone, cuja espessura é de 0,3 mm, sendo que a face rugosa era mantida em contato com o inseto e a face lisa em contato com o sangue. Durante a colocação do sangue nas placas de vidro, foram tomados todos os cuidados necessários para evitar a formação de bolhas, sendo as mesmas retiradas quando surgiam.

No momento da alimentação, os insetos foram colocados em frascos "Becker" de 250 ml contendo sanfonas de papel de filtro, para facilitar seu deslocamento até a fonte sanguínea e absorver as excretas eliminadas durante o repasto e fechados por tela de náilon fixada com elástico (Figs. 6, 7 e 8). A alimentação foi oferecida em média, a cada 15 dias, e o tempo de oferecimento da fonte sanguínea foi de duas horas, o suficiente para repleção total dos triatomíneos dessa espécie conforme demonstrado por ROCHA e cols. (1994). Todos os insetos foram pesados antes e imediatamente após o repasto, para verificação da quantidade de sangue ingerido e da perda de peso ocorrida entre os repastos. Diariamente verificava-se a ocorrência de ecdises e mortes.



FIGURA 6. "Becker" de 250 ml utilizado para acondicionar os insetos durante o repasto através de membrana de silicone.



FIGURA 7. Ninfas de 1º estágio de *Rhodnius pictipes* Sta1,1872 realizando repasto sanguíneo através de membrana de silicone.



FIGURA 8. Adultos de *Rhodnius pictipes* Sta1, 1872 realizando repasto sanguíneo através de membrana de silicone.

3.3 Alimentação *in vivo* (grupo controle)

O mesmo número de insetos e metodologia semelhante foi utilizada na observação dos triatomíneos alimentados sobre hospedeiros vivos (grupo controle). A alimentação foi realizada em camundongos (*Mus musculos*), que foram imobilizados dentro de sacos confeccionados com telas de náilon e mantidos dentro de um cristalizador de vidro de 20 cm de altura por 20 cm de diâmetro, onde colocava-se os insetos por um período de duas horas (Figs. 9 e 10).

Durante a realização do experimento, tanto os insetos alimentados artificialmente, quanto os do grupo controle foram mantidos em estufa B.O.D. à 28 +/- 1°C e 80 +/- 5% de U.R. com fotoperíodo de 12 horas.



FIGURA 9. Sacos de tela de náilon para contenção de camundongos utilizados na alimentação do grupo controle.

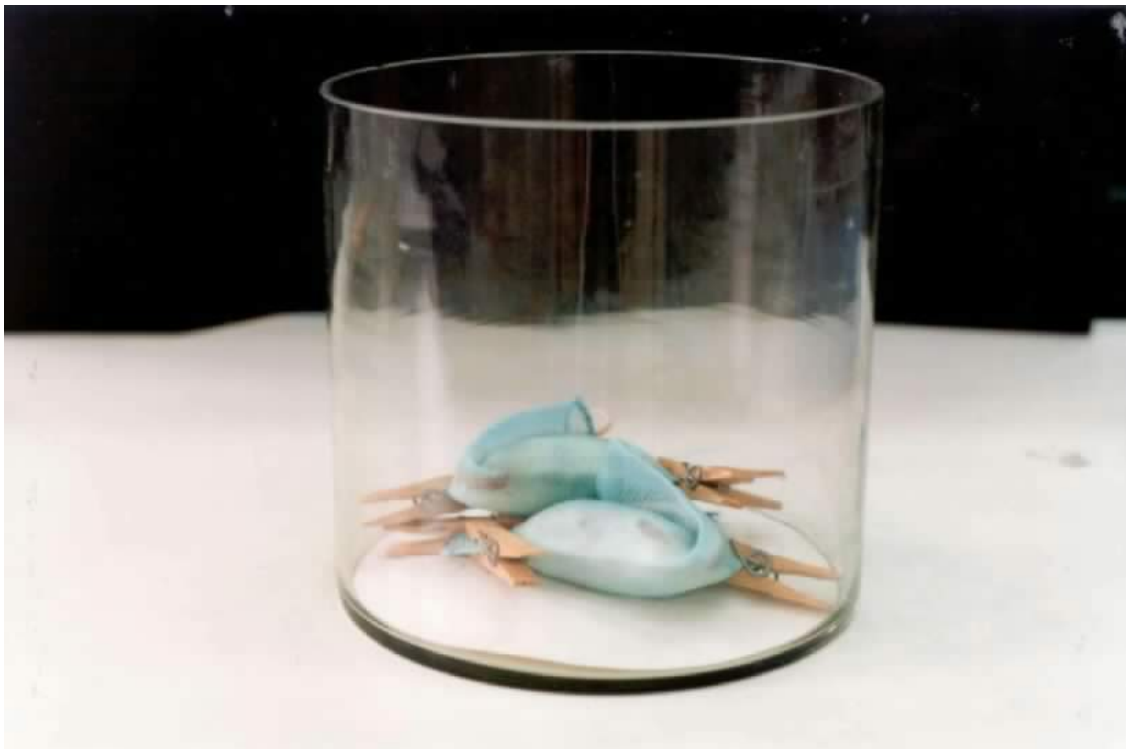


FIGURA 10. Cristalizador (20 cm de altura x 20 cm de diâmetro) utilizado na alimentação do grupo controle.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Número de repastos realizados por *R. pictipes*

Segundo JUAREZ (1970) o número de repastos realizados pelos triatomíneos tem uma grande importância do ponto de vista epidemiológico, já que quanto mais contatos ocorrerem entre vetores e hospedeiros, maior será a probabilidade de infecção ou transmissão do *T. cruzi*. No presente trabalho observou-se poucas repetições de repastos em cada fase do desenvolvimento, tanto no grupo alimentado artificialmente quanto no grupo controle, o que é uma característica bastante conhecida em algumas espécies do gênero *Rhodnius* Stal, 1859. Do ponto de vista epidemiológico, essa característica seria "compensada" pela grande rapidez na ingestão do sangue e pela defecação imediatamente após, ou mesmo simultaneamente ao repasto.

ROCHA e cols. (1994) observaram que o 1º estágio de *R. pictipes* necessita de 1,6 repastos em média, quando alimentado em pombos, para alcançar a fase seguinte, média superior à obtida no presente trabalho para alimentação artificial que foi de 1 repasto. Observaram ainda que em 45,5 % dos repastos realizados por *R. pictipes* a defecação foi imediata, e em 60% ocorreu sobre a fonte de alimentação. Ainda quanto ao número de repastos necessários para a ocorrência da ecdise, verificou-se no presente trabalho, que os insetos alimentados artificialmente apresentaram períodos mínimos e máximos inferiores aos obtidos no grupo controle, além disso as médias foram inferiores no 1º, 2º e 4º estádios e nas fêmeas, e apenas no 3º estágio a média do grupo controle foi nitidamente superior à obtida para o grupo alimentado artificialmente (Tabelas 1 e 2).

Outro aspecto constatado no presente trabalho foi a maior homogeneidade no período de intermuda obtido na alimentação artificial. Esse é um aspecto importante no controle de uma criação em laboratório, permitindo que um maior número de insetos alcancem simultaneamente a fase adulta aumentando as possibilidades e frequência de cópulas. Nos insetos alimentados artificialmente observou-se que no 1º e 2º estádios todos os insetos

necessitaram de um repasto para que ocorressem as mudas, nos demais estádios também ocorreram diversas mudas com apenas uma alimentação (Tabelas 3 e 4).

GOODCHILD (1955) observou que em *T. infestans*, e em outras espécies do gênero, é comum a necessidade de mais de um repasto para dar continuidade ao desenvolvimento após o 3º estágio. Segundo este autor as espécies do gênero *Rhodnius* conseguem ingerir quantidades maiores de sangue em relação ao seu tamanho, porque a região pleural de seu abdôme não é totalmente esclerotizada, podendo distender-se em maior proporção, permitindo que alcancem a repleção total com maior facilidade, o que não ocorre no gênero *Triatoma* Laporte, 1832.

Um outro fator que pode influenciar de forma marcante o número de repastos realizados, é o período de privação alimentar a que são submetidos antes do oferecimento da alimentação. Mc EWEN & LEHANE (1993) observaram o efeito do intervalo entre as alimentações, no desenvolvimento das ninfas e subsequente alteração no comportamento de vôo dos adultos, e na autogenia das fêmeas de *T. infestans*. Verificaram que, ninfas de 5º estágio

alimentadas em intervalos curtos originaram fêmeas frequentemente maiores, mais longevas e com grande capacidade de produção de ovos.

No presente trabalho ambos os grupos foram alimentados em média sete dias após a eclosão ou muda, e os intervalos entre os repastos foram em média de 15 dias. Este período foi padronizado a fim de evitar a influência desses fatores nos resultados e na tentativa de homogeneizar os períodos de intermuda. A regularidade nesses períodos foi observada por GARCIA e cols. (1975) para *R. prolixus* e por LENT & VALDERRAMA (1977) para *R. pictipes*.

Tabela 1 Número de repastos realizados em cada fase do desenvolvimento de *R. pictipes* alimentado artificialmente através de membrana de silicone

Fases	Mínimo	Máximo	X	S
1º estágio	1	1	1	0,0
2º estágio	1	1	1	0,0
3º estágio	1	4	1,7	0,9
4º estágio	1	2	1,0	0,2
5º estágio	1	3	2,2	0,8
Machos	1	6	3,8	1,8
Fêmeas	2	5	3,0	0,8

Tabela 2 Número de repastos realizados em cada fase do desenvolvimento de *R. pictipes* alimentado em camundongos albinos

Fases	Mínimo	Máximo	X	S
1ºestádio	1	2	1,3	0,4
2ºestádio	1	3	1,3	0,6
3ºestádio	1	2	1,1	0,3
4ºestádio	1	3	1,5	0,5
5ºestádio	2	2	2,0	0,0
Machos	2	7	3,7	1,9
Fêmeas	1	6	3,9	1,7

Tabela 3 Frequência de repastos realizados por *R. pictipes* alimentado artificialmente através de membrana de silicone

Fases do desenvolvimento	Nº de insetos que atingiram o estágio seguinte	Número de repastos realizados	Percentual
1ºestádio	41	01	100
2ºestádio	43	01	100
3ºestádio	25	01	55,5
	11	02	24,5
	06	03	13
	03	04	7
4ºestádio	47	01	94
	03	02	06
5-estádio	12	01	27
	11	02	24
	22	03	49

Tabela 4 Frequência de repastos realizados por *R. pictipes* Stal, 1872 alimentado em camundongos albinos

Fases do desenvolvimento	Nº de insetos que atingiram o estágio seguinte	Número de repastos realizados	Percentual
1ºestádio	29	01	69
	13	02	31
2ºestádio	33	01	70
	11	02	24
	03	03	06
3ºestádio	42	01	89
	05	02	11
4ºestádio	22	01	44
	27	02	54
	01	03	02
5ºestádio	47	02	100

4.2 Ingestão de sangue por *R. pictipes*

A importância da quantidade e qualidade do alimento no desenvolvimento dos triatomíneos tem sido ressaltada por diversos autores. O número de ovos produzidos por *R. prolixus*, está diretamente relacionado à quantidade de sangue ingerido (BUXTON, 1930; FRIEND e cols., 1965; REGIS, 1979). Segundo WIGGLESWORTH (1960) e PRATT & DAVEY (1972) a produção de ovos por *R. prolixus* é em última instância, o resultado do repasto sanguíneo e da cópula sobre o sistema neurosecretor.

Em 1939, WIGGLESWORTH demonstrou em *R. prolixus* que a distensão do abdômen do inseto provocada pela ingestão do sangue provoca um estímulo nervoso, desencadeando o processo da muda. Segundo BECKEL & FRIEND (1964) as glândulas torácicas secretam a ecdisona que estimula a divisão das células epidérmicas, produzindo uma nova cutícula. CORRÊA (1962) alimentou *T. infestans* em gambá, galinha e cão obtendo médias de ingestão de sangue diferentes para cada uma. FRIEND e cols. (1965) estudaram a relevância da quantidade de sangue ingerido no desenvolvimento de todos os estádios de *R. prolixus* e LENT & VALDERRAMA (1977)

fizeram observações sobre a ingestão de sangue em *R. prolixus*, alimentando-os em camundongos com intervalos variando entre 15 e 22 dias, registrando a ingestão média de sangue por estágio, obtendo os seguintes valores: 3,54mg para o 1º estágio; 9,84mg para o 2º; 31,19mg para o 3º; 85,66mg para o 4º e 226,79mg para o 5º estágio. GARCIA e cols. (1975) estudando *R. prolixus* submetido a alimentação artificial obtiveram resultados muito semelhantes aos obtidos no presente trabalho (Figuras 12 e 13). PERLOWAGORASZUMLEWICZ (1975) registrou para *R. neglectus* Lent, 1954 através de alimentação *in vivo* as seguintes médias de sangue ingerido por estágio: 1º 1,71mg; 2º 8,7mg; 3º 13,5 mg; 4º 17,8 mg; 5º 124 mg; machos 67,5 mg e fêmeas 100,5mg. Esses resultados são inferiores aos obtidos no presente trabalho, tanto para o grupo alimentado artificialmente quanto para o grupo controle. RODRIGUEZ & RABINOVICH (1980) trabalhando com *R. prolixus* através de alimentação *in vivo* demonstraram que quando os insetos sugam grandes quantidades de sangue, ficam menos vulneráveis as adversidades do meio. SCHOFIELD (1982) demonstrou que a densidade de *T. infestans* pode ser regulada pelo seu estado nutricional e mostrou que quando o sangue ingerido é restrito, o período de desenvolvimento ninfal

aumenta e a fertilidade diminui. A quantidade de sangue ingerido também é um fator de grande importância no estudo da dispersão dos adultos; segundo EKKENS (1981) e LEHANE & SCHOFIELD (1981, 1982) diferenças no estado nutricional influenciam na dispersão dos insetos aumentando ou diminuindo a capacidade de vôo.

Em *T. brasiliensis* a postura também é influenciada pela quantidade de sangue ingerido, sendo a interação entre o peso antes do repasto e o sangue ingerido de grande importância para a produção e viabilidade dos ovos (BRASILEIRO, 1984). A quantidade de sangue ingerido por várias espécies de triatomíneos está listada na Tabela 5; os resultados observados demonstram a heterogeneidade da capacidade alimentar de cada espécie quando submetidas a condições distintas de alimentação, confirmando a influência que a qualidade e quantidade do sangue exercem sobre o desenvolvimento desses insetos. A quantidade média de sangue ingerido pode variar de espécie para espécie ou mesmo dentro de uma mesma espécie, inclusive utilizando-se a mesma fonte alimentar, em repastos distintos (Tabelas 6 e 7). Esses resultados indicam que as condições ambientais (temperatura e umidade) e alimentares (imobilização do hospedeiro ou aquecimento adequado do sangue) interagem com as

características individuais de cada inseto (maior ou menor facilidade de adaptação às condições artificiais de laboratório). No presente trabalho foi observado que o 2º estágio foi o que apresentou o maior aumento de peso corporal, seguido do 1º estágio. Estes valores se aproximam dos obtidos por BUXTON (1930), ZELEDON e cols. (1970 a e b), RABINOVICH (1972), BRASILEIRO & PERONDINI (1974). Apesar das médias registradas por esses autores serem distintas, as proporções de ganho de peso corporal foram próximas.

Em *R. pictipes* o aumento da quantidade de sangue ingerido foi crescente com o decorrer do desenvolvimento dos insetos, alcançando o pico no 5º estágio, tanto para os alimentados artificialmente como para os alimentados em camundongos. Na fase adulta houve um decréscimo na quantidade de sangue ingerido, com o aumento do número de repastos em ambos os grupos. Esse decréscimo pode ser devido à ausência da necessidade de uma repleção total para o desencadeamento do processo de muda. Os machos alimentados artificialmente sugaram quantidades maiores que as fêmeas, o que não foi observado no grupo controle, onde as fêmeas apresentaram valores de ingestão de sangue superiores aos machos. Esses

resultados são semelhantes aos obtidos em alimentação natural por diversos autores como, ZELEDON e cols. (1970 a e b) para *T. dimidiata* Latreille, 1911, WOOD (1975) para *T. protracta* e COLIER e cols. (1977) para *T. phyllosoma* (Burmeister, 1835). As fêmeas geralmente ingerem quantidades superiores de sangue devido ao maior desgaste a que são submetidas durante a cópula, maturação dos ovos e oviposição.

Para cada espécie de triatomíneo existe uma frequência e quantidade de alimentação ótimas, na qual a alimentação não limita nenhum parâmetro vital. A determinação dessas frequências e quantidades específicas, são de grande importância epidemiológica e de muita utilidade para a criação em laboratório.

As observações feitas durante os diversos repastos realizados artificialmente, revelaram que os insetos localizaram a membrana aquecida em poucos segundos por meio de movimentos antenais típicos, picaram e permaneceram imóveis durante todo o processo de sucção, comportamento esse igual ao observado na alimentação em hospedeiros vivos.

Tabela 5 Quantidade média (mg) de sangue ingerido por triatomíneos completamente ingurgitados (Baseado em CARCAVALLO e cols., 1985)

	1			2			3			4			5			M.			F.		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
¹ <i>R. prolixus</i>	0,5	4,9	9,8	1,6	15,3	9,5	4,7	45	9,1	13,3	110	8,2	26,4	277	9,4	-	-	-	56	177	32
² <i>R. prolixus</i>	0,5	5,9	11,8	2,4	15,8	6,6	6,9	48,7	7,1	18,1	119	6,6	47,4	284	6,0	83	-	-	104	-	-
³ <i>T. brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34,4	140	4,6	77,1	270	3,5	-	-	-	-	-	-
⁴ <i>T. dimidiata</i>	1	5,4	5,4	2,9	13,3	4,6	11,9	42,3	3,6	41,9	89	2,1	112,3	282	2,5	230	220	1	283	283	1
⁵ <i>T. infestans</i>	3,6	-	-	13,3	-	-	45,4	-	-	174	-	-	361	-	-	205	-	-	205	-	-
⁶ <i>T. protracta</i>	1,3	9,5	7,3	3,3	23,5	7,1	8,3	55,8	6,7	17,9	114	6,4	38,1	248	6,5	70	80	1,2	80	117	1,5
⁷ <i>T. phyllosoma</i>	1,4	11,1	7,5	6,2	59,7	9,6	25,5	196,4	7,7	65,3	295	4,5	189,3	803	4,2	423	361	0,9	373	642	1,7

a= peso antes da alimentação

b= quantidade de sangue ingerido

c= relação entre o peso antes e após a ingestão de sangue

1. FRIEND e cols., 1975

2. BUXTON, 1930

3. BRASILEIRO & PERONDINI, 1974

4. ZELEDON e cols., 1970 a e b

5. RABINOVICH, 1972

6. WOOD, 1975

7. COLIER e cols., 1977

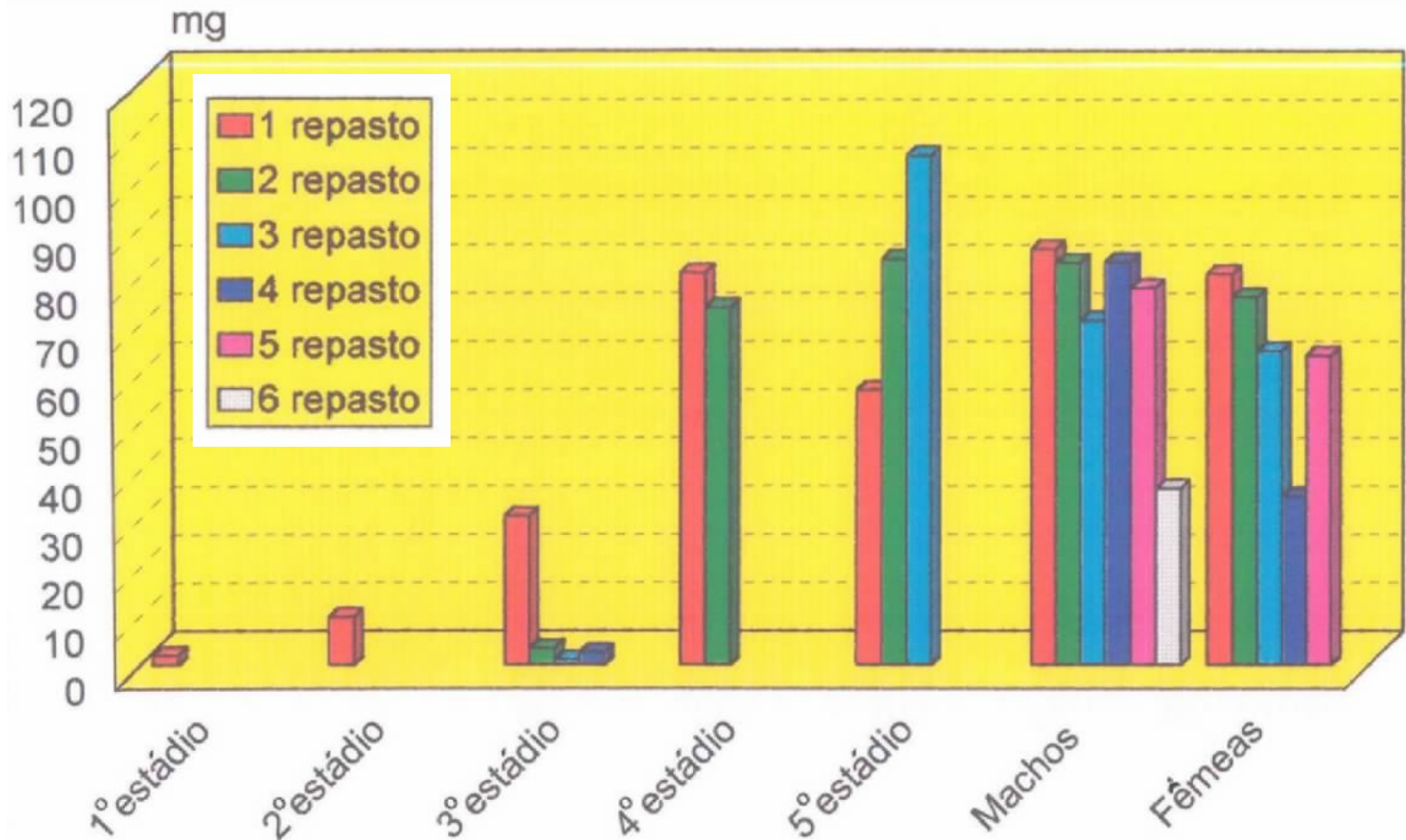


FIGURA 11 - Quantidade média de sangue ingerido por repasto, em *Rhodnius pictipes* Stal, 1872 alimentado através de membrana de silicone.

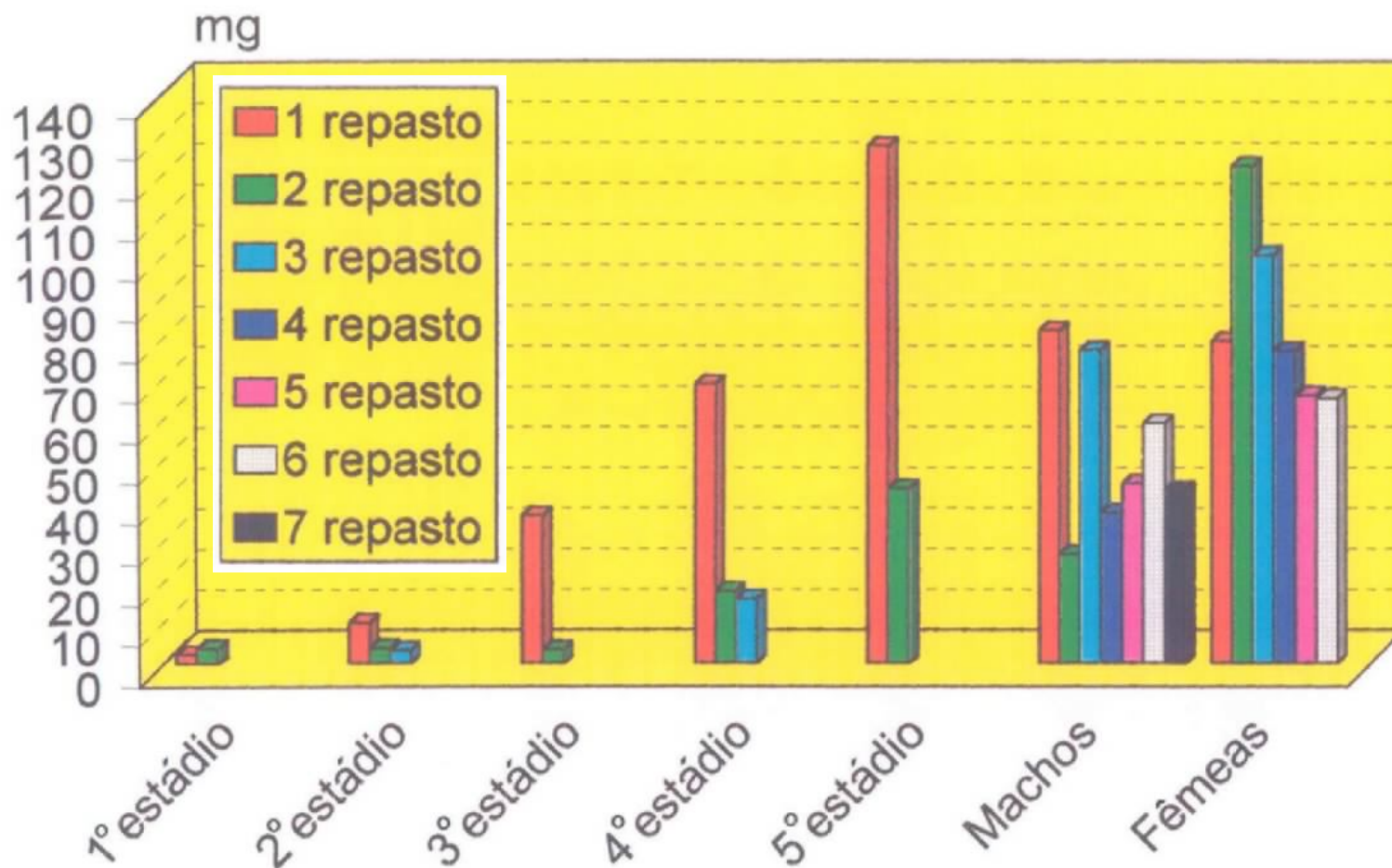


FIGURA 12 - Quantidade média de sangue ingerido por repasto, em *Rhodnius pictipes* Stal, 1872 alimentado em camundongos.

Tabela 6 Peso médio (em mg) antes e após o repasto, e aumento médio de peso de *R. pictipes* alimentado artificialmente através de membrana de silicone

Fases de desenvolvimento	Número do repasto	Antes do repasto	Após o repasto	x peso corporal
1º estágio	1º	0,3	2,3	7,6 x
2º estágio	1º	1,4	11,4	8,1 x
3º estágio	1º	5,8	30,8	5,3 x
	2º	23,0	26,4	1,1 x
	3º	24,3	25,4	1,0 x
	4º	27,0	29,6	1,0 x
4º estágio	1º	15,1	96,2	6,3 x
	2º	22,0	96,0	4,3 x
5º estágio	1º	42,3	99,2	2,3 x
	2º	68,4	152,4	2,2 x
	3º	83,7	189,1	2,2 x
Machos	1º	65,6	151,7	2,3 x
	2º	138,8	222,1	1,6 x
	3º	184,7	256,1	1,3 x
	4º	238,7	322,1	1,3 x
	5º	290,5	368,6	1,2 x
	6º	336,4	372,9	1,1 x
Fêmeas	1º	61,1	142,1	2,3 x
	2º	113,7	189,9	1,6 x
	3º	172,9	237,9	1,3 x
	4º	162,9	197,8	1,2 x
	5º	193,9	258,0	1,3 x

Tabela 7 Peso médio (em mg) antes e após o repasto, e aumento médio de peso de *R. pictipes* alimentado em camundongos (grupo controle)

Fases de desenvolvimento	Número do repasto	Antes do repasto	Após o repasto	x peso corporal
1º estágio	1º	0,4	2,6	6,5 x
	2º	2,5	6,2	2,4 x
2º estágio	1º	1,4	11,5	8,2 x
	2º	6,6	10,3	1,5 x
	3º	7,7	11,0	1,4 x
3º estágio	1º	4,9	41,3	8,4 x
	2º	18,6	21,9	1,1 x
4º estágio	1º	16,4	85,1	5,1 x
	2º	49,4	67,1	1,3 x
	3º	22,8	38,7	1,6 x
5º estágio	1º	41,2	168,7	4,0 x
	2º	93,8	136,8	1,4 x
Machos	1º	64,4	146,4	2,2 x
	2º	72,0	98,8	1,3 x
	3º	63,2	140,5	2,2 x
	4º	85,9	123,1	1,4 x
	5º	87,4	131,7	1,5 x
	6º	120,9	180,0	1,4 x
	7º	131,9	174,6	1,3 x
Fêmeas	1º	58,1	137,4	2,3 x
	2º	58,4	180,9	3,0 x
	3º	74,3	174,9	2,3 x
	4º	96,1	173,1	1,8 x
	5º	139,0	205,0	1,4 x
	6º	157,1	222,4	1,4 x

4.3 Período de desenvolvimento das ninfas e longevidade dos adultos de *R. pictipes*

O período de desenvolvimento dos triatomíneos além de relacionado as condições ideais de temperatura e umidade, relaciona-se à fonte de alimento (LWOFF & NICOLLE, 1945; HACK, 1955). Vários autores registraram o período de desenvolvimento de diversas espécies de triatomíneos. Embora as condições climáticas e alimentares sejam distintas das estabelecidas no presente trabalho, torna-se significativo extrapolar as comparações, com intuito de estabelecer parâmetros ideais para manutenção de *R. pictipes* em laboratório, pois este é o primeiro experimento onde essa espécie foi mantida através de alimentação artificial.

Não houve diferença significativa nos períodos de desenvolvimento entre os grupos alimentados artificialmente e *in vivo* segundo o teste de Tukey para $p > 0,05$, embora algumas médias apresentem diferenças. O período médio de desenvolvimento dos insetos alimentados artificialmente foi superior em todas as fases ao registrado para os insetos alimentados em camundongos, exceto em relação às fêmeas que apresentaram período de sobrevivência menor que os machos (Tabelas 8 e 9). Do 1º ao 4º estádios, em ambos os grupos, os insetos necessitaram em média de menos de um mês para alcançar o estágio

seguinte, o que foi observado também para *R. neglectus* por PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ (1975), para *R. neivai* Lent, 1953 por CARCAVALLO e cols. (1976) e LENT & VALDERRAMA (1977), para *R. prolixus* por LENT & VALDERRAMA (1977) e para *R. pictipes* por SILVA & SILVA (1990). Também para ambos os grupos foram registrados para o 5º estágio períodos médios de 35 dias para a ocorrência da muda imaginal, aproximando-se dos resultados obtidos por OTERO e cols.(1976) que registraram média de 26 dias quando alimentados em galinhas, esse período foi nitidamente inferior ao registrado para essa mesma espécie por LENT & VALDERRAMA (*op. cit.*) que registraram uma média de 52,5 dias, por SILVA & SILVA (*op. cit.*) que observaram 51,1 dias em média e por ROCHA e cols. (1994) que registraram 107 dias em média.

Os machos e as fêmeas alimentados em camundongos apresentaram períodos médios de sobrevivência estatisticamente iguais, o que não ocorreu para o grupo controle, onde a sobrevivência dos machos foi superior a registrada para as fêmeas ($p < 0,05$).

Tabela 8 Duração das fases de desenvolvimento (em dias) de *R. pictipes* alimentado artificialmente através de membrana de silicone

Fases	Mín	Máx	X	Med	Moda	S	S ²	N
1º-estádio	16	23	18,87	17	16	3,35	11,25	41
2º-estádio	16	24	18,09	17	16	2,71	7,37	43
3º-estádio	14	35	20,60	22	22	4,68	21,92	45
4º-estádio	21	38	24,24	23	23	4,37	19,16	50
5º-estádio	26	70	35,00	32	32	8,92	79,68	45
Machos	46	116	77,50	83	46	21,45	460,46	30
Fêmeas	29	80	44,53	41	41	14,61	213,70	30

Tabela 9 Duração das fases de desenvolvimento (em dias) de *R. pictipes* alimentado em camundongos albinos

Fases	Mín	Máx	X	Med	Moda	S	S ²	N
1ºestádio	12	23	18,21	22	13	4,61	21,34	42
2ºestádio	13	27	15,85	14	13	3,05	9,34	47
3ºestádio	17	35	20,27	21	21	3,16	10,03	47
4ºestádio	19	52	23,38	21	19	6,18	38,24	50
5ºestádio	26	47	34,34	32	26	8,73	76,22	47
Machos	38	126	64,20	45	38	28,67	822,23	30
Fêmeas	12	103	64,56	67	65	28,04	786,52	30

4.4 Percentual de mortalidade de *R. pictipes*

No 1º estágio de 50 espécimes alimentados artificialmente, só 9 não atingiram o 2º estágio, o que representa uma taxa de mortalidade de 18%, próxima a obtida para o grupo controle que foi de 16% (Figs. 13 e 14). Essas taxas podem ser consideradas baixas se levarmos em conta fatores que dificultam a realização do primeiro repasto, como fragilidade do aparelho bucal, dificuldade para alcançar o hospedeiro (que muitas vezes se movimenta) e conseguir atingir um capilar. Embora esses dois últimos inconvenientes não existam na alimentação artificial, a referida fragilidade do rosto dos insetos nesta fase dificultou a alimentação e conseqüentemente o desenvolvimento. LENT & VALDERRAMA (1977) usando pombos como fonte alimentar constataram 33% de mortalidade durante todo o ciclo; resultados similares foram obtidos por ROCHA e cols. (1994) que registraram um percentual de mortalidade de 38% durante todo o ciclo, destacando porém, que 12% só no 1º estágio, utilizando pombos como fonte sanguínea. Taxas de mortalidade na faixa de 10 a 20% para o primeiro estágio vem sendo verificadas com frequência também em espécies dos gêneros *Triatoma*; *Panstrongylus* (Berg, 1859), *Dipetalogaster* Usinger, 1939 e *Cavernicola* Barber, 1937.

RABINOVICH (1972) estudando *T. infestans* registrou o maior índice de mortalidade no 1º estágio ninfal. FELICIANGELI & RABINOVICH (1985) alimentando *T. maculata* (Erichson, 1848) *in vivo* registraram mortalidade de 17,2% no 1º estágio. CORRÊA (1962) utilizando três fontes para alimentação de *T. infestans* observou percentuais de mortalidade no 1º estágio, distintos para cada uma, sendo 20,4% nos insetos alimentados em gambá, 11,5% em galinha e 5,7% em cão. COSTA & JURBERG (1990) observaram percentual de mortalidade de 30% em *C. lenti* Barrett & Arias, 1985.

Os percentuais de mortalidade nos dois grupos diminuíram durante o período de desenvolvimento até o 4º estágio onde não houve mortalidade. No 5º estágio os percentuais voltaram a crescer atingindo 10% na alimentação artificial e 6% na alimentação em camundongo. No 5º estágio foi observado em ambos os grupos o surgimento de insetos que morreram durante o processo de muda, não conseguindo livrar-se totalmente da exúvia, ocorrendo a quitinização do tegumento dentro da mesma, o que também tem sido observado por diversos autores para várias espécies (BARRETTO e cols., 1981; COSTA e cols.,

1987). As fêmeas alimentadas artificialmente sobreviveram por um período menor de dias (44,5 dias) em relação aos adultos de ambos os grupos.

Os bons resultados obtidos comparando-se os dois grupos utilizados, mostram que podemos otimizar a criação de *R. pictipes* em laboratório, através da alimentação artificial com uso de membrana de silicone, simplificando o manuseio da colônia. A membrana demonstrou ser de fácil manipulação e lavagem, apresentou textura uniforme, podendo ser reutilizada apresentando baixo custo. O comportamento dessa espécie em relação à membrana foi igual ao observado durante a alimentação em hospedeiros vivos. Esses resultados comparativos de desenvolvimento indicam que cada espécie possui diferentes adaptações às condições artificiais a que são expostas, e que somente os estudos individuais como esses podem esclarecer a dinâmica biológica de cada espécie e assim determinar os procedimentos que poderão ser utilizados em campanhas de controle e utilização de espécies em xenodiagnóstico.

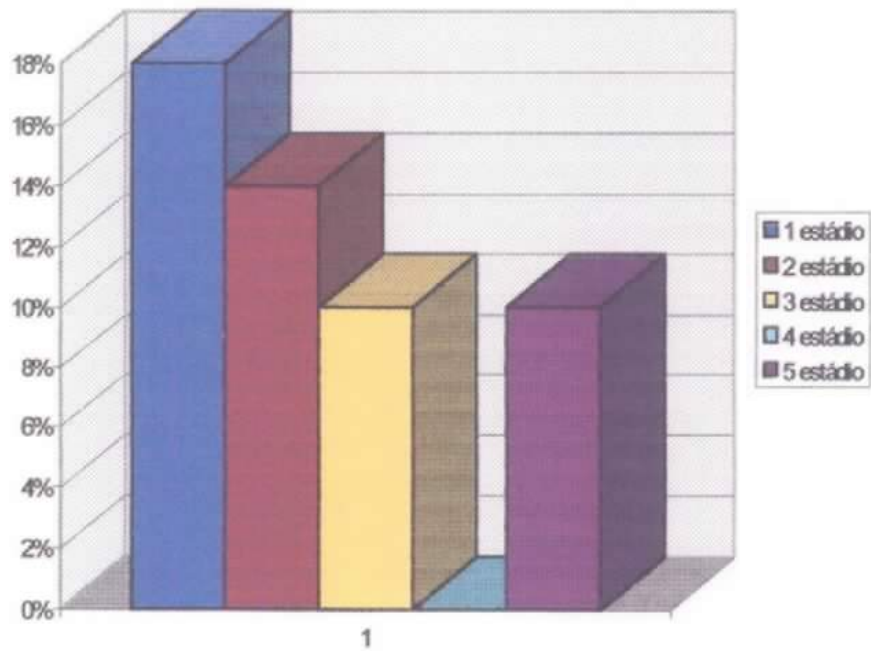


FIGURA 13 - Percentual de mortalidade de ninfas de *R. pictipes* alimentadas artificialmente através de membrana de silicone.

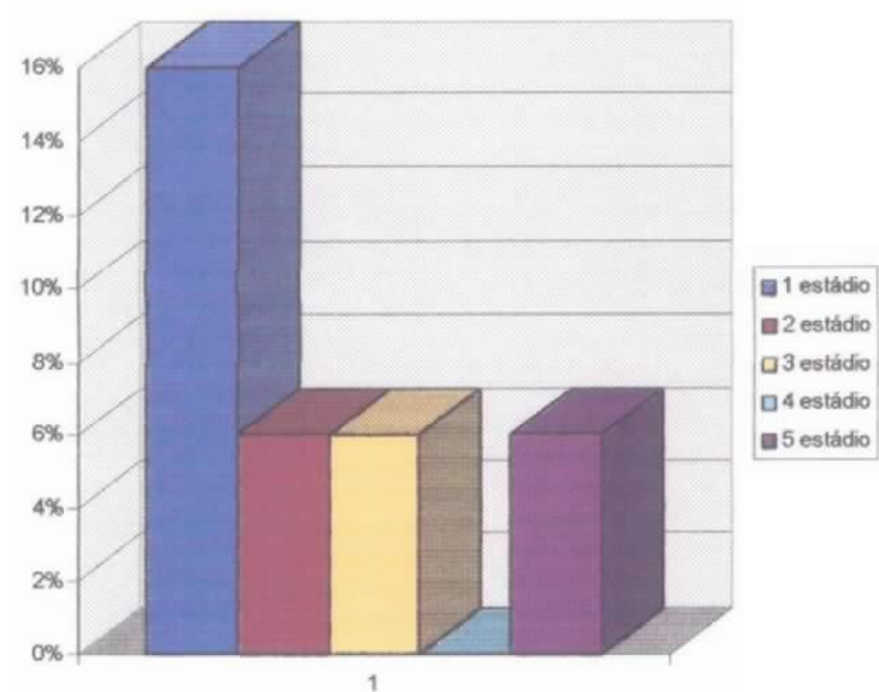


FIGURA 14 - Percentual de mortalidade de ninfas de *R. pictipes* Stal, 1872 alimentadas em camundongos albinos.

5. CONCLUSÕES

1. A membrana de silicone pode ser utilizada com eficiência na alimentação artificial de ninfas e adultos de *R. pictipes* e demonstrou ser importante modelo experimental.
2. Não houve diferença significativa entre os períodos de desenvolvimento das ninfas alimentadas artificialmente e das alimentadas sobre hospedeiros vivos (grupo controle).
3. O período de longevidade dos machos alimentados artificialmente foi superior a do grupo controle, porém, o das fêmeas foi ligeiramente inferior.
4. As ninfas alimentadas artificialmente necessitaram de menos repastos sanguíneos que as do grupo controle para realizarem a muda, exceto as do 3^o e 5^o estádios onde o número médio de repastos realizados foi um pouco superior aos obtidos para o grupo controle.

5. Machos e fêmeas alimentados artificialmente também realizaram menos repastos que os do grupo controle.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRETTO, A.C.; PRATA, AR.; MARSDEN, P.D.; CUBA, C.C. & TRIGUEIRA, C.P. 1981. Aspectos biológicos e criação em massa de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae). Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 23(1): 18-27
- BECKEL, W.E. & FRIEND, W.G. 1964. The relation of abdominal distension and nutrition to molting in *Rhodnius prolixus*. Can. J. Zool., 42: 71-78.
- BORZONE, R.A. 1949. El ojo almendrado y el xenodiagnóstico artificial en la investigación de la enfermedad de Chagas. Arch. Sec. Sal. Publ., 5:151-153.

- BRASILEIRO, V.L.F. 1984. Fecundidade e fertilidade das fêmeas de *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae). II. Influência da cópula e da nutrição. Rev. bras. Ent., 88(4): 441-449.
- BRASILEIRO, V.L.F. & PERONDINI, A.L.P. 1974. Biologia do *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) I. Tempo de sucção e repleção de ninfas de 4 ° e 5 ° estágio. Rev. bras. Ent., 18(2): 43-50.
- BRAZIL, R.P.; SILVA, A.R.; ALBARELLI, A. & VALE, J.R. 1985. Distribuição e infecção de triatomíneos por *Trypanosoma* do tipo *cruzi* na Ilha de São Luís, Maranhão. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 18: 257-260.
- BUTLER, J.F.; HESS, W.R.; ENDRIS, R.G. & HOLCHER, K.H. 1984. *In vitro* feeding of *Ornithodoros* ticks for rearing and assessment of diseases transmission pp. 1075-1081. In. D.A. Griffiths and C.E. Bowan (ed.), Acarology VI, vol. 2. Ellis Horwood. West Sussex, England.
- BUXTON, P.A. 1930. The biology of a blood sucking bug *Rhodnius prolixus*. Trans. Entomol. Soc. London, 78: 227-236.

CARCAVALLO, R.U. & MARTINEZ, A.M. 1985. Biología, ecología y distribución geográfica de los Triatomíneos Americanos (excepto *R. prolixus*, *P. megistus*, *T. dimidiata* y *T. infestans*) In: Factores biológicos en la Enfermedad de Chagas, OPAS, Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Argentina, Tomo 1 (n° especial de Chagas): 149-208.

CARCAVALLO, R.U.; SILVA, R.M.; OTERO, M.A.A. & TONN, R.J. 1975 Infección natural de *Rhodnius robustus* Larrouse y *Rhodnius pictipes* Stal por *T. cruzi* y *T. rangeli* en Venezuela. Bol.Dir. Malariol y San. Amb., (3-4): 117-120.

CARCAVALLO, R.U.; TONN, R.J. & JIMENEZ, J.C. 1976 Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera,Reduviidae) Bol. Dir. Malariol. y San. Amb., (2): 169-171.

CARVALHO, G. 1961. Método indireto para alimentação de insetos hematófagos. **Rev. Brasil. Biol.**, 21: 193-196.

CASTRO-FILHO, J. & SILVEIRA, A.C. 1979. Distribuição da doença de Chagas no Brasil. *Rev. Brasil. Malariol. D. trop.*, 31 85-98.

- CHAGAS, C. 1909. Nova tripanozomiaze humana. Estudos sôbre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp.; agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1: 159-218.
- COLIER, B; BOSQUE, C.; RODRIGUEZ, E. & RABINOVICH, J.E. 1977. The energy budget of *Triatoma phyllosoma* (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions. J. Med. Ent., 14(4): 425-433.
- CORRÊA, F.M.A. 1962. Estudo comparativo do ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* alimentado em diferentes animais (Hemiptera, Reduviidae). Papéis Avulsos do Deptº Zool. Sec. Agric. S.P., 15: 177-200.
- COSTA,C.H.N.; COSTA, M.T.; WEBER, J.N.; GILKS, G.F.; CASTRO,C. & MARSDEN, P. 1981. Skin reactions to bug bites as a result of xenodiagnosis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 75(3): 405-408.
- COSTA, J.M. & JURBERG, J. 1990. Estudos bionômicos de *Cavernicola lenti* Barrett & Arias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 85(3): 357-366.

- COSTA, J.M.; JURBERG, J. & ALMEIDA, J.R. 1987. Estudos bionômicos de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Hemiptera-Triatominae). II Influência da dieta sobre o ciclo biológico e resistência ao jejum. Mem. **Inst. Oswaldo Cruz**, **82:111-118**.
- CUNHA, R.A. da & MAC CORD, J.R. 1992. A practical device used for the artificial feeding of a small colonies of laboratory triatomines. J. Med. **Biol. Res.**, **25:895-897**
- EKKENS, D.B. 1981. Nocturnal flights of *Triatoma* (Hemiptera:Reduviidae) in Sabino Canyon, Arizona. I Light Collections. **J. Med. Entomol.**, **18:211-227**.
- FELICIANGELI, M.D. & RABINOVICH, J. 1985. Vital statistics of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae) under laboratory conditions. II. *Triatoma maculata*. **J. Med. Entomol.**, **22:43-48**
- FRIEND, W.G. & CARTWRIGTH, E. 1963. A practical apparatus for feeding artificial diets to all stages of *Rhodnius prolixus* (Stal). **Can. Entomol.**, **95: 362-364**.

- FRIEND, W.G.; CHOY, C.T.H.; CARTWRIGHT, E. 1965. The effect of nutrient intake on the development and the egg production of *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera:Reduviidae). Can. J. Zool., 43(6): 891-904.
- FRIEND, W.G. & SMITH, J.J.B. 1977. An apparatus for exchanging diets rapidly during artificial feedings of sucking insects. Can. Entomol., 109: 15-20.
- GARCIA, E.S.; MACARINI, J.D.; GARCIA, M.L.M. & UBATUBA, F.B. 1975. Alimentação de *Rhodnius prolixus* no laboratório. An. Acad. bras. Ciênc., 47: 537-545.
- GARDINER, B.O.C. & MADDRELL, S.H.P. 1972. Techniques for routine and large-scale rearing of *Rhodnius prolixus* Stal (Hem.,Reduviidae). Bull. Ent. Res., 61: 505-515.
- GOMEZ-NUÑEZ, J.C. 1964. Mass rearing of R. prolixus. Bull. W.H., 31: 565-567.
- GOODCHILD, A.J.P. 1955. Some observations on growth and egg production of the blood sucking Reduviids *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans*. Proc. R. Ent. Soc. London, 30: 137-144.

- HACK, W.H. 1955. Estudos sobre biologia del *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hem., Reduviidae). Ann. Inst. Med. Reg., 4: 125-147.
- HARINGTON, J.S. 1960. A simple apparatus for the artificial feeding of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). Parasitology, 50:273-277.
- JUAREZ, E. 1970. Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. Rev. Saúde públ. S. Paulo, 4:147-166.
- LANGLEY, P.A. & PIMLEY, R.W. 1978. Rearing triatominae bugs in the absence of alive host and some effects of diet on reproduction in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera, Reduviidae). BuII. Ent. Res.,68(2): 243-250.
- LEHANE, M.J. & SCHOFIELD, C.J. 1981. Field experiments of dispersive flight by *Triatoma infestans*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 75:399-400.
- LEHANE, M.J. & SCHOFIELD, C.J. 1982. Flight initiation in *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera:Reduviidae). BuII. Ent. Res., 72:497-510.
- LENT, H. & VALDERRAMA, A. 1977. Observações, em laboratório, sobre o ciclo evolutivo de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, *R. pictipes* Stal, 1872 e *R. neivai* Lent, 1953. Rev. Brasil. Biol., 37: 325-344.

- 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.
- LIMA, M.M. 1994. Letalidade de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae), vetores da doença de Chagas, alimentados em iscas contendo inseticidas sintéticos, sob condições de laboratório. Tese de doutorado, UFRRJ, Brasil.
- LIMA, M.M.; MENEZES, R.M.R. de; SANTOS, J.A.A. dos; BRAGA, M.V.; PINTO, Z.T. & ZICCARDI-SALLES, M.R. 1989. An apparatus for feeding triatomines. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84 (suppl.II): 112.
- LIMA, M.M.; REY, L. & MELLO, R.P. de 1991. Lethality of Triatomines (Hemiptera:Reduviidae), vectors of Chagas' disease, feeding on blood baits containing synthetic insecticides, under laboratory conditions. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 33(6): 427-433.
- LIMA, M.M.; REY, L. & MELLO, R.P. de 1992. Lethal effect of a bait for *Rhodnius prolixus* (Hemiptera:Reduviidae), the vector of Chagas' disease, containing hexachlorocyclohexane (HCH), under laboratory conditions. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 34(4): 295-301.

- LWOFF, M. & NICOLLE, P. 1945. Necessité de l'hematine pour la nutrition de *Triatoma infestans*, Klug (Réduvidé, hématophage). C. R. Soc. Biol. (Paris), **139: 879-881.**
- MAC CORD, J.R.; PERES-MARQUES, L.M. & JURBERG, P. 1990. Alternative methods for the feeding of triatomines under laboratory conditions. *Rev. Brasil. Biol.*, **50(3): 685-688.**
- Mc EWEN, P.K. & LEHANE, M.J. 1993. The effect of varying feed interval on nymph development, subsequent adult flight behaviour and autogeny, in the triatominae bug *Triatoma infestans* (Klug) (Hem., Reduviidae). *J. Appl. Ent.*, **115: 90-96.**
- MILES, M.A.; ARIAS, J.R. & SOUZA, A.A. 1983. Chagas' disease in the Amazon Basin: V periurban palms as habitats of *Rhodnius robustus* and *Rhodnius pictipes* Triatominae vectors of Chagas' disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **78: 391-398.**
- MOTT, K.E.; FRANÇA, J.T.; BARRETT, T.V.; SILVA DE OLIVEIRA, T. & SHERLOCK, I. 1980. Cutaneous allergic reactions to *Triatoma infestans* after xenodiagnosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **75(3-4): 3-10.**
- NEIVA, A. 1910. Informações sobre a biologia do *Conorhinus megistus* Burm. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2(2): 206-212.**

- NUSSENZVEIG, V. & SONNTAG, R. 1952. Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. Rev. Paul. Med., 40: 41-43.
- NYIRADY, S.A. 1973. The germfree culture of three species of Triatominae: *Triatoma protracta* (Uhler); *Triatoma rubida* (Uhler) and *Rhodnius prolixus* Stal. J. Med. Ent., 10(5): 417-448.
- OTERO, A.M.A.; CARCAVALLO, R.U.; TONN, R.J. 1976. Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Rhodnius pictipes* Stal, 1872 (Hemiptera, Reduviidae). Bol. Dir. Malariol. y San. Amb., 16: 163-168.
- PACHCKANIAN, H.A. 1948. The fate of *Leishmania donovani* and *Leishmania tropica* in the reduviid blood-sucking insect, *Triatoma*. Amer. J. Trop. Med., 28: 537-539.
- PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. 1975. Laboratory colonies of Triatominae, biology and population dynamics. In: American Tripanosomiasis Research. PAHO, Science. Publ. 318: 63-82.
- PIERCE, A.E. & PIERCE, M.H. 1956. A note on the cultivation of *Boophilus mtcroplus* (Canestrini, 1887) (Ixodoidea: Acarina) on the embrionated egg. Aust. Vet. J., 32: 144-146.

- PINTO, Z.T.; LIMA, M.M. & REY, L. 1992. Feeding behavior of different species of Chagas' disease vectors stimulated with blood sources at different temperatures. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, **25**: 19-22.
- PRATT, G.E. & DAVEY, K.G. 1972. The corpus allatum and oogenesis in *Rhodnius prolixus*. III. The effect of mating. *J. Exp. Biol.*, **56**: 223-237.
- RABINOVICH, J.E. 1972. Vital statistics of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans* Klug. *J. Med. Ent.*, **9**: 351-370.
- REGIS, L. 1979. The role of the blood meal in egg-laying periodicity and fecundity in *Triatoma infestans*, *Internat. J. Invert. Reprod.*, **1**:187-195.
- ROBERTS, E.W. 1950. Artificial feeding of *Culicoides nubeculosus* in the laboratory. *Nature*, **166**:700-704.
- ROCHA, D.S.; GALVÃO, C. & JURBERG, J. 1994. Biologia do *Rhodnius pictipes* Stal, 1872 em condições de laboratório (Hemiptera,Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **89** (2): 265-270.

- RODRIGUEZ, D. & RABINOVICH, J.E. 1980. The effect of density on population parameters of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions. J. Med. Entomol., 17(2): 165-171.
- ROMANA, C. & GILL, J. 1947. Xenodiagnóstico artificial. An. Inst. Med. **Reg., 2:** 57-60.
- RYCKMAN, R. 1952. Laboratory culture of *Triatominae* with observations on the behavior and new feeding device. Journ. Parasit., 37(5): 433-434.
- RYCKMAN, R. & RYCKMAN, A.E. 1977. Reduviid bugs pp: 183-200. In: Insect Colonization and Mass Production. C.N.S. Ed. 618 pp. New York, Academic Press.
- SALAMA, H.S. 1966. Teste sensitivity to some chemicals in *Rhodnius prolixus* (Stal) and *Aedes aegypti* (L.). J. Insect Physiol., 12: 583-589.
- SANCHEZ, E.D.D.I.D. & KATZIN, V. 1980. *Triatoma infestans*: influência de la alimentacion artificial sobre su ciclo de vida. Medicina (Buenos Aires), 40 (suplI): 207-212.

- SCHOFIELD, C.J. 1982. The role of blood intake in density regulation of populations of *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera:Reduviidae). *Bull. Ent. Res.*, **72:617-629**
- SERRA, O.P.; SERRA, R.G. & VON ATZINGEN N.C.B. 1980. Contribuição ao conhecimento da fauna triatomínica da Amazônia - Região de Marabá, no estado do Pará, Brasil (Hemiptera, Triatominae). V Congresso Brasileiro de Parasitologia. Rio de Janeiro, Brasil.
- SILVA, I.G. & SILVA, H.H.G. 1990. Influência da temperatura na biologia de triatomíneos. XIV *Rhodnius pictipes* Stal,1872 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Pat. Trop.*, 19: 151-157.
- SILVA, I.G.; SILVA, J.L.; SILVA, H.H.G.; CAMARGO, M;F.; MOURA, A.F.; ELIAS, M. & SANTOS, A.H. 1992. Distribuição dos vetores da tripanossomíase americana capturados no ambiente domiciliar, no Estado de Goiás, no período de 1984/88. *An. Soc. Ent. Brasil.*, 21 : 139-154.
- SILVEIRA, A.C.; FEITOSA, V.R.; BORGES, R. 1984. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/83, Brasil. *Rev. Brasil. Malariol. D. trop.*, 36:15-312.
- TEO, S.K. & CHEAH, J.S. 1973. Severe reaction to the bite of *T. rubrofasciata* in Singapore. *J. Trop. Med. Hyg.*, 76: 161-162.

- WETZEL, H. 1979. Artificial membrane for *in vitro* feeding of piercing-sucking arthropods. *Entomol. Exp. Appl.*, 25:117-119.
- WHO. 1991. Control of Chagas' disease. WHO Technical report series 811, World Health Organization, Geneva, 95 pp.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1939. The principles of Insect Physiology. Methuen & Co. Ltd., 434 pp., London.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1960. Nutrition and reproduction in insects. *Proc. Nutr. Soc.*, 19:18-23.
- WOOD, S.F. 1975. Reaction of man to feeding of *Triatoma protracta* (Hemiptera, Reduviidae). *Nat. Pest Control Operator News* (feb): 19-21.
- WURTZ, R.A. & RUTLEDGE, L.C. 1980. Reconstituted collagen sausage casing for the blood feeding of mosquitoes. *Mosquito News*, 40: 287-288.
- ZELEDÓN, R. & RABINOVICH, J.R. 1981. Chagas' disease: An ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. *Ann. Res. Entomol.*, 26:101-133.

ZELEDON, R.; GUARDIA, V.M.; ZUINIGA, A. & SWARTZWELDER, J.
1970 a. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). I.
Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation and size of
adults, a. Med. Ent., 7 (3): 313-319.

ZELEDON, R.; GUARDIA, V.M.; ZUNIGA, A. & SWARTZWELDER, J.
1970 b. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). II.
Life span of adults and fecundity and fertility of females. J. Med. Ent.,
7(4): 462-469.