

ANA CRISTINA RENNA DE VITTA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS GLÂNDULAS DE BRINDLEY E
METASTERNAIS, IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DAS SUAS SECREÇÕES E
COMPORTAMENTO SEXUAL EM *Triatoma brasiliensis*
(REDUVIIDAE, TRIATOMINAE).**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para a obtenção do
título de “Magister Scientiae”.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005**

ANA CRISTINA RENNA DE VITTA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS GLÂNDULAS DE BRINDLEY E
METASTERNAIS, IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DAS SUAS SECREÇÕES E
COMPORTAMENTO SEXUAL EM *Triatoma brasiliensis*
(REDUVIIDAE, TRIATOMINAE).**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para a obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2005.

Dr. José Eduardo Serrão
(Conselheiro)

Dr. Marcelo Gustavo Lorenzo
(Co-orientador)

Dra. Liléia Diotaiuti

Dr. Marcos Horácio Pereira

Dr. Evaldo Ferreira Vilela
(Orientador)

Há duas tendências no universo: uma realidade que se transforma
numa realidade que se desfaz.
Uma é a vida e a outra é a matéria.

Henri Bergson

Ao meu Pai e meu maior Mestre, Carlos de Vitta, exemplo de força e
sabedoria.

À minha mãe, Terezinha Renna de Vitta (*in memoriam*), que
permanece pulsando em nós.

Dedico

Ao Fred, por existir.

Aos meus irmãos, Dri, Cazerrique, Dido e Marisa por todo amor, compreensão e paciência, por todas as alegrias passadas e futuras.

Aos meus queridos sobrinhos, pelo amor incondicional.

Ao Tio Aníbal

Agradecimentos

À Dra. Liléia Diotaiuti, pela minha primeira oportunidade de estágio e primeira orientação, pelo exemplo de força e coragem, pela confiança e pelas horas de descontração no laboratório de triatomíneos.

Ao Dr. Marcelo G. Lorenzo, por ter me mostrado a beleza da Fisiologia do Comportamento em insetos, pela constante orientação, amizade, e acima de tudo, pelo entusiasmo científico transmitido.

Ao meu conselheiro Dr. José Eduardo Serrão, por me transmitir sua paixão pela morfologia, pelos conselhos e sugestões, pela simplicidade e carinho.

Ao Dr. Eraldo R. Lima, pela acolhida, orientação, amizade, confiança, por nos apresentar o efeito de um bom tempero e principalmente pelas incansáveis discussões científicas.

Ao Dr. Evaldo F. Vilela pela oportunidade, atenção, orientação, pelo aconselhamento e permanente incentivo.

Ao Dr. Carlos Zani, pela colaboração, paciência e apoio durante a realização dos trabalhos de Cromatografia Gasosa.

Ao Dr. Ângelo Pallini, Dra. Teresinha Della Lúcia e Dr. José Henrique Shoeder do Departamento do Curso de Pós-graduação em Entomologia – UFV, pelo incentivo e apoio.

Ao Dr. Claudio Lazzari pelos ensinamentos e acolhida em Buenos Aires.

À direção do Centro de Pesquisas René Rachou, nas pessoas do Roberto Sena Rocha e Álvaro Romanha.

Aos colegas do Laboratório de Feromônio da UFV: Bianca, Tito, Angela,

Marcy, Gabriela, Ailton, Aline, Sérgio e Ethel pela recepção, cooperação e convívio que tornou minha passagem mais agradável e Feliz.

Aos antigos e inesquecíveis colegas do Laboratório de Triatomíneos: Tim, Ale, Silvinha, Érika, Evandro, Dani, Cynthia, Angélica, Raquel, Rita, D. Maria e João Paulo, pela cumplicidade e aprendizado.

Aos novos colegas e companheiros do Laboratório de Triatomíneos: Théo, Carlota, Alexandre, Gina, Tessa, Violeta, Jordana, Fernando, Marcos, Grasiela e Caetano pelo entusiasmo.

Aos meus sempre amigos de Belo Horizonte, Silvana, Dani e Alexandre, Rejane, Brunão, Fabiano e Tiago pelo carinho e força a distância.

À Maria Ângela, Nanda e Juninho, minha mais nova e eterna família, amo vocês.

À minha amiga Raquel Ferreira Aparecida pelo apoio, respeito e pelos lindos e difíceis momentos que passamos.

Aos funcionários do CPqRR - FIOCRUZ, Jacir, Juca, Dorinha, pela atenção, carinho e disposição.

À Inês, pela ajuda indispensável à distância, pelo cuidado, pelos atrasos suportados e pelo cafezinho nas horas vagas.

Aos colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais do CpqRR: Camila, Dr. Tânia, Antônia, Elaine, Luís, Márcia e Carolina por tornar meus trabalhos de cromatografia tão agradáveis.

A minha irmã de coração Luciana Renna Alves.

Aos queridos funcionários da Universidade Federal de Viçosa, especialmente, Manoel, Adão e Juliano pela ajuda constante, carinho, atenção e

acima de tudo pela humildade e dedicação.

À Paula, nossa “Santa Paula”, pela presença, simpatia, paciência e pelos imprevistos bem bordados.

A minha eterna amiga Kelly G Magalhães, pelas palavras de força, encorajamento e pelas inúmeras provas de amizade e carinho.

Aos grandes amigos que Viçosa me presenteou, Bigode, Teresa, Rute, Lelê, Falcão, César, Carlos, Jeane, Eraldo, Nerilda, Rogerinho e Carla Ribas, pela amizade, simplicidade e verdade.

Ao CNPq, UFV e CPqRR-FIOCRUZ, pelo financiamento deste projeto.

A todos os animais de experimentação, sem os quais este trabalho não teria existido.

A todos, enfim, que auxiliaram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho, os meus agradecimentos.

Índice de Tabelas	x
Índice de Figura.....	xi
Resumo.....	xiii
Abstract.....	xv
1.0 Introdução Geral.....	17
1.1 Doença de Chagas.....	18
1.2 Triatomíneos.....	19
1.3 <i>Triatoma brasiliensis</i>	21
1.4 Glândulas Exócrinas.....	24
1.5 Ecologia Sensorial.....	29
1.6 Comunicação Química.....	30
1.7 Comunicação Química em Heteroptera.....	31
1.8 Comunicação Química em Triatominae.....	34
2.0 Objetivos.....	36
2.1 Objetivos Gerais.....	37
2.2 Objetivos Específicos.....	37
3.0 CAPÍTULO 1. Caracterização morfológica das glândulas metasternais e Brindley	38
3.1 Introdução.....	38
3.2 Materiais e Métodos.....	42
3.2.1 Insetos.....	42
3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	42
3.2.3 Histologia.....	43
3.3 Resultados.....	43
3.3.1 MEV das glândulas de Brindley e Metasternal.....	43
3.3.2 Histologia das Glândulas de Brindley.....	49
3.3.3 Histologia das Glândulas Metasternais.....	49
3.4 Discussão.....	58
4.0 CAPÍTULO 2. Caracterização química do conteúdo das glândulas exócrinas.....	63
4.1 Introdução.....	63

4.2	4.2 Materiais e Métodos.....	66
4.2.1	4.2.1 Insetos.....	66
4.2.2	4.2.2 SPME.....	67
4.2.3	4.2.3 Identificação glândulas.....	67
4.2.4	4.2.4 Identificação insetos perturbados.....	68
4.2.5	4.2.5 Análise por CG-EM.....	69
4.2.6	4.2.6 Análise Estatística.....	70
4.3	4.3 Resultados.....	70
4.3.1	4.3.1 Conteúdo das glândulas de Brindley.....	70
4.3.2	4.3.2 Conteúdo das glândulas metasternais.....	70
4.3.3	4.3.3 Conteúdo liberado após a perturbação mecânica.....	71
4.4	4.4 Discussão.....	81
5.0	CAPÍTULO 3. Comportamento sexual em <i>Triatoma brasiliensis</i>.....	87
5.1	5.1 Introdução.....	87
5.2	5.2 Materiais e Métodos.....	90
5.2.1	5.2.1 Comportamento de acasalamento.....	91
5.2.2	5.2.2 Maturação sexual.....	91
5.3	5.3 Resultados.....	92
5.3.1	5.3.1 Comportamento de acasalamento.....	92
5.3.2	5.3.2 Maturação sexual.....	95
5.3.3	5.3.3 Discussão.....	98
6.0	Discussão Geral.....	105
7.0	Conclusão Geral.....	110
8.0	Referências Bibliográficas.....	113

Índice de Tabelas

1. Compostos identificados no *headspace* das glândulas de Brindley de macho e fêmea de *Triatoma brasiliensis*. 74
2. Compostos identificados no *headspace* das glândulas metasternais de macho e fêmea de *Triatoma brasiliensis*. 76
3. Compostos encontrados no *headspace* de fêmeas e machos de *Triatoma brasiliensis* perturbados mecanicamente. 78

Índice de Figuras

1. Área geográfica onde espécies de <i>T. brasiliensis</i> Neiva, 1911 foram capturadas no Brasil.	23
2. Glândulas metasternais dos Heteroptera (Brindley 1930).	28
3. Desenho esquemático mostrando os tipos de unidade glandular do Tipo “A” e “B” (modificado de Wigglesworth 1933).	40
4. Desenho esquemático mostrando os tipos de aparelho metatorácico dos Hemiptera e sua provável evolução (Carayon, 1971).	42
5. Micrografia eletrônica da glândula de Brindley de <i>T. brasiliensis</i> .	46
6 a 8. Micrografia Eletrônica de Varredura da glândula metasternal de <i>T. brasiliensis</i> . Vista interna do metatórax mostrando a cavidade metacoxal (CM).	47
9 a 16. Cortes histológicos da glândula de Brindley.	51
17 a 19. Cortes Histológicos da glândula metasternal de <i>T. brasiliensis</i>	56
21. Cromatograma das substâncias amostradas, por meio da técnica de SPME, nas glândulas de Brindley de fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> .	71

22. Cromatograma das substâncias amostradas, por meio da técnica de SPME, nas glândulas metasternais de fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> .	73
23. Cromatograma das substâncias voláteis liberadas após a perturbação mecânica de fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> amostradas por meio da técnica de SPME.	75
24. Gráfico de abundância relativa do 3-pentanol nas glândulas metasternais de machos (M) e fêmeas (F) de <i>T. brasiliensis</i> .	77
25. Gráfico de abundância relativa dos compostos presentes nas glândulas metasternais de machos e fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> .	78
26. Gráfico de abundância relativa dos compostos presentes nas glândulas de Brindley de machos ou fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> .	79
27. Frequência relativa da ocorrência dos diferentes tipos de comportamento de rejeição exibidos pelas fêmeas de <i>T. brasiliensis</i> .	95
28. Número médio de tentativas por casal em função da idade .	97
29. Porcentagem diária de rejeições (●) e porcentagem diária de fêmeas que copularam (o) em função da idade pós-alimentação (N=10).	98

RESUMO

VITTA, Ana Cristina Renna de. M.S. Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro 2005. **Caracterização morfológica das glândulas de Brindley e metasternais, identificação química das suas secreções e comportamento sexual em *Triatoma brasiliensis* (Reduviidae, Triatominae).** Orientador: Evaldo Ferreira Vilela. Co-orientador: Marcelo Gustavo Lorenzo. Conselheiro: José Eduardo Serrão.

As glândulas exócrinas de *T. brasiliensis* foram analisadas do ponto de vista morfológico e histológico no presente trabalho. Insetos adultos de *Triatoma brasiliensis* apresentam dois pares de glândulas exócrinas produtoras de voláteis: as glândulas metasternais, localizadas no metatoráx ventral e as glândulas de Brindley, situadas no metatórax lateral superior. Nossos resultados descrevem pela primeira vez detalhes histológicos e morfológicos destas glândulas em *Triatoma brasiliensis*. Em ambas glândulas metasternais e de Brindley as células secretoras seriam do tipo III, segundo classificação proposta por Noirot & Quenedey (1991). A glândula metasternal apresenta sensilas tricóides na região próxima à sua abertura externa. No citoplasma de suas células secretoras foram encontrados grânulos fortemente corados, sugerindo que esta glândula produz substâncias diferentes daquelas produzidas pelas glândulas de Brindley, que apresentam vacúolos não corados, indicando ausência de grânulos. Uma mistura de cinco ácidos graxos foi identificada: ácido acético; ácido propanóico; ácido isobutírico; ácido butírico e ácido 2-metil-butírico. O componente mais abundante foi o ácido isobutírico e nenhuma diferença qualitativa ou quantitativa entre os sexos foi observada em relação ao seu conteúdo. Nossos resultados também demonstram que as glândulas metasternais de *T. brasiliensis* estão envolvidas na síntese de substâncias voláteis. Estas glândulas produzem basicamente álcoois e cetonas, sendo que o principal constituinte encontrado nas glândulas de ambos os sexos foi a 3-pentanona. Durante a perturbação mecânica, adultos de *T. brasiliensis* liberam uma mistura de 10 componentes diferentes, constituída por ácidos, cetonas e álcoois, incluindo substâncias provenientes das glândulas metasternais e de Brindley. Paralelamente, foi analisando o comportamento sexual de *T. brasiliensis*. Observamos que a cópula tem uma duração média de 6 ± 7

min. Fêmeas desta espécie apresentaram somente três tipos de comportamento de rejeição frente às tentativas de cópula dos machos como o achatamento corporal, os movimentos abdominais e a evasão. O número de tentativas de cópula realizadas pelos machos variou em função da idade. A análise do comportamento das fêmeas revelou que o número de rejeições em resposta às tentativas dos machos se manteve igual durante o período pré-alimentação, não sendo afetado pela sua idade. No período pós-alimentação foi observada uma mudança gradual na porcentagem de tentativas de cópula rejeitadas pelas fêmeas que, diminuiu gradativamente até atingir 0 %. Sugere-se que algum mecanismo comportamental desencadeado na fêmea dias após alimentação esteja determinando a ausência de rejeições e conseqüente aceitação da cópula em *T. brasiliensis*. A importância destes resultados com relação ao comportamento destes insetos, e particularmente no contexto sexual, é discutida.

ABSTRACT

VITTA, Ana Cristina Renna de. M.S. Universidade Federal de Viçosa, February 2005. **Morphologic characterization of the glands of brindley and metasternalis, chemical identification of its secretions and sexual behavior in *Triatoma brasiliensis* (Reduviidae, Triatominae).** Adviser: Evaldo Ferreira Vilela. Co-adviser: Marcelo Gustavo Lorenzo. Committee Members: José Eduardo Serrão.

Adults of *Triatoma brasiliensis* (Reduviidae) show two pairs of exocrine glands: the metasternal and the Brindley glands. The first one is located in the ventral part of the metathorax, while Brindleys glands are found in the lateral part of the superior metathorax. In both glands, the secretory cells correspond to type III, according to the classification of Noirot & Quenedey (1991). Metasternal glands present tricoid sensilla next to their external opening. In the cytoplasm of the secretory cells of these glands granules strongly stained were usually found, suggesting that these glands produce different substances than those of Brindleys glands. The substances found in the secretion of the Brindleys glands of *T. brasiliensis* were identified for the first time, as a mixture of five fatty acids: acetic; propanoic; isobutyric; butyric and 2-methyl-butyric acids. Isobutyric acid was found to be the most abundant compound and no qualitative or quantitative differences were observed in relation to gland contents for both sexes. Our results demonstrated that the metasternal glands of *T. brasiliensis* are also involved in the synthesis of volatile substances. These glands produce basically ketones and alcohols, 3-pentanone was the major constituent of the mixture found in these glands for both sexes. After their mechanical disturbance, adults of *T. brasiliensis* emitted a mixture of 10 different compounds consisting of ketones, alchools and fatty acids, including substances from both metasternal and Brindleys glands,. Finally, we analyzed the sexual behavior of *T. brasiliensis*: the copula last, in average, 6 ± 1 min and the number of male attempts to copulate varied according to the insect age. Females of *T. brasiliensis* showed three types of rejection in response to male attempt to copulate: flattening, abdominal movements and evasion. The analysis of the female behavior revealed that the number of

rejections in response to male attempts stayed the same during the pre-feeding period. After feeding a gradual decrease in the number of rejections was observed, diminishing until reaching zero rejection at approximately the day 8 post-feeding. We suggest a behavioral mechanism in the female, after feeding, that may trigger the acceptance of the male attempt to copulate in *T. brasiliensis*. The relevance of the results for understanding the behavioral repertoire of the specie, particularly in the sexual context, is discussed.

1.0. Introdução Geral

1.1. Doença de Chagas

Os triatomíneos apresentam importância médica por serem os transmissores do *Trypanosoma cruzi* Chagas (1909), um protozoário flagelado que atua como agente etiológico da doença de Chagas. Esta doença pode causar graves debilitações devido a lesões no coração, como a síndrome de insuficiência cardíaca progressiva, a insuficiência cardíaca fulminante, as arritmias graves, ou a morte súbita. Além disso, podem também ocorrer lesões ao longo do trato digestivo com alterações da motilidade e morfologia, sendo megacólon e megaesôfago as manifestações mais comuns (Dias 1987). A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, descoberta por Carlos Chagas em Lassance, Minas Gerais, em 1909, é uma zoonose que afeta de 16 a 18 milhões de pessoas na América Latina, onde mais de 100 milhões estão expostas a risco de infecção (Coura 2002).

Originalmente, a doença de Chagas é uma enzootia de animais silvestres, onde mais de 100 espécies entre marsupiais, quirópteros, roedores, edentados, carnívoros, logomorfos e primatas podem ser encontradas infectadas com *T. cruzi*. Numerosas espécies de triatomíneos silvestres transmitem o *T. cruzi* entre eles, mantendo o ciclo silvestre da infecção (Dias 2002).

O processo de entrada dos triatomíneos no domicílio humano dependeu provavelmente de um fator fundamental: a necessidade alimentar do barbeiro. O desmatamento e o conseqüente desaparecimento progressivo dos animais silvestres, que são suas fontes naturais de alimentação, promoveram a invasão dos triatomíneos nos peridomicílios e domicílios humanos, onde começaram a se alimentar do sangue dos animais domésticos e do homem (Aragão 1983, Forattini 1980).

A partir desta situação, o ciclo doméstico iniciou-se e as populações rurais dos países da América Latina foram grandemente afetadas pela doença. Nos últimos 20 anos, desenvolveu-se um importante trabalho de controle do *Triatoma*

infestans, o principal vetor da doença de Chagas nos países do Cone Sul (Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai). A partir de 1991, com a chamada “Iniciativa do Cone Sul”, obteve-se um significativo impacto no controle da doença (Dias *et al.* 2002). Uruguai e Chile foram, formalmente, certificados como livres da transmissão da doença de Chagas humana, respectivamente em 1997 e 1999. No Brasil, em 1983, 711 municípios de 11 estados estavam infestados pelo *T. infestans*. O número de municípios reduziu-se para pouco mais de 100 em 1997, limitando-se a presença do vetor a alguns estados. Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Rio de Janeiro, São Paulo e, mais recentemente, Minas Gerais foram certificados como livres do *T. infestans* (Coura 2002).

Embora existam diversas formas de transmissão da doença, como a transfusional, congênita, via transplante de órgãos, acidentes de laboratório, entre outras, aquela que realmente responde pela manutenção da endemia nas zonas rurais da América Latina é a transmissão vetorial, que representa cerca de 80% da transmissão total do *T. cruzi* (Schofield 1994).

Os novos espaços resultantes da ação humana, em geral, são muito pouco propícios à fauna triatomínica e aos reservatórios naturais de *T. cruzi*, por tratar-se de áreas desmatadas, lavouras extensivas de monocultura introduzida e pastagens, ambas com uso intensivo de pesticidas. Porém, as exceções ficam por conta dos peridomicílios e domicílios humanos em regiões rurais socialmente mais deprimidas, que por suas características físicas e de baixa higiene tendem a albergar colônias de algumas espécies de triatomíneos como *Triatoma sordida*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma dimidiata* (Dias 2004), entre outras.

1.2. Triatomíneos

Os triatomíneos pertencem à família Reduviidae, subfamília Triatominae, que de acordo com Galvão *et al.* (2003) e com base em características morfológicas apresenta 137 espécies agrupadas em 14 gêneros. A principal característica comum entre os Triatomíneos é a hematofagia, que é característica

de todas as espécies, sendo que as cinco fases ninfais e a fase adulta necessitam de repastos sanguíneos para completar o seu desenvolvimento e reprodução. Nos animais hematófagos, a ingestão de sangue de hospedeiros móveis, que podem se defender ativamente está associada com a evolução de adaptações morfológicas e fisiológicas convergentes que facilitam o encontro preciso do hospedeiro e, em geral, uma rápida alimentação e a ingestão ocasional de grandes volumes de sangue (Friend & Smith 1985).

Os triatomíneos são ectoparasitas temporários e o único contato que mantêm com seus hospedeiros restringe-se ao período do repasto. Assim como outros artrópodes sugadores de sangue, estes insetos desenvolveram nas suas glândulas salivares uma grande diversidade de componentes anti-hemostáticos altamente eficientes, como anticoagulantes e vasodilatadores, que são introduzidos nos hospedeiros no momento da picada como parte da saliva, (Ribeiro 1987). Seu aparato bucal está adaptado para a penetração na pele do hospedeiro, para o encontro dos vasos sanguíneos apropriados e para alimentação rápida. Os triatomíneos podem subsistir sem se alimentar por longos períodos de tempo sem desidratar-se ou aparentemente, sem sofrer danos fisiológicos aparentes (Friend & Smith 1985).

O hábito hematofágico então, evoluiu dentro de um cenário de grande diversidade fisiológica em relação ao tipo de hemostasia que o hospedeiro possui, já que estes insetos são capazes de se alimentar numa enorme variedade de hospedeiros que incluem mamíferos, aves, répteis e anfíbios. Isto resultou em uma variedade de agentes anti-hemostáticos, ou seja, derivou no uso de misturas de substâncias desenvolvidas para permitir desarmar a hemostasia dos diversos hospedeiros (Ribeiro *et al.* 1998).

Nos ambientes naturais os triatomíneos são encontrados em associação com diversos tipos de animais silvestres (Sherlock 1979) e seu habitat primário está representado por abrigos, tocas e ninhos de animais de sangue quente como marsupiais, edentados, roedores, carnívoros, morcegos, aves, répteis e anfíbios. (Lent & Wygodzinsky 1979).

No Brasil foram identificadas até o momento pelo menos 44 espécies de triatomíneos, sendo a maioria delas silvestres. Destas, cinco espécies são consideradas domiciliadas, pois apresentam capacidade de colonizar as habitações humanas e, portanto, têm importância epidemiológica. O principal vetor, *T. infestans* Klug (1834), apresentava uma distribuição que se estendia do Rio Grande do Sul até Pernambuco, Paraíba e Piauí, porém, após seu controle restam somente focos residuais nos estados da Bahia e o Rio Grande do Sul (Dias, 2002).

Atualmente o principal vetor no sudeste, o *P. megistus* Burmeister (1835), distribui-se desde os estados do Nordeste até a região Sul. Em Santa Catarina e Rio de Janeiro esta espécie é silvestre e em vários estados do Nordeste pode ser encontrada nos ambientes domiciliar ou silvestre.

O *T. brasiliensis* Neiva (1911) e o *T. pseudomaculata* Côrrea e Espínola (1964), espécies predominantes no Nordeste, vivem no ambiente silvestre e são encontrados dentro e fora dos domicílios humanos. Finalmente, o *T. sordida* Stal (1859) se apresenta fundamentalmente nos ambientes silvestre e peridoméstico, do Rio Grande do Sul ao Piauí, mas é considerado um vetor de importância secundária (Dias 2004).

1.3. *Triatoma brasiliensis*

T. brasiliensis é atualmente o principal vetor da doença de Chagas na região Nordeste do Brasil, encontrando-se amplamente distribuído pelos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe, Maranhão e Rio Grande do Norte, além de Tocantins e Minas Gerais (Silveira *et al.* 1984). No ambiente silvestre encontra-se associado a abrigos de mamíferos (roedores, morcegos, marsupiais) transmitindo o *T. cruzi* a esses animais, dentro de rachaduras e em formações rochosas típicas daquele ambiente (Alencar 1987). Esta espécie é capaz de invadir freqüentemente o ambiente domiciliar formando colônias e transmitindo o *T. cruzi* ao homem e outros hospedeiros domésticos. O

fato deste triatomíneo apresentar populações silvestres o diferencia do *T. infestans*, espécie exclusivamente domiciliar considerada principal transmissora da doença no Brasil até meados de 1998 (Dias & Vinhaes, 2000).

O *T. brasiliensis* é uma espécie capaz de produzir grandes colônias intradomiciliares, podendo estar presente em todos os cômodos, apresentando provas positivas de sangue humano no teste de precipitina em quase todos os ecótopos artificiais pesquisados (Diotaiuti *et al.* 1996). Em inquérito entomológico realizado no Brasil pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) entre 1975 e 1982, o *T. brasiliensis* mostrou-se como a quinta espécie mais capturada nos domicílios rurais do país, com um índice de infecção pelo *T. cruzi* de 6,7%. Em inquérito posterior, realizado em 1997, para eliminação das espécies intradomiciliares, o número de capturas do *T. brasiliensis* foi reduzido em 44,4% e os índices de infecção pelo *T. cruzi* caíram para 1,44% (Dias 2002).

Para esclarecer a importância epidemiológica de *T. brasiliensis*, dados relacionados a esta espécie como sua distribuição, índice de captura e porcentagem de infecção natural pelo *T. cruzi*, foram examinados em 12 diferentes estados brasileiros. A Fundação Nacional de Saúde coletou estes dados de 1993 a 1999, um período no qual um total de 1.591.286 triatomíneos (correspondentes a 21 espécies) foi capturado em domicílios. Deste total, 422.965 (26,6%) eram *T. brasiliensis*, sendo que 99,8% destes insetos foram coletados em seis estados e 54% apenas no estado do Ceará. A porcentagem de barbeiros infectados com o *T. cruzi* variou significativamente entre estados, de 0% (Goiás, Maranhão, Sergipe e Tocantins) para mais de 3% (Alagoas, Minas Gerais e Rio Grande do Norte), com uma média de 1,3%. Estes valores representam uma redução significativa nas porcentagens de infecção natural em comparação com dados de 1983 (6,7%) sugerindo que, apesar da impossibilidade de erradicar as espécies nativas, as medidas de controle têm reduzido significativamente o risco da transmissão (Costa *et al.* 2003). Entretanto, a ampla distribuição geográfica de *T. brasiliensis* (Figura 1), sua alta prevalência observada em alguns estados e sua variável porcentagem

de infecção natural pelo *T. cruzi* indicam a necessidade de uma vigilância epidemiológica sustentada e medidas contínuas de controle contra o vetor.

O Nordeste é considerado hoje a região endêmica do país com maiores problemas de controle triatomínico, por ser área de distribuição de *T. brasiliensis*, a espécie mais difícil de controlar em todo o país (Alencar 1987, Dias & Coura 1997, Silveira & Vinhaes 1998, Costa *et al.* 2003).

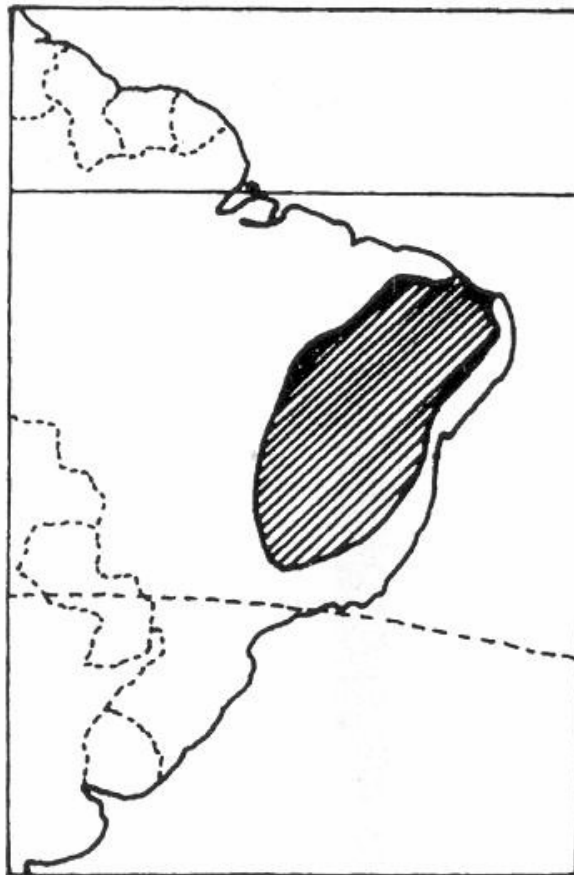


Figura 1. Área geográfica onde espécimes de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 foram capturados no Brasil (AL: Alagoas; BA: Bahia; CE: Ceará; GO: Goiás; MA: Maranhão; MG: Minas Gerais; PB: Paraíba; PE: Pernambuco; PI: Piauí; RN: Rio Grande do Norte; SE: Sergipe; TO: Tocantins). Fonte: Carcavallo 1999.

1.4. Glândulas Exócrinas

Todas as células têm capacidade de sintetizar substâncias a partir dos elementos básicos absorvidos do meio, no caso dos metazoários, a partir do meio circulante. No entanto, algumas células especializaram-se na síntese de substâncias que não são utilizadas por elas próprias, mas, em outros locais. Essas substâncias, que devem deixar as células de origem, são agregadas em compartimentos especiais do citoplasma, antes de serem secretadas i.e., descarregadas pela célula ao meio externo. Assim, as células que as produzem são chamadas secretoras.

As células secretoras podem apresentar-se isoladas, dispersas entre células que não apresentam essa especialização, ou agruparem-se para formar órgãos chamados glândulas. Nas glândulas estão também presentes porções não secretoras, destinadas a conduzir a secreção produzida até um ponto específico. Quando a secreção é liberada para o exterior do organismo, as glândulas são ditas exócrinas. Quando todas as células da glândula são secretoras e descarregam a secreção diretamente para o meio circulante interno, trata-se de glândula endócrina. Portanto, as glândulas exócrinas são providas de vários tipos de canais, através dos quais a secreção chega ao local de uso, ou de liberação. Essas estruturas estão ausentes nas glândulas endócrinas.

Os tipos celulares que constituem as glândulas dos insetos foram incluídos em três classes, segundo classificação proposta por Noirot & Quennedey (1991):

A classe I é representada por células secretoras que são simples células epidérmicas que se tornam secretoras e que, como qualquer outra célula epidérmica, são cobertas na sua face apical pela cutícula. A secreção produzida por essas células é liberada para o exterior do corpo, e para tanto, tem que atravessar essa cutícula. Uma variante dessa classe são as células glandulares

associadas aos pêlos cuticulares, comuns em algumas larvas de Lepidoptera. Neste caso, a célula tricógena, uma célula epidérmica modificada para produzir o pêlo, torna-se secretora e o produto é eliminado através do pêlo, uma estrutura cuticular.

A classe II é representada por células glandulares que se encontram mais ou menos rodeadas por células epidérmicas diferenciadas, sem estarem em contato com a cutícula. A secreção produzida também é eliminada para o exterior do corpo, passando através da cutícula mas, neste caso, como a célula secretora não está em contato com ela, a secreção passa antes para uma célula epidérmica. Noirot & Quenedey (1991) categorizaram definitivamente a célula secretora da classe II como um enócito.

Nas células glandulares da classe I e II não estão presentes estruturas diferenciadas para a liberação da secreção, embora a quantidade de canais-poro, estruturas normais da cutícula, possa estar aumentada e estes se apresentarem mais calibrosos e preenchidos com secreção.

Na classe III as células secretoras geralmente não se encontram incorporadas à epiderme, embora sejam originadas dela. A célula secretora destacada da epiderme é geralmente esférica e provida de um canal que a liga a um poro na cutícula onde a secreção é descarregada. Esta célula apresenta mecanismo complexo de descarga da secreção. A sua membrana plasmática produz uma invaginação que cria um espaço, aparentemente intracelular, para onde a célula secreta uma cutícula. Este espaço, na maioria das vezes, toma a forma de um canalículo que aparentemente percorre o citoplasma da célula e tem sido denominado canalículo intracelular, embora topologicamente esteja fora da célula. A membrana plasmática que limita este espaço pode apresentar microvilosidades ou invaginações tubulares que formam um labirinto pericanalicular.

Em Heteroptera, indivíduos adultos comumente apresentam glândulas exócrinas produtoras de odor localizadas na região metatorácica. O aparelho glandular foi inicialmente descrito para *Pyrrhocoris apterus*, *Belostoma*, *Gerris* e

Cimex lectularius (Landois 1868, Bordas 1905, citados por Brindley 1930). As glândulas metatorácicas foram as primeiras glândulas a chamar a atenção dos estudiosos dos Pentatomidae. A morfologia dessas glândulas, bem como a composição química das suas secreções, têm sido extensivamente estudadas em várias espécies de Heteroptera (Dufour 1833, Roth 1961, Gupta 1961, Aldrich *et al.* 1979, Staddon 1979, Blum 1981, Borges & Aldrich 1992).

As denominações concedidas às glândulas presentes nos Heteroptera dizem respeito a partes do corpo do inseto nas quais elas ocorrem (abdômen e metatórax). As glândulas abdominais estão localizadas na região dorsal, podendo ocorrer no máximo quatro, situadas sobre o coração e logo abaixo do III e VI tergitos abdominais. A glândula metatorácica ocupa posição ventral na parte posterior do metatórax. As glândulas abdominais são essencialmente encontradas em ninfas e apenas ocasionalmente permanecem funcionais nos insetos adultos. A glândula metatorácica é uma estrutura exclusiva de insetos adultos e freqüentemente evidencia um alto grau de especialização fisiológica e anatômica (Staddon 1979).

De acordo com Brindley (1930), o aparelho glandular metatorácico segue a mesma constituição em todos os exemplares examinados, como por exemplo em, *Limnotrechus thoracicus*, *Salda litoralis*, *Anthocoris nemoralis*, *Dysdercus howardi*, *Cimex lectularius*, *Nabis lativentris*, e *Rhodnius prolixus*. Ele consiste de um par de glândulas tubulares comunicando com um reservatório, que pode ou não possuir uma glândula acessória, e se abre para o exterior através de dois orifícios localizados na região ventral do metatórax, ou dentro da cavidade metacoxal (Figura 2).

Em algumas formas as glândulas tubulares são simples, embora usualmente muito empacotadas, em outras o ducto coletor é dividido e as células secretoras estão organizadas em lóbulos ao redor de ductos secundários. As glândulas são compostas por células grandes constituídas por ductos intracelulares pequenos que se comunicam com um ducto coletor comum (Brindley 1930, Gupta 1961).

Nos Reduviidae as glândulas metasternais (ou metatorácicas) são pareadas e independentes, cada túbulo secretor tem seu próprio reservatório e não apresentam glândulas acessórias. O sistema glandular nesta família é peculiar porque inclui, além das glândulas abdominais e metatorácicas, a glândula ventral e a glândula de Brindley, ambas encontradas exclusivamente em insetos adultos e freqüentemente coexistem com as glândulas metatorácicas (Staddon 1979). Descrições das glândulas de Brindley nos Reduviidae foram primeiro apontadas por Brindley (1930), em *R. prolixus* e *Triatoma rubrofasciata*. Glândulas similares em estrutura e posição às glândulas de Brindley foram descritas em Pachynomidae (Carayon 1962), Tingidae (Carayon 1962) e Thaumastellidae (Cobben 1968). Em *Dipetalogaster maximus* a glândula de Brindley é atrofiada segundo Rossiter e Staddon (1983). De acordo com Carayon *et al.* (1958) estas glândulas estão ausentes em Emesinae, Tribelocephalinae e em alguns Saicinae

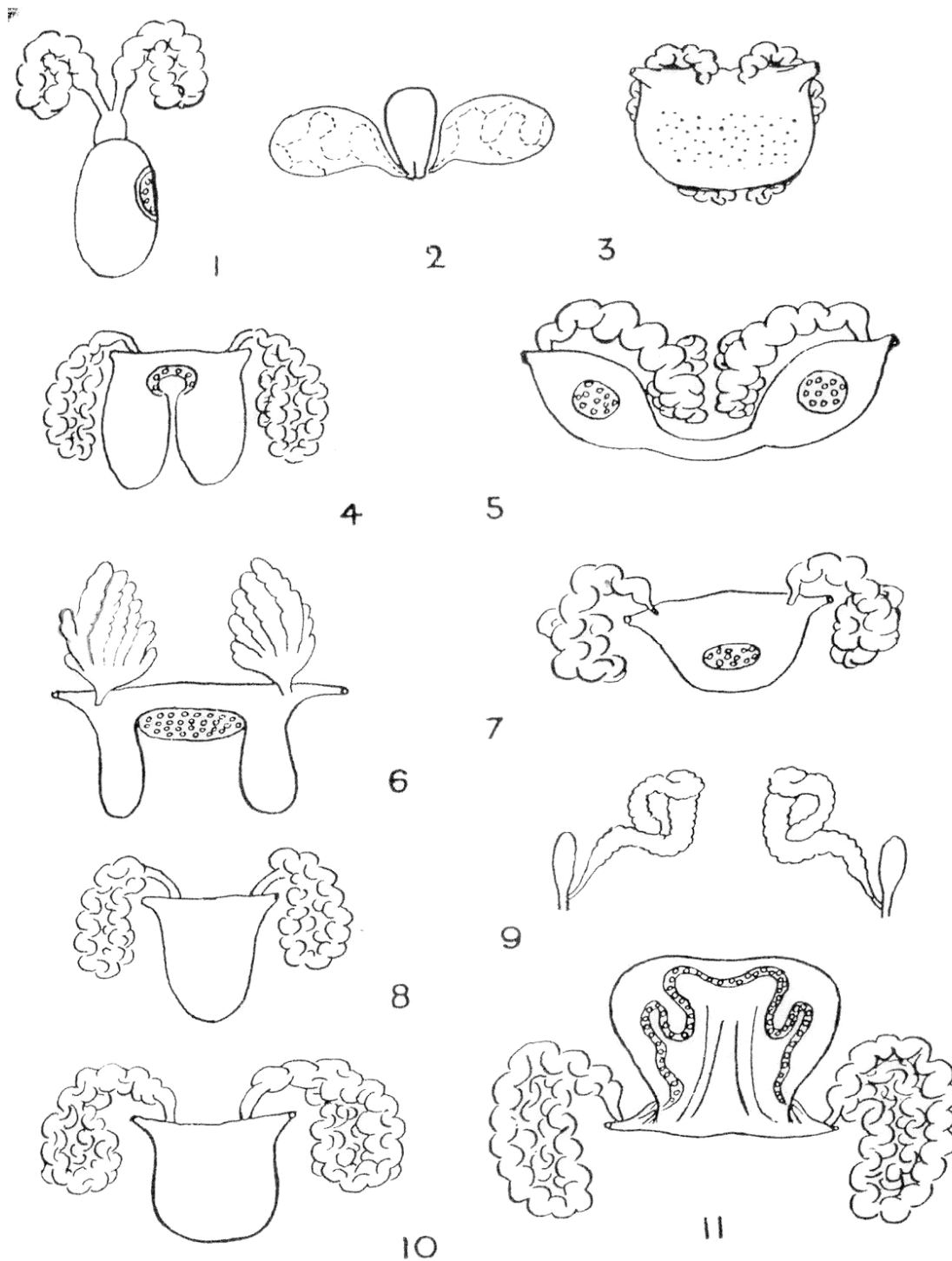


Figura 2. Glândulas metasternais dos Heteroptera (Brindley 1930): 1: *Corixa*, 2: *Limnotrechus thoracicus*, 3: *Salda litoralis*, 4: *Anthocoris nemoralis*, 5: *Dysdercus howardi*, 6: *Cimex lecticularis*, 7: *Nabis lativentris*, 8: *Scolopostheus affinis*, 9: *Rhodnius prolixus*, 10: *Phytocoris varipes*, 11: *Palomena prasina*. Fonte: Brindley 1930.

1.5. Ecologia Sensorial

Todos os organismos trocam matéria e energia com o meio ambiente, inclusive com outros organismos. Frequentemente, essa troca ocorre na forma de informação que pode ser relevante para a sobrevivência do organismo (Dusenbery, 1992). Vibrações, moléculas, fótons, calor, etc. são os principais elementos envolvidos na transmissão de informação. Estruturas especializadas evoluíram permitindo a recepção de tais sinais com alta especificidade e sensibilidade e posterior tradução em linguagem neuralógica. Essas estruturas chamam-se órgãos sensoriais e fornecem aos insetos informação proveniente do meio ambiente (exteroceptores) ou originada dentro do próprio animal (proprioceptores) (Chapman 1998).

Segundo a teoria da informação (Wiener 1948, Shannon & Weaver 1949), a transmissão de informação implica “*perda de incerteza*”. De acordo com esta teoria, a transmissão de informação é a interação entre uma *fonte* ou emissor e um *receptor*. Entre estes existe um *canal de transmissão* que envolve um movimento de energia, ou material a partir da fonte até o receptor. Na área biológica o receptor é um organismo, a fonte é parte do meio ambiente (circunstancialmente outro organismo da mesma ou de outra espécie) e o *canal* inclui o *estímulo* de qualquer *modalidade* junto com os fatores ambientais que o afetam. Particularmente, denomina-se *estímulo* a um padrão de atividade específico dentro do canal de transmissão, que adquire um significado por estar associado a um estado do meio ambiente que é relevante para o receptor (Dusenbery 1992). Desta maneira, os sistemas sensoriais detectam somente aqueles estímulos que são relevantes para a sobrevivência dos organismos (Dusenbery 1992).

Para o controle dos insetos vetores de doenças são necessários conhecimentos sobre diversos aspectos da sua biologia. A fisiologia dos organismos determina a maneira com que estes, particularmente suas células e tecidos, interagem com o meio ambiente. Estes aspectos são críticos para a

manutenção da sua homeostasia, objetivo primário de todo ser vivo que afeta diretamente a sua capacidade de reprodução. O estudo do comportamento de um organismo e a análise anatômico-funcional das suas estruturas sensoriais são indispensáveis para compreender a maneira com que um organismo lida com atividades fundamentais como a procura de alimento, de parceiro para reprodução, e abrigo para se proteger de predadores.

1.6. Comunicação Química

Terminologia e Definições

As substâncias químicas relevantes na obtenção de informações pelos organismos são denominadas *semioquímicos*, que significa “sinais químicos”, termo primeiramente usado por Nordlund & Lewis (1976).

O termo semioquímico é amplo, referindo-se às substâncias químicas responsáveis pelo fornecimento de informação sem diferenciar entre funções. Assim foi que Dicke & Sabelis (1988a) utilizaram o termo *infoquímicos* para enfatizar a diferença entre essa categoria de substâncias químicas, que transportam informação, das toxinas e nutrientes. O termo infoquímico pode ser definido, então, como uma substância química que, em seu contexto natural, fornece informações que disparam um comportamento ou uma resposta fisiológica. Segundo aqueles autores, os infoquímicos não são propriamente prejudiciais ou benéficos, mas o podem ser por meio das respostas que provocam. Nesse sentido, várias podem ser as classes dos infoquímicos, com base no tipo de interação, se intraespecífica (feromônios) ou interespecífica (alomônios, cairomônios e sinomônios), e com base nos custos e benefícios que cada organismo obtém da interação.

Os infoquímicos mediadores de interações entre dois indivíduos de espécies diferentes (ação interespecífica) são designados *aleloquímicos*. Estas substâncias químicas exercem papel fundamental em todas as comunidades,

extendendo-se, muitas vezes, além de duas categorias tróficas adjacentes, mediando interações entre três ou mais níveis (Price *et al.* 1980).

Nos insetos, os feromônios são freqüentemente misturas multicomponentes (Karlson & Luscher, 1959) de isômeros óticos ou geométricos (Silverstein 1981, Mora 1991) que podem, em certos sistemas, funcionar sinergicamente (Borden 1990). Os feromônios nos insetos podem também variar entre populações da mesma espécie, separadas geograficamente (Miller & Roelofs 1980).

Entre os vários grupos de animais, os insetos provavelmente são os que mais dependem do olfato para desempenhar suas atividades comportamentais. Os odores são muito importantes para a localização de presas e hospedeiros, na defesa, na seleção de plantas, na escolha de locais de oviposição, na busca de parceiro sexual, corte e acasalamento, na organização das atividades sociais e em diversos outros tipos de comportamento (Birch & Haynes, 1982).

Os principais tipos de feromônios produzidos pelos insetos podem ser classificados em: feromônios de agregação, feromônios sexuais, feromônios de alarme, feromônios de trilha, feromônios de território e feromônios inibidores.

1.7. Comunicação Química em Heteroptera

Existem cerca de 35.000 espécies de Heteroptera descritas na literatura. O grupo apresenta vários tipos de nutrição e tem importância agrícola e médico-veterinária. A identificação de feromônios sexuais nestes insetos é difícil não somente por haver uma abundante diversidade de secreções de defesa, mas também pela falta de compreensão do comportamento sexual como um todo neste grupo e por falta de metodologias apropriadas (Borges & Aldrich, 1992).

Entre os grupos de insetos como Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Orthoptera, Diptera e Homoptera, nos quais o recrutamento sexual comumente acontece mediante atração química, as fêmeas são

predominantemente emissoras e os machos receptores do sinal referido como feromônio sexual (Cardé & Baker 1984). Quando um membro de um sexo produz um sinal que atrai outro do mesmo sexo, o fator químico é denominado sinal de agregação.

Machos de várias famílias de percevejos, e.g., Pentatomidae, Alididae, Ropalidae, Reduviidae e Coreidae freqüentemente secretam feromônios de agregação ou sexuais (Aldrich 1988a). Alguns destes feromônios já foram quimicamente identificados (Kochansky *et al.* 1989, Aldrich 1991, Aldrich *et al.* 1987, Leal *et al.* 1995, Leal 1996, Sugie *et al.* 1996). Já em 12 espécies de Miridae, são as fêmeas que atraem os machos (Boivin & Stewart 1982).

Observações do comportamento de acasalamento do percevejo *Leptoglossus clypealis* (Coreidae) mostram que o macho produz uma mistura feromonal, proveniente da glândula abdominal ventral, com funções afrodisíacas e atrativas à fêmea (Wang & Millar 2000). Em adição, outros tipos de feromônios atrativos foram relatados para os Coreidae, como em machos de *Leptoglossus occidentalis*, que produzem um feromônio de agregação em quantidades pequenas, presumivelmente para iniciar e manter agregações durante o inverno. Este feromônio é produzido quando os insetos não estão reprodutivamente ativos e provavelmente têm uma função secundária de atração sexual (Blatt & Borden 1996, Blatt *et al.* 1998). Outro exemplo diz respeito ao *Leptoglossus phyllopus*, onde os machos tentam copular com machos da mesma espécie, sugerindo a existência de um sinal volátil com função afrodisíaca, possivelmente produzido pelas glândulas abdominais ventrais (Aldrich *et al.* 1976). Em machos sexualmente maduros da espécie *Acrosternum hilare* (Pentatomidae), resultados prévios também indicam a existência de um sinal químico capaz de atrair fêmeas virgens maduras (McBrien *et al.* 2001).

Semioquímicos liberados pelos machos de *Piezodorus hybneri* (Pentatomidae) promovem atração de machos e fêmeas, além de promover também maior número de tentativas de cópula entre machos. Três componentes ativos foram isolados e caracterizados como uma mistura de β -sesquifelandreno,

(R)-15-hexadecanolídeo e 8-metil-Z-hexadecenoato (proporção 10:4:1). O fato do feromônio produzido pelo macho de *P. hybneri* promover um comportamento sexual entre machos sugere que esses semioquímicos são constituintes de um feromônio sexual. Em adição, o pico da produção de feromônio nos machos desta espécie coincide com o desenvolvimento ovariano das fêmeas (Leal *et al.* 1998).

Adultos de *Cosmopepla bimaculata* (Pentatomidae), quando perturbados descarregam uma mistura volátil proveniente das glândulas metatorácicas ventrais. A secreção é similar para ambos os sexos e é constituída por n-tridecano, (E)-2-decenal, (E)-2-decenil-acetato, (E)-2-hexenal, hexil-acetato, n-dodecano, n-undecano e n-tetradecano, podendo ter uma função de defesa contra predadores (Krall *et al.* 1999).

Fêmeas e machos perturbados do percevejo *Lygus lineolaris* (Miridae) liberam uma mistura de compostos voláteis constituídos por (E)-2-hexenal, (E)-1-hexenol, (E)-2-hexenol, hexil butirato, (E)-2-hexenil butirato e (Z)-3,4-oxohexenal. Segundo os autores, estes compostos apresentam funções múltiplas (Wardle *et al.* 2003), como verificado para outros Hemiptera (Lockwood & Story 1985 e 1987, Gunawardena & Bandumathie 1993, Pavis *et al.* 1994).

Alguns artrópodes liberam através das suas glândulas exócrinas feromônios de defesa que evoluíram para funções sexuais. A síntese de feromônio sexual em glândulas de defesa foi descrita para varias espécies de Hemiptera (Blum 1996). Em *Campylomma verbasci*, espécie da família Miridae, os compostos butil-butirato e (E)-crotil-butirato foram identificados como componentes do feromônio sexual produzido pelas fêmeas (Smith *et al.* 1991). Estes compostos são constituintes típicos de defesa secretados pelas glândulas metatorácicas de Hemiptera e sua função e química ilustram claramente a ampla parcimônia dos semioquímicos (Blum 1996).

Pesquisas em artrópodes incluindo varias ordens têm documentado esta dualidade funcional como o maior exemplo da parcimônia dos semioquímicos que evoluiu independentemente em insetos e atestando o significado adaptativo deste fenômeno (Blum 1996). Em formigas, o composto 2-heptanona, um eficiente

feromônio de alarme para estes insetos, é também um efetivo alomônio de defesa para baratas do gênero *Platyzosteria* (Wallbank & Waterhouse 1970) e besouros do gênero *Dyschirius* (Moore & Brown 1979).

O elevado número de fatores físico-químicos e ecológicos associados à produção, emissão e recepção dos feromônios, torna estes estudos bastante complexos. Entre as dificuldades que surgem conta-se, entre outros, o fato de uma substância poder atuar simultaneamente como feromônio e como cairomônio. Do mesmo modo, um feromônio pode provocar simultaneamente diferentes tipos de comportamentos na mesma espécie: agregação e acasalamento (Blatt & Borden 1996). Os insetos podem ainda transformar quimicamente substâncias do hospedeiro, tais como terpenos, e utilizá-las depois como feromônios (Vilela 1999).

1.8. Comunicação Química em Triatominae

Os triatomíneos permanecem quietos durante o dia, quando podem ser encontrados agregados em lugares protegidos. O comportamento gregário desses insetos é mediado pela tigmotaxia e por estímulos químicos (Schofield & Patterson 1977, Ondarza *et al.* 1986, Lorenzo Figueiras *et al.* 1994).

A presença de um sinal agregativo nas fezes já foi relatada em diversas espécies de triatomíneos (Schofield & Patterson 1977, Lorenzo Figueiras *et al.* 1994, Lorenzo & Lazzari 1996, Vitta *et al.* 2002). Lorenzo Figueiras & Lazzari (1998) descreveram outro sinal químico presente na cutícula de *T. infestans* (footprints) que promove o comportamento de agregação somente através do contato. Este sinal químico cuticular também foi descrito para *Triatoma pseudomaculata* (Vitta *et al.* 2002) e *Panstrongylus megistus* (Pires *et al.* 2002).

Diferentes autores demonstraram respostas de agregação inter e intraespecífica aos sinais presentes nas fezes e na cutícula de ninfas e adultos em várias espécies de triatomíneos (Cruz -Lópes *et al.* 1993, Lorenzo Figueiras & Lazzari 1998, Pires *et al.* 2002, Lorenzo Figueiras & Lazzari 2002).

O comportamento sexual e o papel dos sinais olfativos e estridulatórios na comunicação entre os sexos em triatomíneos foram analisados por diversos autores (Baldwin *et al.* 1971, Schofield & Moreman 1976, Manrique & Lazzari 1994, Manrique & Lazzari 1995, de Brito Sánchez *et al.* 1995, Roces & Manrique 1996). As evidências comportamentais obtidas no laboratório, tanto em *T. infestans* quanto em *R. prolixus*, apóiam a existência de uma sinal químico produzido durante a cópula por um ou ambos os sexos, e que promove a agregação dos machos em torno do casal em cópula (Baldwin *et al.* 1971, Manrique & Lazzari 1995).

Sinais químicos para a detecção dos hospedeiros também já foram identificados nos triatomíneos. Estes insetos demonstram uma resposta anemotática característica, *i.e.*, orientam-se contra o vento quando confrontados com correntes de ar que levam odores associados ao hospedeiro (Núñez 1982 e 1987, Guerenstein *et al.* 1995, Barrozo *et al.* 2004)

A informação existente sobre comunicação química em triatomíneos também envolve o contexto da defesa. Os barbeiros possuem mecanismos de proteção passiva contra potenciais predadores durante os períodos de inatividade, permanecendo imóveis (aquinesse), mantendo um estreito contato com o substrato e com indivíduos da mesma espécie (tigmotaxia) e/ou tendo preferência por lugares obscuros (escototaxia). Em várias espécies de triatomíneos tem sido descrito também, um comportamento de "camuflagem", *i.e.*, os insetos cobrem seu corpo com terra e detritos e conseguem se confundir com o ambiente (Zeledón *et al.* 1973). Além destes mecanismos, os barbeiros dispõem também de aparentes mecanismos ativos de defesa, tais como secreções irritantes e estridulação (Games *et al.* 1974, Kälin & Barrett 1975, Schofield 1979, Ward 1981, Rossiter & Staddon 1983).

Tendo em vista os antecedentes apresentados e no contexto em que a transmissão da doença de Chagas é controlada principalmente através do combate do vetor, um maior conhecimento da fisiologia sensorial e do comportamento destes insetos é essencial.

2.0. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Descrever os aspectos morfológicos e histológicos das glândulas metasternais e de Brindley em *T. brasiliensis*, identificar os compostos voláteis produzidos por elas, e caracterizar o comportamento sexual e a sua maturação em adultos da espécie.

2.2. Objetivos Específicos

- Descrever a morfologia das glândulas metasternais de *T. brasiliensis* através de microscopia eletrônica de varredura e histotécnica.
- Descrever a morfologia da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* através de microscopia eletrônica de varredura e histotécnica.
- Identificar os compostos voláteis produzidos pela glândula de Brindley de *T. brasiliensis*.
- Identificar os compostos voláteis produzidos pela glândula metasternal de *T. brasiliensis*.
- Determinar a procedência glandular dos compostos emitidos durante a perturbação mecânica dos insetos.
- Caracterizar o comportamento sexual de *T. brasiliensis*.
- Caracterizar a maturação do comportamento sexual dos adultos de *T. brasiliensis* em função da idade e do estado alimentar dos insetos.

Este projeto tem como principais hipóteses de trabalho:

- Adultos de *T. brasiliensis* apresentam glândulas exócrinas produtoras de substâncias químicas, localizadas na região ventral do metatórax;
- Os feromônios são constituídos, na sua maioria, por substâncias voláteis e fisiologicamente ativas; sua natureza, seu nome e suas proporções variam de uma espécie para a outra, porém, geralmente conservam caracteres comuns dentro de uma mesma família.
- Os triatomíneos utilizam substâncias químicas na comunicação intraespecífica e particularmente no contexto sexual.
- A maturação do comportamento sexual varia em função da alimentação.

Caracterização morfológica das glândulas metasternais e de Brindley em *Triatoma brasiliensis*

3.1. Introdução

Os Triatominae apresentam dois pares de glândulas exócrinas produtoras de voláteis, as glândulas metasternais localizadas no metatoráx ventral, as glândulas de Brindley situadas no metatórax dorsolateral e áreas glandulares associadas com a genitália de machos, estas últimas recentemente descritas para *T. rubrovaria* (Weirauch 2003). Estas glândulas estão ausentes em ninfas e este grupo não parece ter outro tipo de glândula tal como as glândulas abdominais e ventrais encontradas em outros Reduviidae (Kalin & Barret 1975; Schofield 1979; Rossiter & Staddon, 1983).

Trabalhos prévios descreveram aspectos histológicos e ultraestruturais das glândulas de Brindley. Kalin & Barrett (1975) demonstraram em *R. prolixus* a existência de uma unidade glandular composta por sáculos ou cavidades arredondadas, célula secretora e ducto, todos semelhantes à glândula dermal do tipo “B” descrita por Wigglesworth (1933) (Figura 3). Este autor propõe que a glândula dermal do tipo “B” é constituída por 4 células: células secretoras, células produtoras do sáculo, células que formam o ducto e células que em alguma fase do desenvolvimento circundam as outras três. Schofield & Upton (1978) demonstraram para *Panstrongylus megistus* que a glândula é composta por dois tipos de células: células secretoras e células epiteliais. Posteriormente, Barrett *et al.* (1979), também em *R. prolixus*, relataram a presença de outro tipo de unidade glandular nomeada tipo “A” composta pelos mesmos elementos do tipo “B”, mas diferindo no aspecto estrutural, como na forma das células secretoras e na estrutura curvada do sáculo, em contraste com a estrutura arredonda encontrada no tipo “B” (Figura 3).

Uma nova descrição das glândulas de Brindley em *P. megistus* foi feita. Aspectos anatômicos, histológicos e ultraestruturais foram analisados e os seguintes elementos foram descritos como constituintes desta glândula: (1) células epiteliais superficiais, localizadas abaixo das pregas da superfície apical; (2) células secretoras alongadas, apresentando canalículos intracelulares que se modificam de acordo com o estado funcional da célula; (3) um ducto coletor conectado às células secretoras e coberto por uma epicutícula, alcançando o lúmen da glândula; e (4) células ao redor do ducto (Santos-Mallet & Souza 1990). As glândulas metasternais em triatomíneos foram primeiramente descritas para *R. prolixus* e *R. neglectus* (Brindley 1930, Staddon 1979), porém, as descrições existentes para estas glândulas nestas espécies são incompletas. Por outro lado, Schofield & Upton (1978) descreveram a morfologia funcional e aspectos estruturais destas glândulas em *P. megistus*. As glândulas metasternais estão localizadas na parte interna da articulação de cada cavidade metacoxal. Cada glândula é composta por um túbulo secretor e um reservatório não glandular, a parede do reservatório é cuticular e circundada por uma única camada de células epiteliais. O túbulo secretor é constituído por dois tipos de células, secretora e epitelial, e cutícula. As células secretoras individuais estão associadas com células epiteliais para formar uma rede de unidades secretoras radialmente dispostas sobre o ducto coletor central (Brindley, 1930; Gupta 1961; Schofield & Upton, 1978; Kälin & Barrett, 1975; Staddon, 1979).

Carayon (1971) define o aparelho metatorácico dos Hemiptera em dois tipos, o tipo “omphalien e o tipo”diastomien” sendo o último mais derivado. A figura 6 mostra principal caminho evolutivo para as modificações ocorridas entre estes tipos de aparelho metatorácico.

Até o momento, nenhuma avaliação anatômica e histológica foi realizada para as espécies do gênero *Triatoma*. Os resultados apresentados neste trabalho confirmam algumas das observações anteriores e acrescenta detalhes estruturais e histológicos das glândulas metasternais e de Brindley em *Triatoma brasiliensis*.

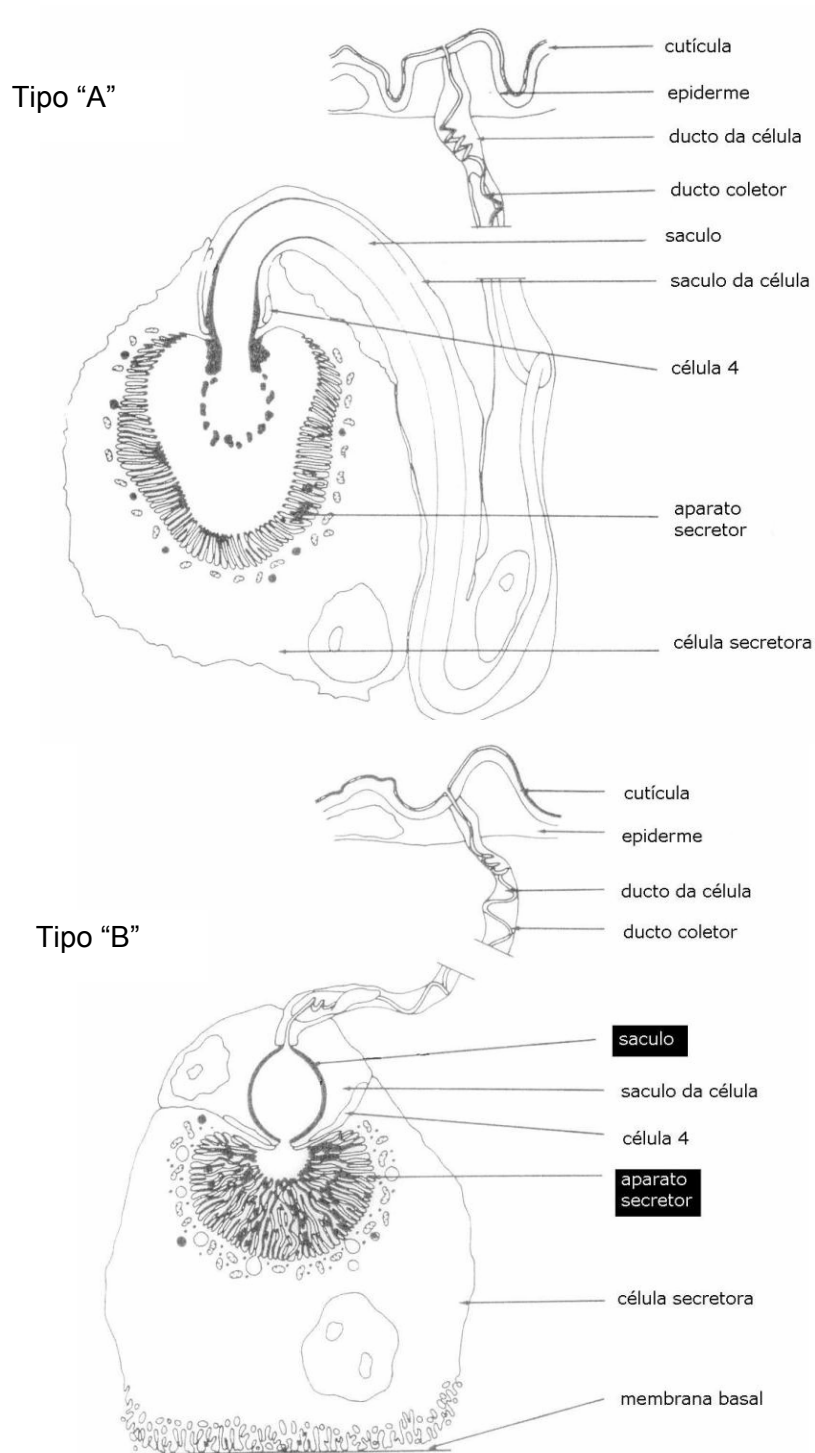


Figura 3. Detalhe mostrando as unidades glandulares do tipo "A" e "B"
(Modificado de Wigglesworth 1933).

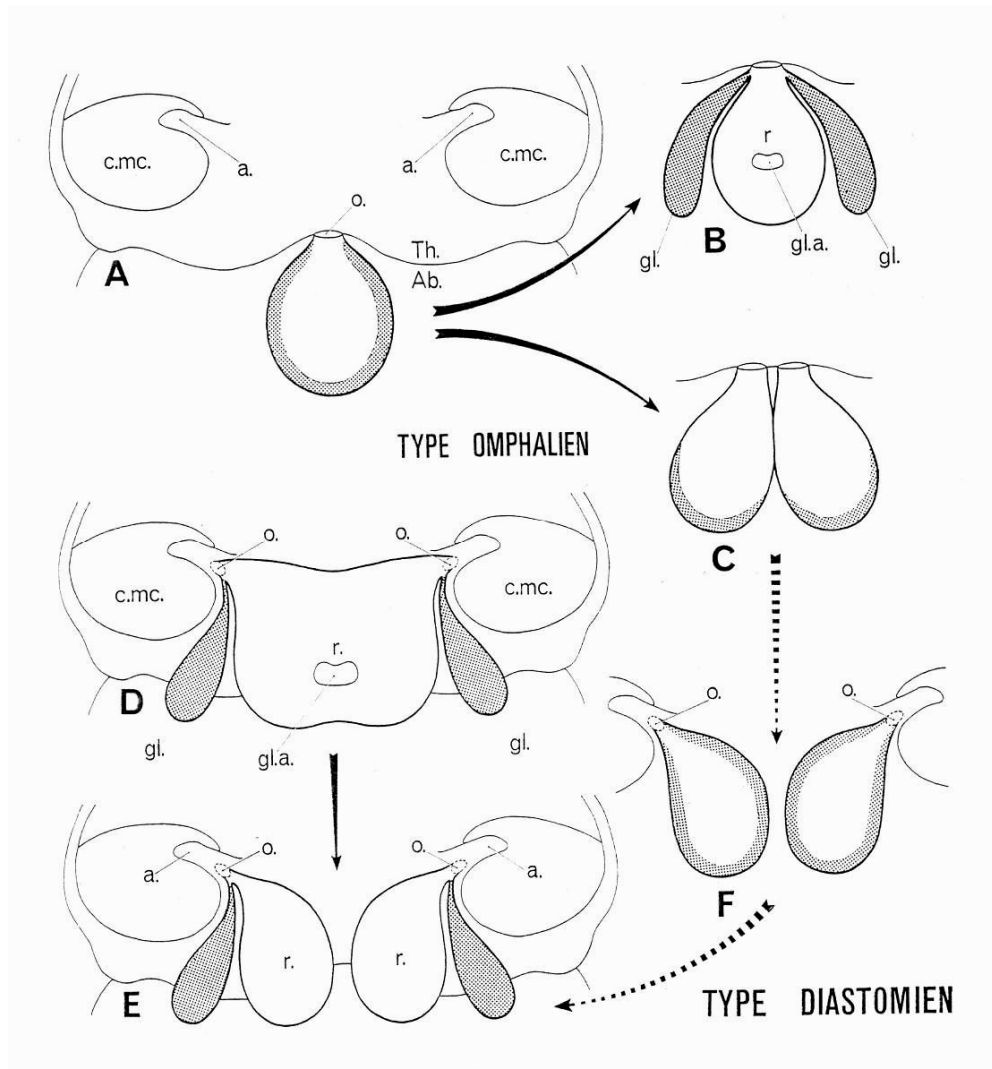


Figura 4. Desenho esquemático mostrando os tipos de aparelho metatorácico dos Hemiptera e sua provável evolução (Carayon, 1971). O tipo “omphalien” caracterizado por um orifício ímpar e mediano (A, B) ou por dois orifícios bem aproximado (C). As setas pretas indicam: (A→B) formação de um par glandular original em glândulas autônomas separadas do reservatório; (A→C) bipartição do orifício e do reservatório e (D→E) divide completamente o reservatório mediano. O tipo “diastomien” se caracteriza por um par de orifícios amplamente separados ocupando a borda da cavidade metacoxal (D,E,F) . As setas com traços interrompidos indicam: (F→E) ocorre segregação dos elementos glandulares e um grande afastamento dos orifícios formando o elemento E. a.: apófise furcal, Ab.: abdômen; c.m.c: cavidade metacoxal; gl.: glândulas laterais; gl.a: glândulas acessórias; o: orifício; r: reservatório; Th: tórax. A região colorida em cinza corresponde aos elementos glandulares.

3.2. Materiais e Métodos

3.2.1. Insetos

Os exemplares de *T. brasiliensis* foram criados no laboratório de Feromônio e Comportamento de Insetos do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, cedidos pelo laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas da Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte – MG, local onde originalmente os insetos são criados e mantidos.

Os insetos foram criados em frascos de acrílico cilíndricos com diâmetro de base de 15 cm e altura de 20 cm, forrados com papel de filtro, contendo uma tira de cartolina dobrada em sanfona, para aumentar a superfície interna e fechados com tecido de algodão. Antes da muda imaginal foram separados por sexo de acordo com a técnica de Espínola (1966) e Lent & Juberg (1969) e mantidos em fotoperíodo 12L:12E à $27^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $64 \pm 10\%$ de UR. Para as amostragens químicas foram utilizados adultos com 2 meses de idade após a ecdise e alimentados semanalmente em camundongos suíços (*Mus musculus*) e ratos Wistar obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa.

3.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As glândulas metasternais (n=8) e de Brindley (n=8) de machos e fêmeas de *T. brasiliensis* foram separadamente fixadas em solução Zamboni (Stefanini *et al.* 1967) por 24 h a 4°C . Posteriormente, as amostras foram lavadas em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,4 por 5 min e desidratadas em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%), passando em seguida por um banho de hexametildizilazane (HMDS), com duração de 10 min cada banho e secos ao ar. Feito isso, o material foi colocado em suportes de alumínio com fita adesiva de carbono dupla face na posição desejada e metalizado com uma camada de 30nm de ouro em vaporizador Balzers. As preparações foram examinadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura VX30P (JEOL).

3.2.3. Histologia

Quando os insetos completaram a fase adulta, as glândulas metasternal (n=6) e de Brindley (n=6) de machos e fêmeas de *T. brasiliensis* foram dissecadas separadamente. Posteriormente, as glândulas foram fixadas em solução de Zamboni e desidratadas em série crescente de etanol (70, 80 e 90%) e, em seguida, foram embebidas em resina (JB4). Após polimerização, as amostras foram seccionadas a 5µm de espessura e coradas com hematoxilina e eosina, seguindo-se a observação em fotomicroscópio. As imagens foram capturadas com o auxílio do programa Image Pro-Plus, versão 4.1 (media cybernetics).

3.3. Resultados

3.3.1. Microscopia Eletrônica de Varredura das Glândulas de Brindley e metasternal

As glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* estão situadas entre o abdômen e o metatórax dorsolateral. A glândula apresenta uma porção secretora que se mostra em forma de um saco dilatado desembocando em um ducto secretor afilado (Fig. 5b) Inserindo-se na parede do ducto coletor está presente um tendão bem desenvolvido em cuja porção distal ligam-se feixes de músculos, tomados aqui como músculos retratores (Figs. 5b, 15 e 16).

As células secretoras apresentam o citoplasma basófilo com aspecto homogêneo, sendo encontrada na porção basal uma série de invaginações formando amplos canais (Fig. 13). O aparato secretor está representado por uma ampla cavidade extracelular onde podem ser vistas algumas microvilosidades das células secretoras (Fig. 09 e 10). No aparato secretor abre-se o ducto coletor, revestido por cutícula, o qual abre-se no lúmen da glândula por um fino canalículo (Fig. 09, 13, 14).

As glândulas metasternais estão localizadas na região metatorácica, na parte lateral da articulação de cada cavidade metacoxal (Fig. 6c, 6b). Cada glândula, juntamente com seu reservatório está ligada à apófise metasternal e músculo retrator que promove contração e relaxamento do reservatório para posterior liberação do conteúdo da glândula (Fig. 6b). Cada orifício de abertura externa da glândula apresenta próximo à região de abertura um conjunto de sensilas tricóides (Fig. 8a, 8b). Na porção secretora da glândula é possível observar porções esclerotizadas que correspondem às células secretoras. No ducto coletor os canais coletores estão conectados para formar os sáculos das células secretoras onde é possível observar apenas o canal receptor (Fig. 7a e 7b).

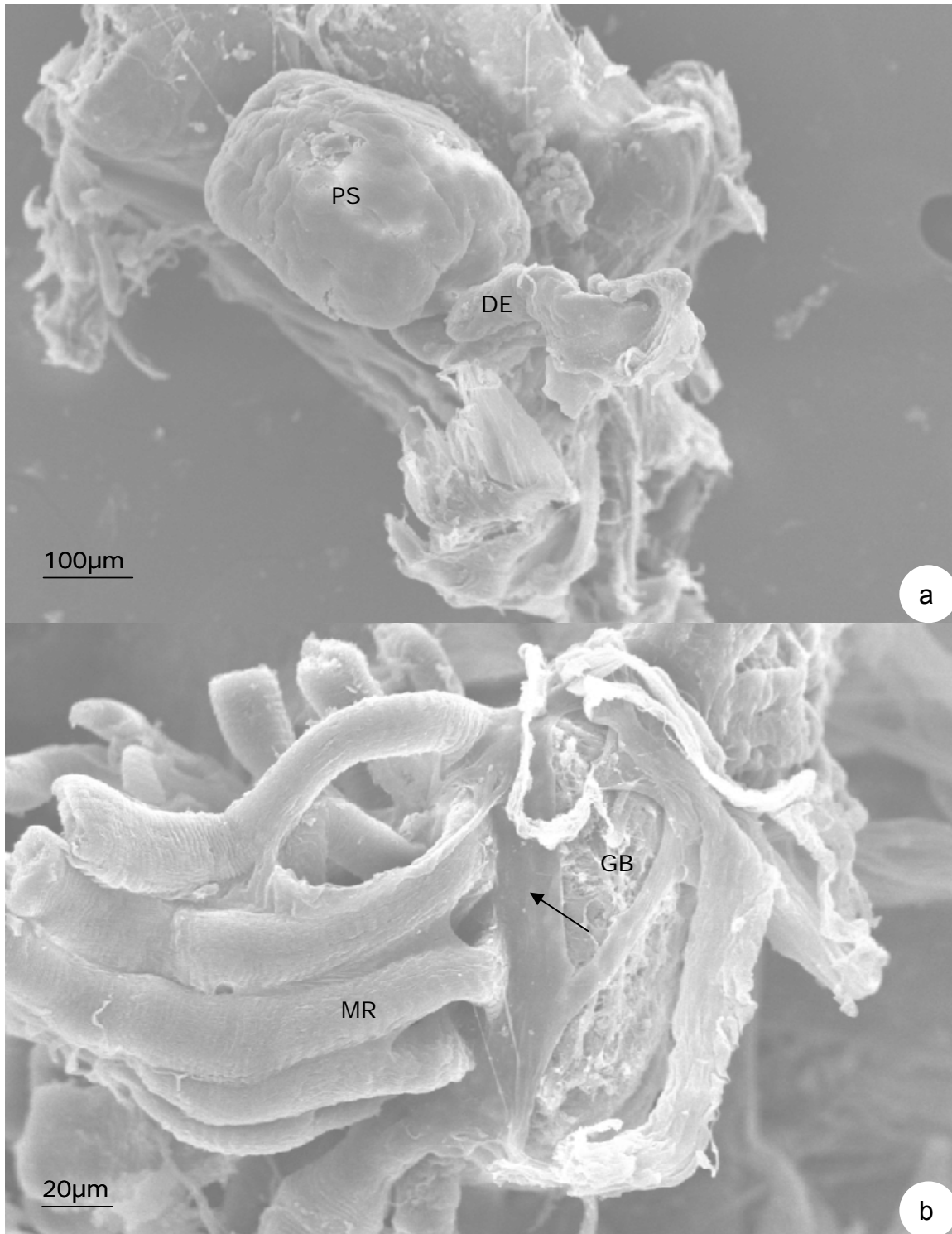


Figura 5a e 5b. Micrografia eletrônica da glândula de Brindley de *T. brasiliensis*. a) porção secretora (PS) e ducto secretor (DE). b) detalhe do tendão (seta) que se liga ao ducto secretor (DE) da glândula e seus músculos retratores (MR).

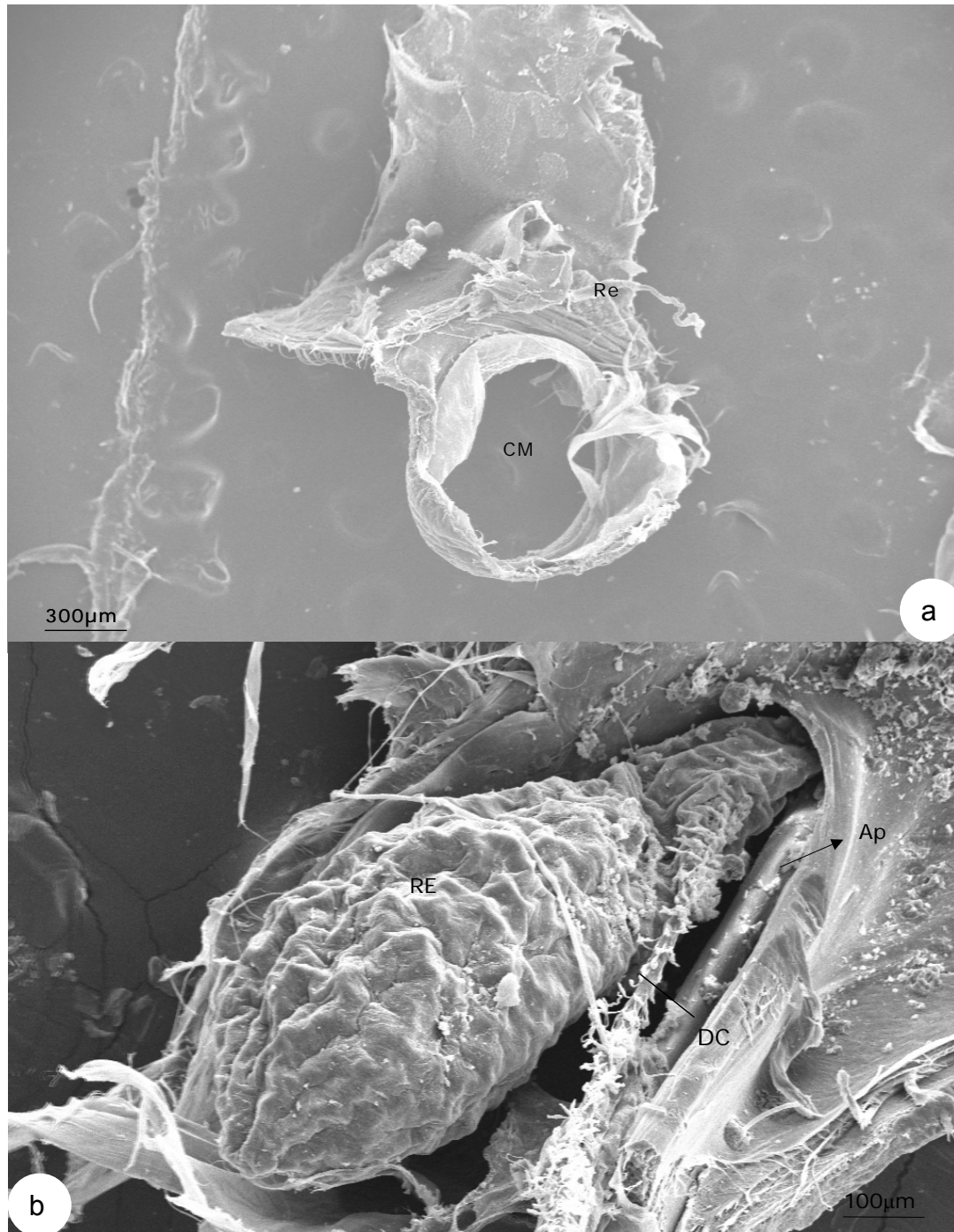


Figura 6a e 6b: Micrografia Eletrônica de Varredura da glândula metasternal de *T. brasiliensis*. c) vista interna do metatórax mostrando a cavidade metacoaxal (CM) e d) reservatório da glândula metasternal (RE) o ducto coletor (DC) da porção secretora e a apófise metasternal (Ap).

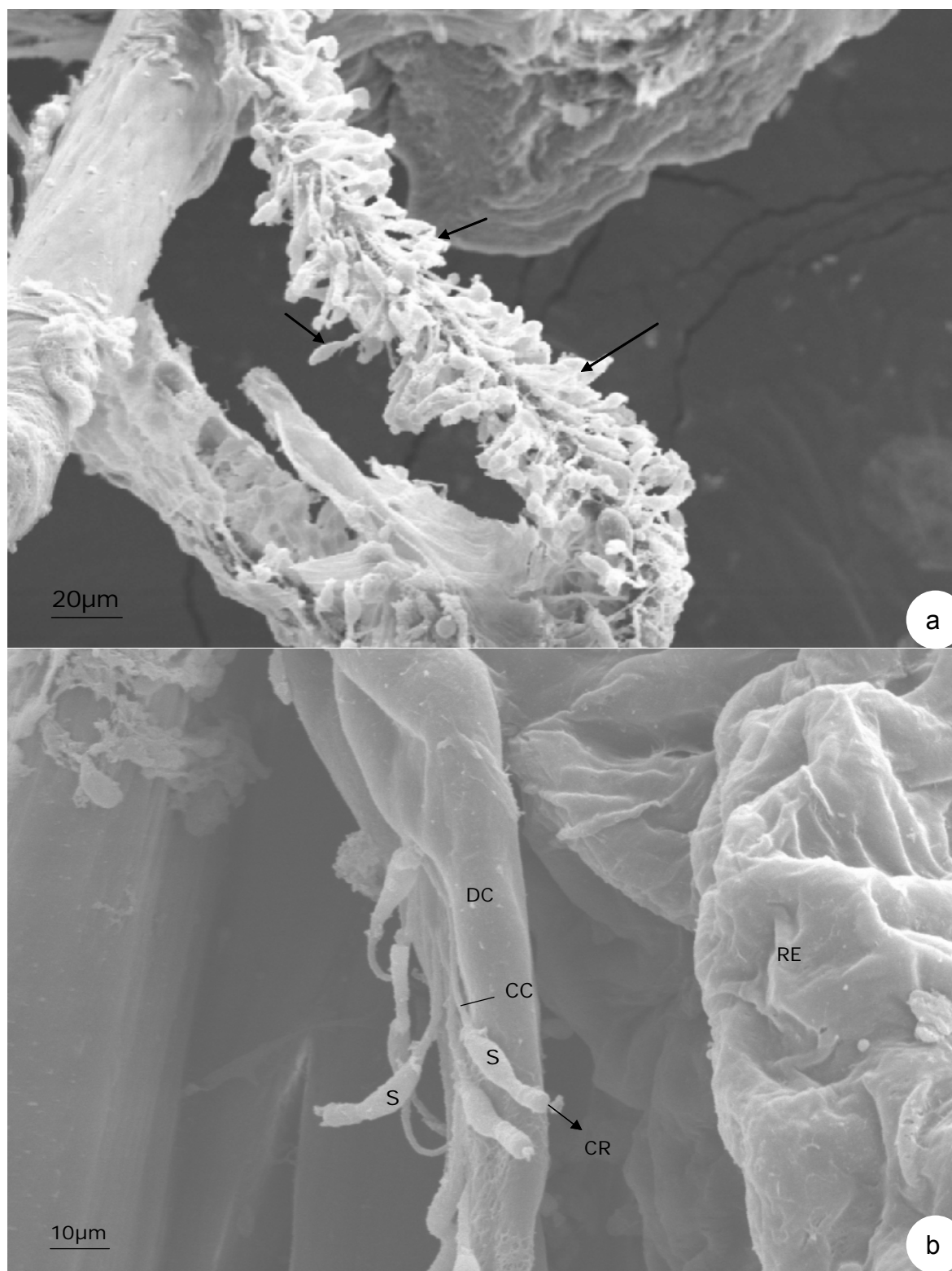


Figura 7a e 7b: Micrografia Eletrônica de Varredura da glândula metasternal de *T. brasiliensis*. e) porção secretora da glândula evidenciando as porções esclerotizadas (seta) de cada célula secretora e f) detalhe do ducto coletor (DC) e dos sáculos (S) das células secretoras onde observa-se apenas o canal receptor (CR) e o canal coletor (CC). RE = reservatório.

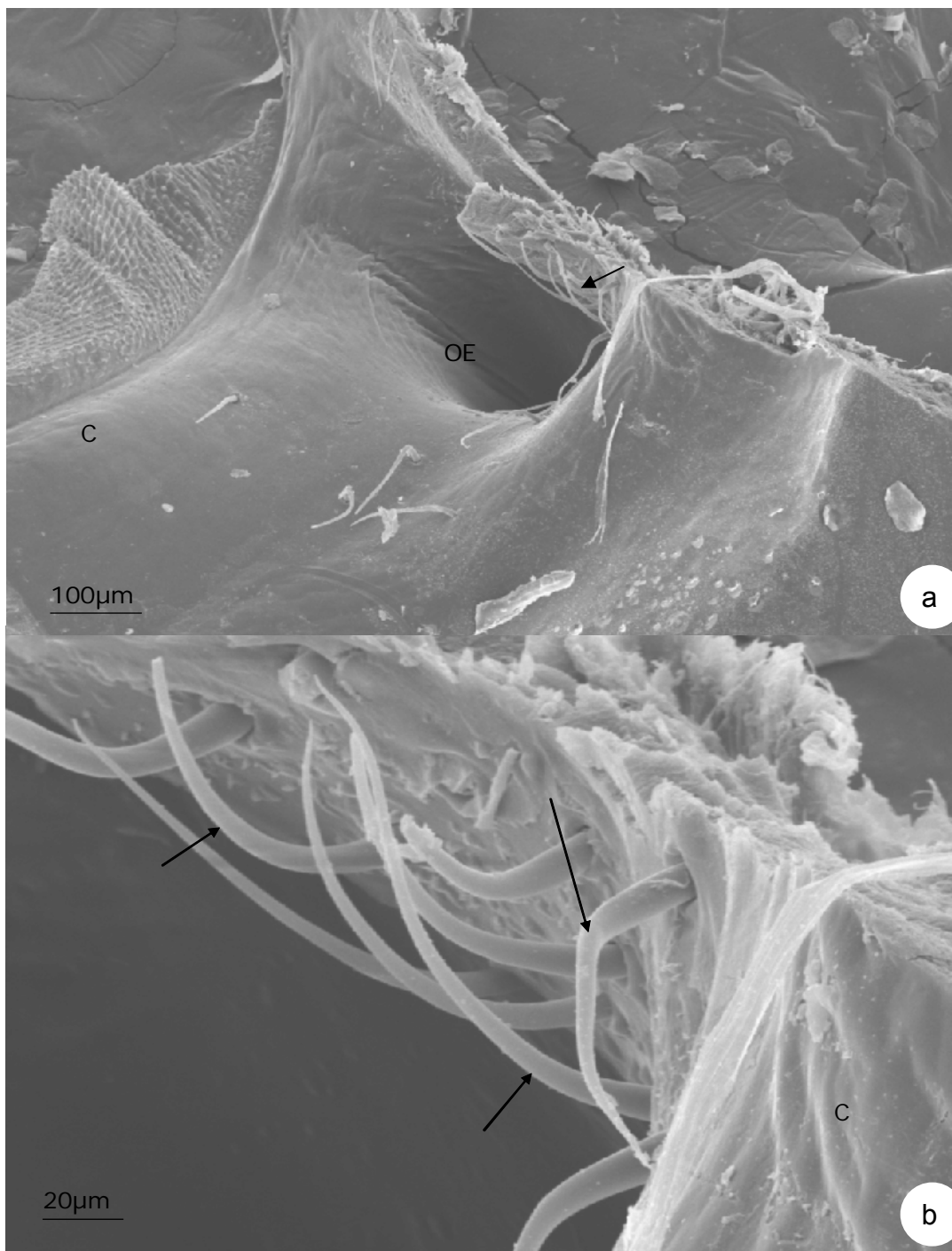


Figura 8a e 8b. Micrografia Eletrônica de Varredura da glândula metasternal de *T. brasiliensis* mostrando o orifício externo (OE) e a presença de sensilas tricóides (seta).
9b. Cutícula (C) e detalhe das sensilas tricóides (seta).

3.3.2. histologia das Glândulas de Brindley

A parede da porção secretora glândula de Brindley em *T. brasiliensis* é composta por uma camada de células secretoras, sobre a qual está orientada uma camada epitelial revestida por cutícula (Fig. 10, 12). Cada célula secretora (glandular) apresenta um aparato secretor e um ducto coletor envolto por cutícula (Fig. 09, 10). As células secretoras apresentam aspecto colunar e núcleo bem desenvolvido com predomínio de cromatina descondensada e um nucléolo evidente (Fig. 11, 12). A luz da glândula é revestida por uma camada de células epiteliais achatadas, com núcleo alongado apresentando cromatina condensada (Fig.10) Uma cutícula espessa localizada acima do epitélio de revestimento, delimita a luz da glândula. O epitélio de revestimento pode apresentar dobras conforme a quantidade de secreção acumulada pela glândula (Fig.12, 13).

3.3.3. Histologia da Glândula Metasternal

A glândula metasternal de *T. basiliensis* consiste de um tubo secretor alongado que desemboca em um reservatório em forma de saco alongado (Fig. 6b). O reservatório é revestido por uma íntima cuticular e circundado por uma única camada de células epiteliais que se mostram achatadas e com um núcleo de mesma forma (Fig. 17a). A glândula se abre por meio de um orifício localizado abaixo da aba cuticular que se estende para a margem interna anterior da cavidade metacoxal (Fig. 17b).

A porção secretora da glândula metasternal está constituída por uma camada única de células glandulares que se mostram bem desenvolvidas com aspecto colunar e com núcleo esférico posicionado basalmente (Fig. 18, 19). Cada célula glandular apresenta um aparato secretor constituído por um estreito canal condutor que se abre na luz da glândula, a qual se mostra estreitada e revestida por uma cutícula espessa (Fig. 18, 19, 13, 14).

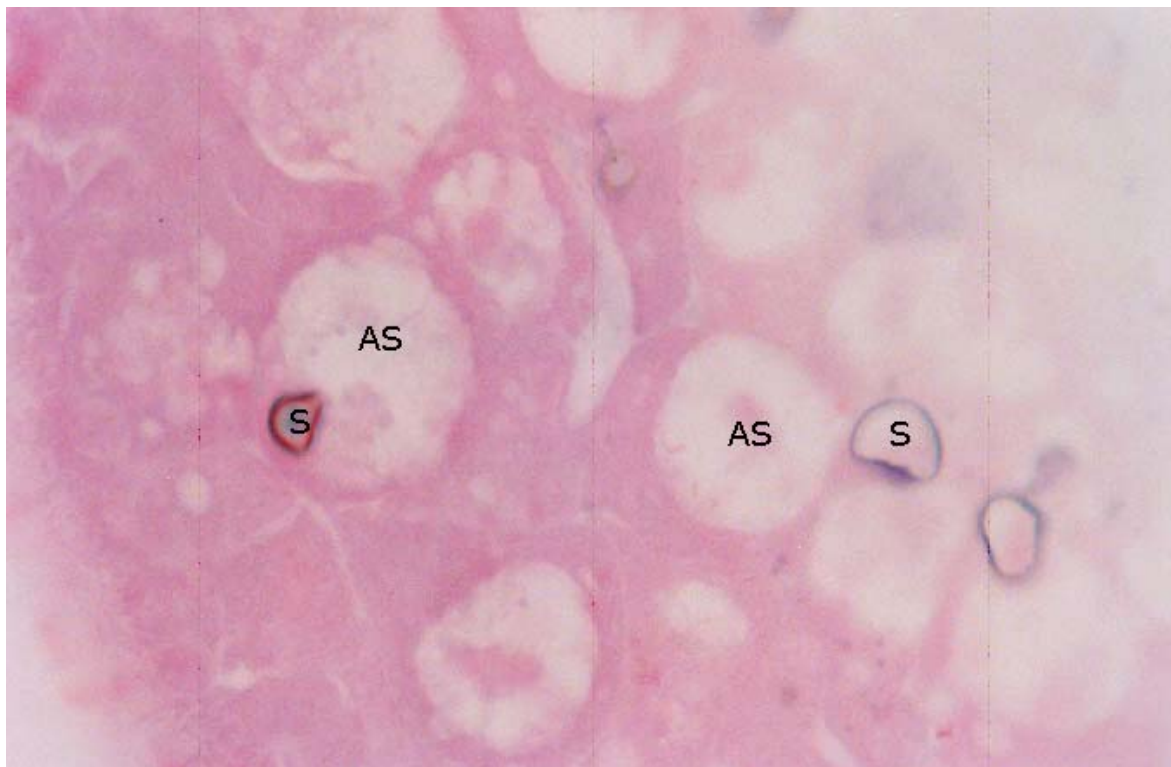


Figura 9. Corte longitudinal da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando as unidades secretoras com a cavidade formando o aparato secretor (AS) e o sáculo (S) por onde a secreção da glândula é coletada (X 1000).

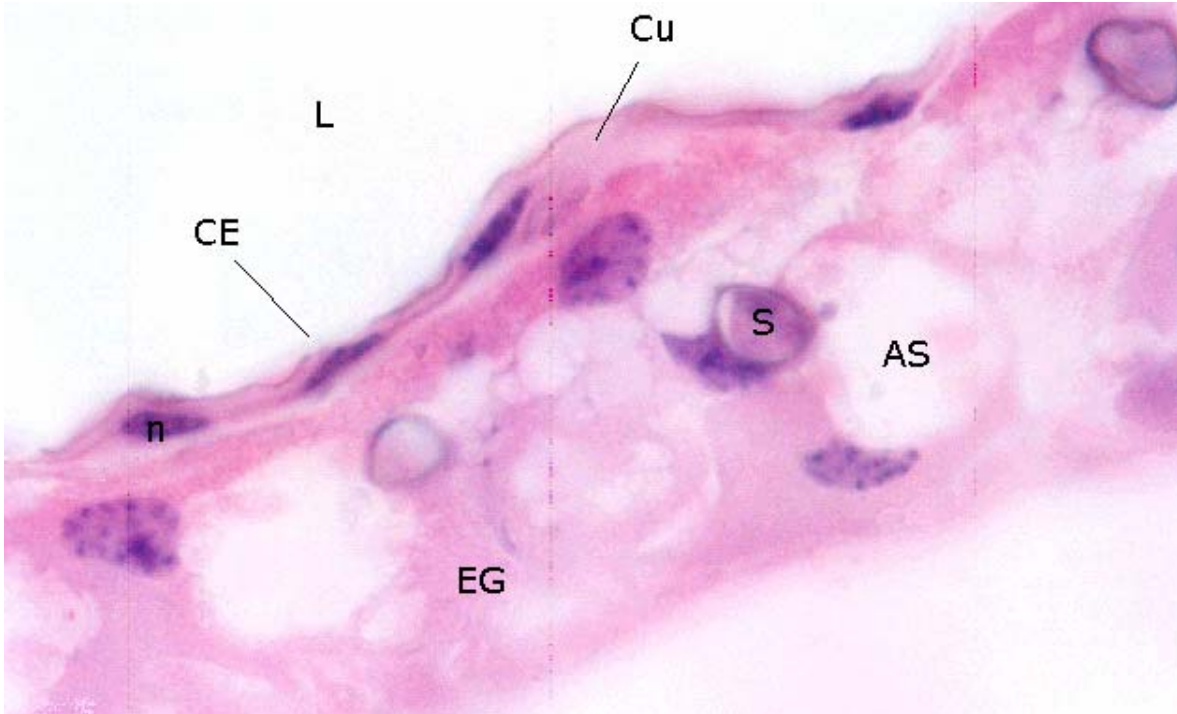


Figura 10. Corte longitudinal da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando o epitélio glândula (EG), revestido pela camada epitelial (CE) formada por uma camada única de células achatadas. n = núcleo da célula epitelial; S = sáculo; AS = aparato secretor, Cu = cutícula, L = lúmen (X 1000).

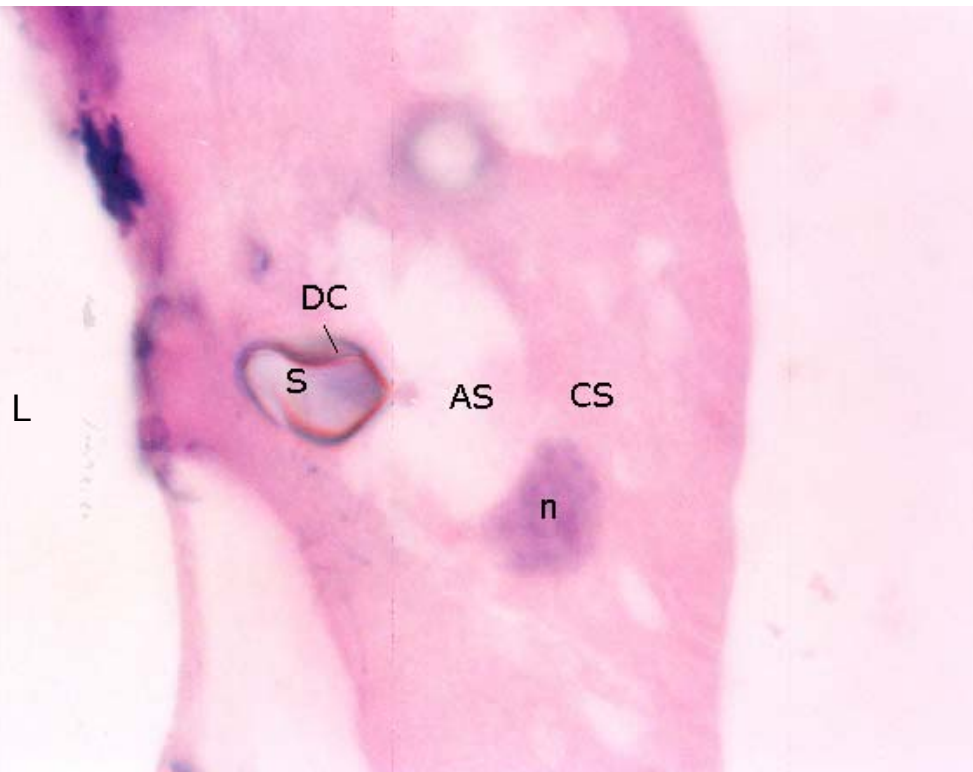


Figura 11. Corte longitudinal da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando a célula glandular. DC = parede do ducto coletor; S = sáculo; AS = aparato secretor; CS = célula secretora e n = núcleo da célula secretora (X 1250).

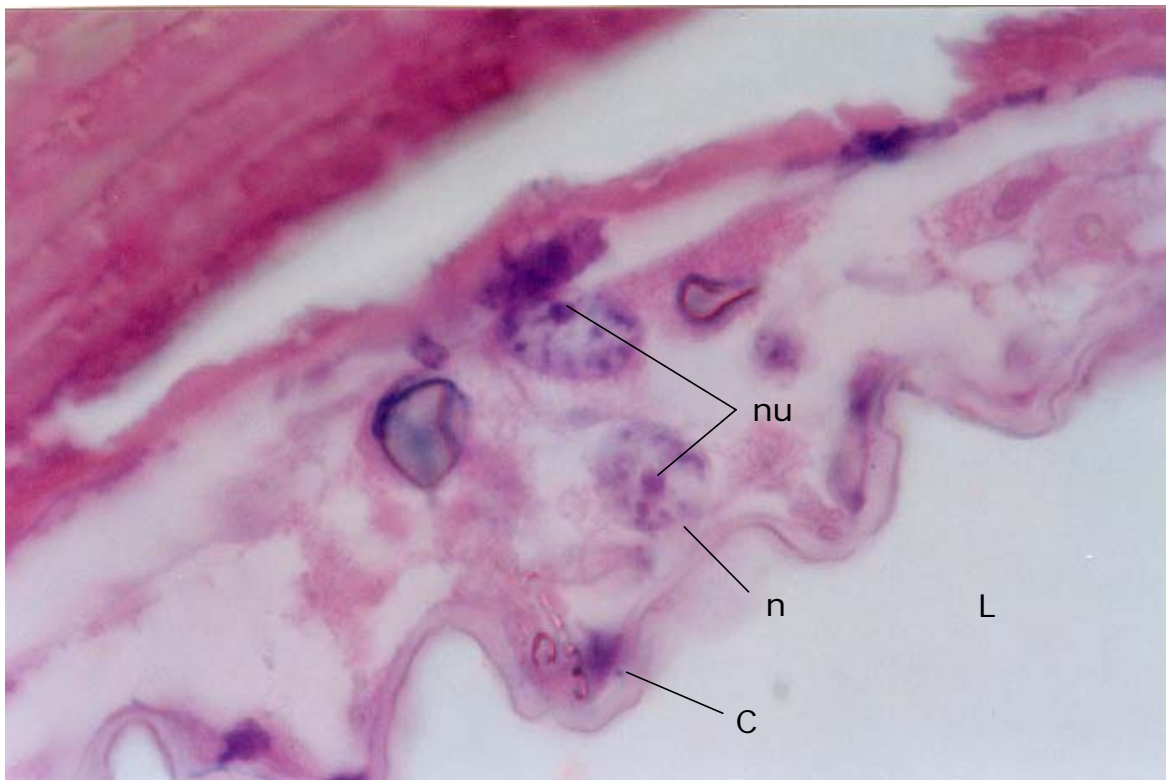


Figura 12. Corte histológico da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando núcleo bem desenvolvido (n), com presença de nucléolo (nu). Observar a superfície apresentando dobras. L = lúmen; C = cutícula. (X 1250).

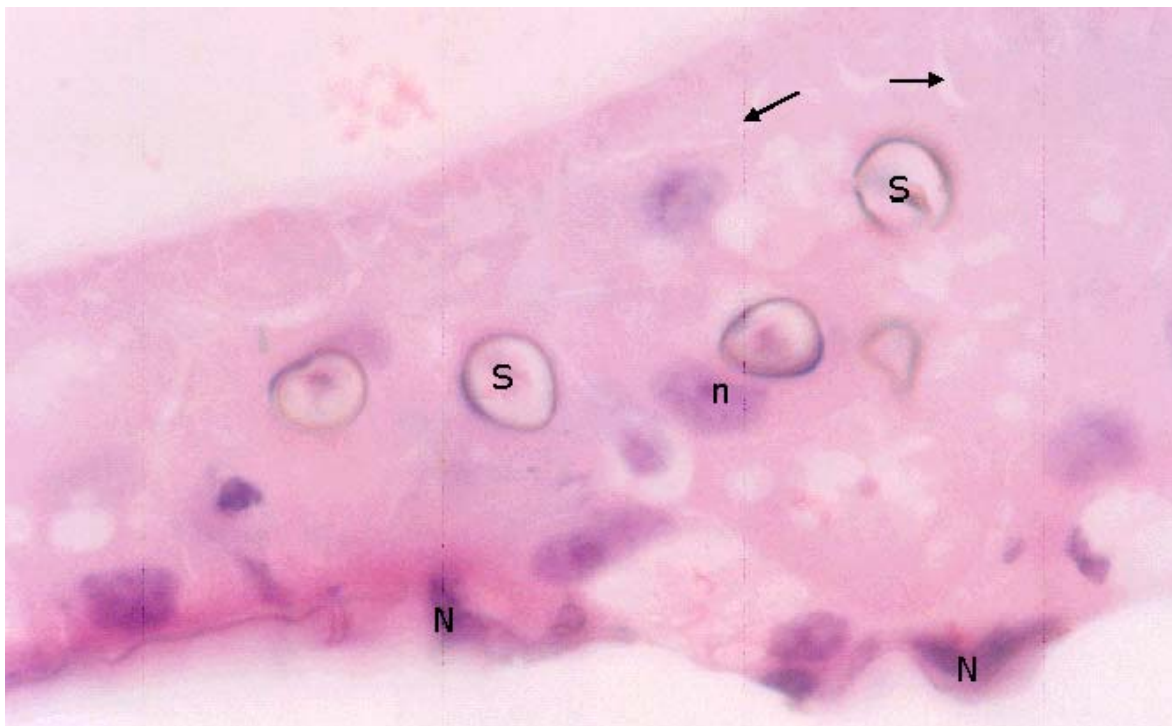


Figura 13. Corte longitudinal da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando a porção basal da célula secretora com uma série de invaginações formando canais amplos (seta). n = núcleo da célula secretora; L = lúmen, N = núcleo da célula epitelial, S = sáculo (X 1000).

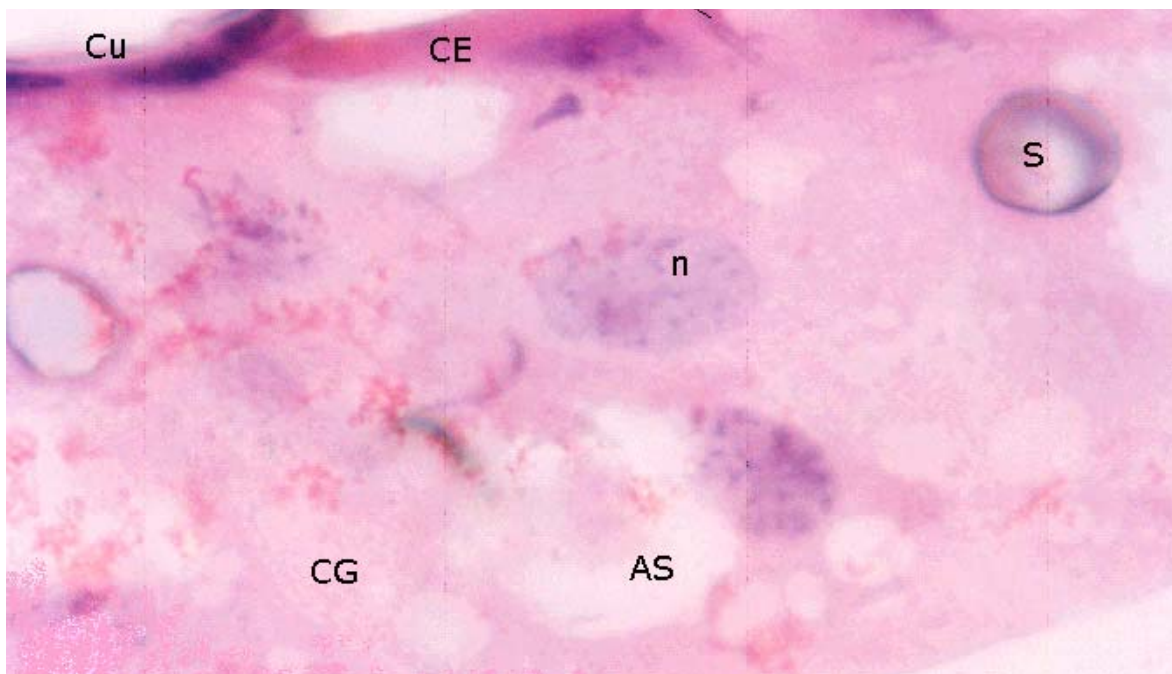


Figura 14. Corte histológico da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando os canais coletores (CC) abrindo-se no lúmen. Cu= cutícula; CG= célula glandular; CE= célula epitelial; n= núcleo; AS= aparato secretor e S= sáculo (X 1250).

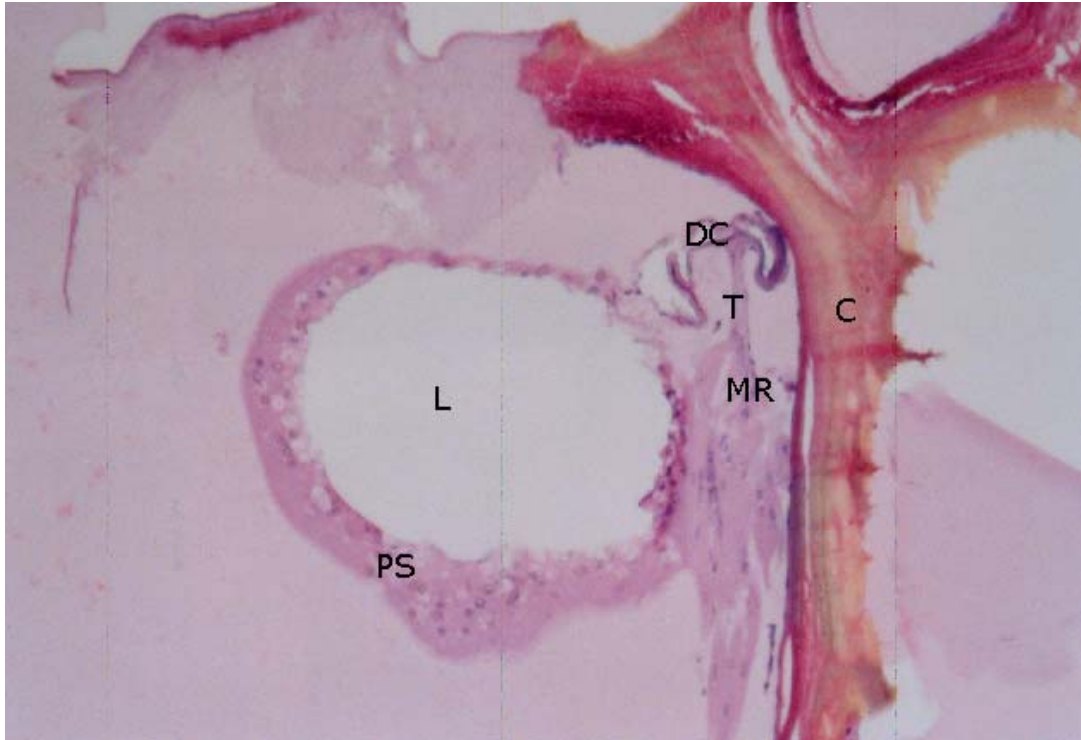


Figura 15. Corte histológico da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando a porção secretora (PS) em forma de saco dilatado, o ducto coletor (DC) onde insere um tendão (T) e os músculos retratores (MR). C= cutícula corporal e L = lúmen da glândula

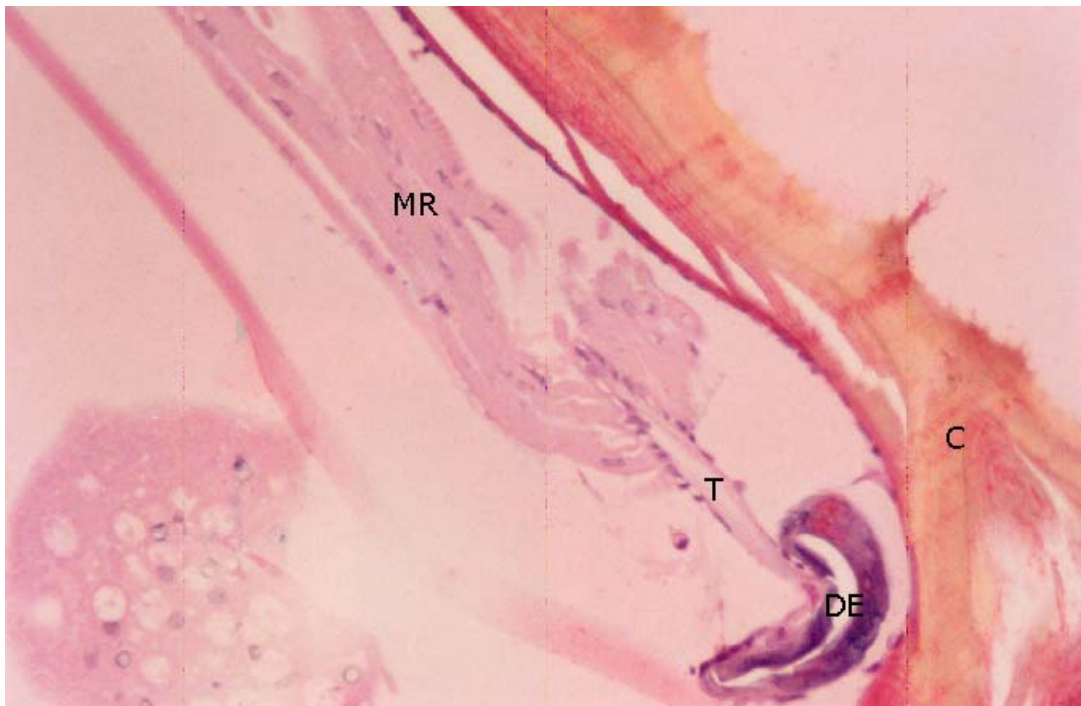


Figura 16. Corte histológico da glândula de Brindley de *T. brasiliensis* mostrando o ducto coletor onde há inserção de um tendão (T) com músculos retratores (MR), C= cutícula

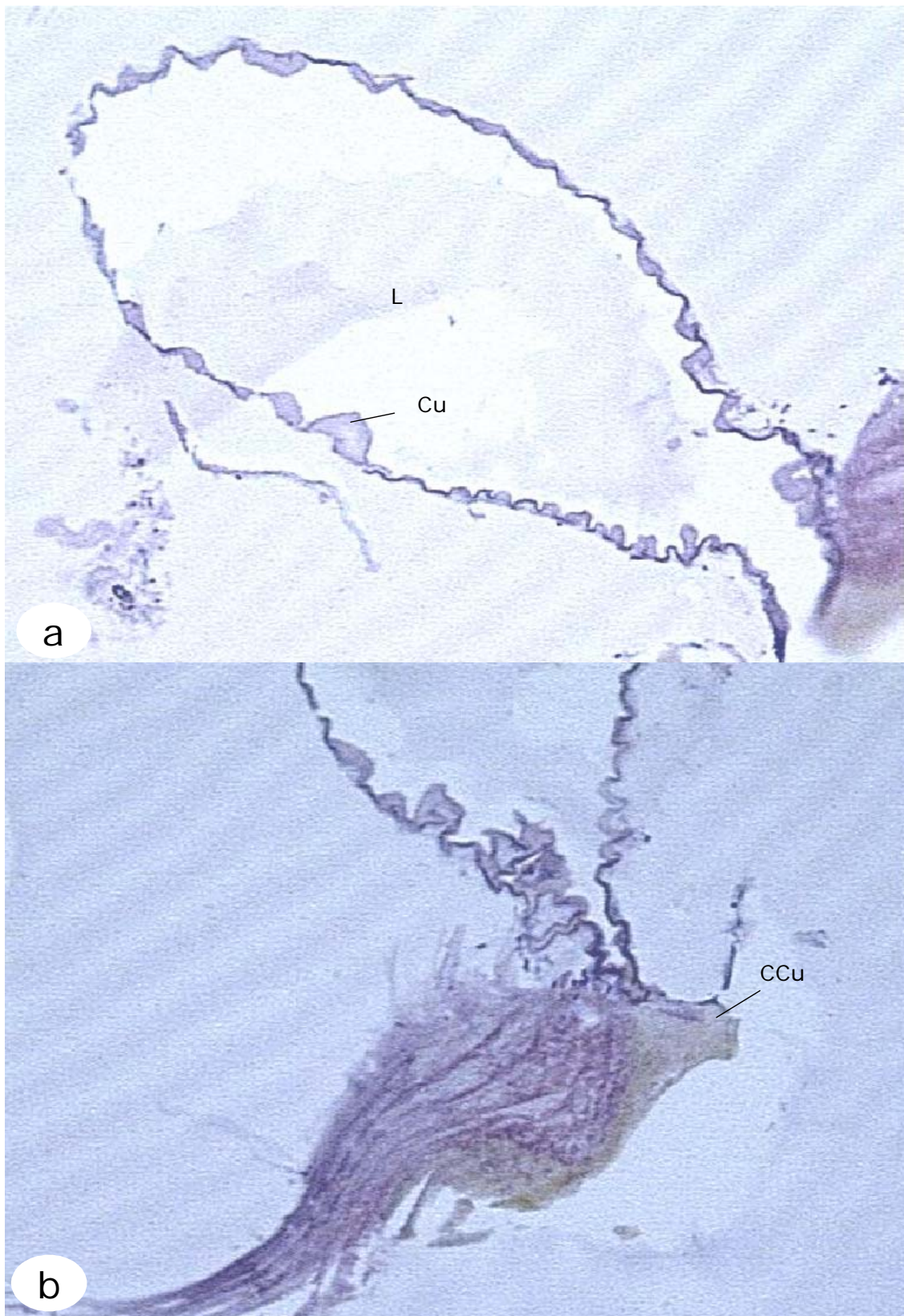


Figura 17a e 17b. Cortes Histológicos da glândula metasternal de *T. brasiliensis* mostrando o reservatório não glandular formado por uma parede fina revestida internamente por cutícula (Cu) delimitando o amplo lúmen (L) e **b.** canal cuticular (CCu) com abertura para o meio externo (X825).

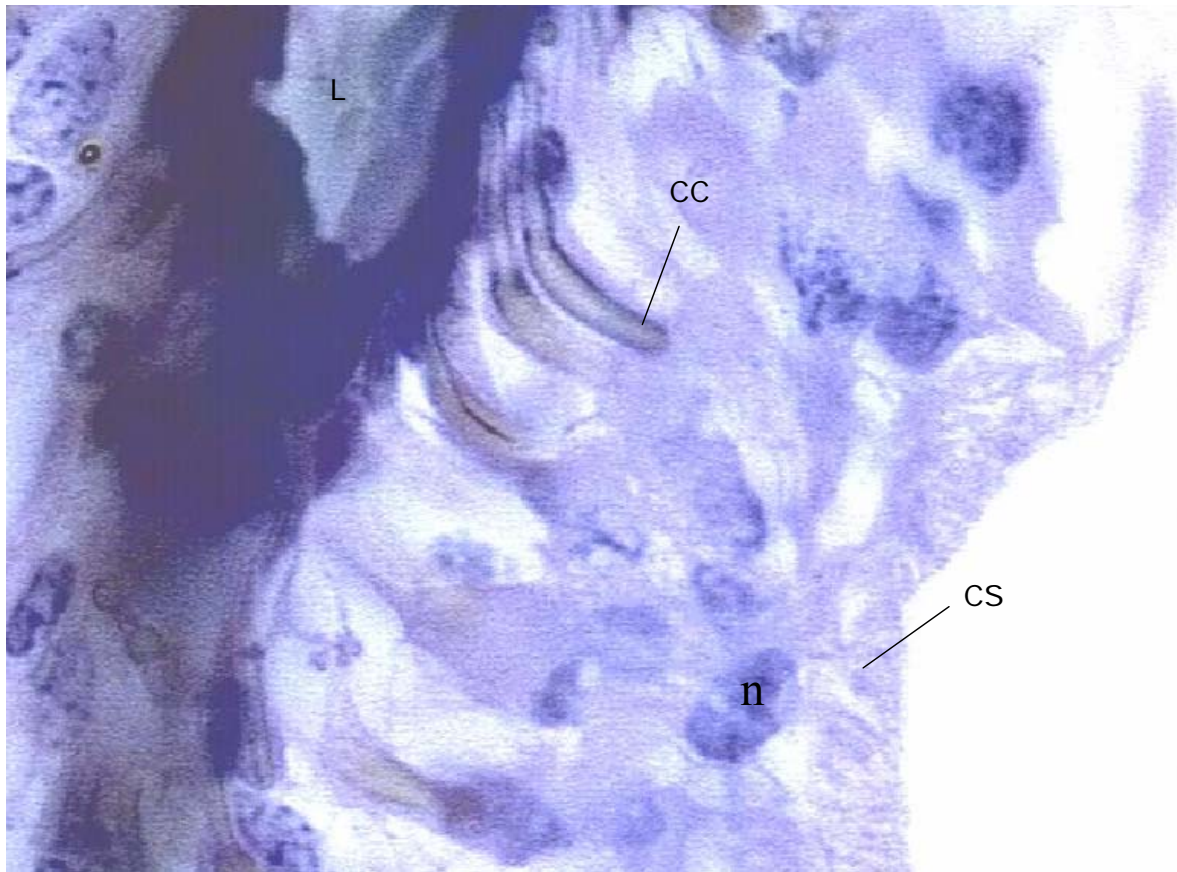


Figura 18. Cortes Histológicos da porção secretora da glândula metasternal de *T. brasiliensis* mostrando o canal coletor (CC) abrindo-se no lúmen (L) e núcleo (n) da célula secretora (CS)



Figura 19. Cortes Histológicas da porção secretora da glândula metasternal de *T. brasiliensis* mostrando o ducto coletor (DC) que se mostra estreito e revestido por cutícula (C) (X825).

3.4. Discussão

A análise histológica das glândulas de Brindley em *T. brasiliensis* revela uma unidade glandular equivalente àquela descrita por Kalin & Barrett (1975) em *R. prolixus*, composta por um aparato secretor, sáculo e ducto coletor, estes dois últimos são contínuos, sendo que em nossas amostras foi possível verificar apenas a parede do ducto coletor. Esta unidade glandular é similar à constituição das glândulas dermais do tipo “B” descritas inicialmente por Wigglesworth (1933) e Lai Fook (1970) para ninfas de 4^o e 5^o estágio de *R. prolixus*. Barrett *et al.* (1979) confirmaram os dados obtidos acima para *R. prolixus* e descreveram a existência de outro tipo de unidade glandular denominada por eles de tipo “A”. Esta unidade é composta pelos mesmos elementos do tipo “B” mas, diferindo em alguns detalhes estruturais, principalmente na forma e tamanho do sáculo. Neste estudo, não foi possível confirmar a presença deste tipo glandular, apesar de termos observado estruturas semelhantes nas lâminas analisadas. As observações demonstram que as glândulas de Brindley em *T. brasiliensis* são formadas por um conjunto de unidades glandulares do tipo “B” distribuídos e orientados ao acaso pela epiderme glandular e formada por dois tipos de células: secretora e epitelial. O mesmo também foi descrito para as glândulas de Brindley em *P. megistus* (Schofield & Upton 1978).

Cada glândula metasternal, juntamente com seu reservatório, está ligada à apófise metasternal e a um músculo retrator que promove o relaxamento ou contração da desembocadura do reservatório para a liberação ou não do conteúdo da glândula. Adultos de *T. brasiliensis* apresentam um par de glândulas metasternais formadas cada uma por um túbulo secretor ramificado ligado a um único reservatório, assim como acontece em algumas famílias de Heteroptera (Carayon, 1971). Esta glândula é constituída por um pequeno poro de liberação da secreção localizado na margem anterior da 3^a cavidade coxal. Estas características estruturais a definem, de acordo com Carayon (1971), como aparelho metatorácico do tipo “diastomien”, forma derivada do tipo “omphalien”. O

tipo “omphalien” é constituído por duas glândulas unidas a um simples reservatório provido de um orifício com abertura externa medial. No tipo “diastomien” formaram-se dois reservatórios que foram se afastando amplamente para ocupar as margens do metatorax ventral. Ou seja, o principal caminho evolutivo para as modificações ocorridas entre estes tipos de aparelho metatorácico foi a bipartição do orifício impar original, seguida da divisão do reservatório na linha mediana. As glândulas de Brindley também são aparelho metatorácico do tipo “diastomien”.

Schofield & Upton (1978) analisaram a histologia das glândulas metasternais de *P. megistus* e caracterizam a unidade glandular desta como sendo análoga à unidade glandular do tipo “A”. As observações feitas não permitem definir o tipo de unidade glandular presente em *T. brasiliensis*, pois a diferença entre os tipos A e B ocorre ao nível ultraestrutural. Foi possível observar apenas o ducto coletor e canal coletor que penetra para o interior da célula secretora. A unidade secretora das glândulas metasternais observada em *R. prolixus*, quando comparada com a unidade secretora das glândulas de Brindley observada em *P. megistus*, são muito semelhantes, as duas unidades apresentam células secretoras contendo um aparato secretor circundado por um espaço extracelular contínuo ao ducto coletor. A maior diferença entre as duas glândulas está na formação terminal do ducto coletor, que nas glândulas de Brindley ele forma o sáculo. Para Schofield & Upton (1978), estas não representam diferenças fundamentais, pois tanto o sáculo como os ductos coletores nas duas glândulas são rodeados por células epiteliais que vão se vincular às células secretoras formando a unidade. Por esta razão eles consideram o sáculo como simplesmente uma elaboração terminal do ducto coletor.

Provavelmente, os canais coletores observados em *T. brasiliensis* sejam estruturas análogas ao sáculo encontrado nas outras espécies. Estudos mais detalhados devem ser feitos para verificar a existência ou não de unidade glandular do tipo “A”.

Por outro lado, Barrett *et al.* (1979) relataram a presença dos dois tipos de unidade glandular, “A” e “B”, presentes nas glândulas de Brindley em *R. prolixus*

Mais tarde, Santos-Mallet & Souza (1990) em sua descrição também sobre as glândula de Brindley em *P. megistus*, sugeriram que estas são formadas por uma unidade glandular composta por células secretoras, contendo canalículos intracelulares, que se modificam de acordo com o estado funcional da célula e um ducto coletor rodeado por células epiteliais. Os canalículos intracelulares descritos parecem corresponder ao aparato secretor; talvez por isto, estes autores não tenham classificado a unidade secretora como unidade glandular do tipo “B”. Além disso, segundo os mesmos autores, a existência destes dois tipos de unidades secretoras é devido às diferenças morfológicas entre os canalículos intracelulares das células do tipo “A” e do tipo “B”. Eles sugerem que estas diferenças dependem do estado funcional das células, ou seja, quando a célula está em intensa atividade secretora ela apresenta um canalículo com projeções citoplasmáticas para o interior do lúmen.

Uma questão permanece em aberto, se os tipos “A” e “B” de unidade glandular propostos por Wigglesworth (1933) modificados por Barrett *et al.* (1979), são características estruturais fixas destas glândulas ou se as diferenças descritas entre os tipos glandulares mencionados são conseqüências do estado funcional das células, como sugerido por Santos-Mallet & Souza (1990). Por outro lado, assim como os tipos de unidade glandular “A” e “B” estão juntamente presentes na glândula de Brindley de *R. prolixus*, o mesmo pode estar ocorrendo em *T. brasiliensis*. Um estudo mais detalhado sobre estes aspectos deve ser realizado para verificar esta possibilidade.

Em ambas as glândulas metasternais e de Brindley a célula secretora parece coincidir com a descrição da célula tipo III, proposta por Noirot & Quenedey (1991). Este tipo de célula glandular é amplamente distribuída em várias ordens de insetos, sendo necessário reavaliar a proposição das denominações dos tipos glandulares “A” e “B”.

O músculo retrator das glândulas de Brindley, presente em *T. brasiliensis* é constituído por um tendão único e diretamente conectado ao ducto coletor, que funciona comprimindo a glândula para liberação dos constituintes. Em *R. prolixus*

o músculo retrator está conectado ao ducto coletor da glândula por meio de três ramificações que partem do tendão (Barrett *et al.* 1979). Embora algumas glândulas, como aquelas produtoras de terpeno em *Anisomorpha*, sejam circundadas por um conjunto muscular que serve para comprimir a glândula causando liberação dos odores (Happ *et al.* 1966), apenas um músculo está associado às glândulas de Brindley tanto em *R. prolixus* como em *T. brasiliensis*. Além disso, nenhum músculo foi encontrado circundando o lúmen ou o epitélio glandular, como observado em *Nezara viridula*, na qual o mecanismo de contração é mediado por nervos associados (Filshie & Waterhouse, 1968). Não foi possível observar um controle nervoso envolvido na liberação da secreção.

Cada orifício externo de abertura da glândula metasternal em *T. brasiliensis* apresenta um conjunto de sensilas tricóides que podem estar envolvidas em mecanismos de controle da eliminação da secreção glandular.

No citoplasma das células secretoras das glândulas metasternais foram encontrados grânulos fortemente corados, bem distribuídos, sugerindo que esta glândula produz substâncias diferentes daquelas produzidas pelas glândulas de Brindley, que apresentam vacúolos não corados, indicando ausência de grânulos. Esta observação é pertinente, tendo em vista que ambas podem liberar sua secreção ao mesmo tempo e que dependendo do estado fisiológico dos insetos, várias informações poderão ser transmitidas por estes odores. A identidade da secreção das glândulas metasternais em triatomíneos foi descrita apenas em *Dipetalogaster maximus*. Schofield & Upton (1978) sugerem que estas substâncias possam ser altamente voláteis. Autores prévios relataram, para outros Heteroptera, a produção de aldeídos e ésteres proveniente das glândulas metatorácicas (Pinder & Staddon, 1965; Staddon & Weatherston, 1967). A informação sobre a atividade e função desta glândula na subfamília Triatominae ainda são escassas e preliminares. No próximo capítulo demonstramos que estas glândulas são fonte produtora de voláteis.

4.0. Capítulo 2

Caracterização química do conteúdo das glândulas metasternais e de Brindley em *Triatoma brasiliensis*

4.1. Introdução

Comunicação química em triatomíneos

a) *Feromônio de Alarme e Defesa*

Em triatomíneos, o uso de sinais químicos pode estar relacionado com a procura de alimento, abrigo e parceiro sexual. Durante o dia, os barbeiros desenvolvem pouca atividade e são encontrados em um estado de imobilidade ou *aquinesa* no interior de seus abrigos. Os insetos permanecem dessa maneira agregados, em estreito contato com o substrato e com outros membros da colônia (*tigmotaxia*), em gretas e sobre superfícies rugosas. Este comportamento permite aos insetos evitar potenciais predadores (Schofield & Patterson 1977; Núñez 1982).

Insetos adultos perturbados mecanicamente emitem uma secreção, liberada pelas glândulas de Brindley, na qual o principal componente nas diferentes espécies estudadas é o ácido isobutírico (Games *et al.* 1974). Esta substância é corrosiva e segundo propõe Schofield (1979) atuaria como repelente de possíveis predadores. Por outro lado, em baixas concentrações, o ácido isobutírico atuaria como feromônio de alarme para outros membros da população (Ward 1981)

No que se refere à composição química deste sinal, a secreção da glândula de Brindley de *T. infestans* e *Triatoma rubrovaria* (Hack *et al.* 1980) e o *headspace* dos voláteis de *T. infestans* perturbados (Juárez & Brenner 1981), são constituídos por uma mistura de ácidos graxos que incluem o ácido isobutírico. Mais recentemente, Cruz López *et al.* (1995) analisaram a secreção da glândula de Brindley e o *headspace* de *T. infestans* adultos submetidos a perturbação e encontraram ácido isobutírico juntamente com isobutanol, álcoois isoamílico e amílico, isobutirato de isobutila, isobutirato de isoamila, propionato de isoamila

(somente no *headspace*), e 2 fenil-etanol e isobutirato de 2-feniletila (somente na secreção).

Por outro lado, Guerenstein (1999) encontrou isobutanol, álcool isoamílico, isobutirato de isobutila, isopropionato de amila, 2-fenil-etanol e butirato de 2-feniletila somado ao ácido isobutírico no *headspace* de *T. infestans* submetidos à perturbação mecânica. No *headspace* de *R. prolixus* perturbados, o mesmo autor encontrou ácido isobutírico, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e ácido 2-metil-butírico. É importante destacar que o ácido isobutírico foi encontrado por todos os autores prévios na secreção das glândulas de Brindley e/ou no *headspace* de adultos perturbados de todas as espécies de triatomíneos estudadas, porém, existindo divergências relacionadas aos outros componentes da secreção.

A produção de odores pelas glândulas metasternais de triatomíneos foi analisada com sucesso apenas por Rossiter & Staddon (1983) em *Dipetalogaster maximus*, que identificaram somente um único pico de 3-metil-2-hexanona. De acordo com estes autores, este composto poderia atuar como uma substância de alarme, útil para repelir predadores ou para a comunicação intraespecífica. Cruz-Lopez *et al.* 1995 analisaram as glândulas metasternais de *T. infestans* e não encontram nenhum volátil.

Os trabalhos citados sobre as glândulas de Brindley expõem uma inconsistência nos resultados obtidos pelos diferentes autores, enquanto outros autores indicaram a ausência de substâncias voláteis nas glândulas metasternais das principais espécies vetoras (Cruz-López *et al.* 1995).

Com relação ao papel funcional das secreções de ambos pares de glândulas como sinal de comunicação, as informações existentes são extremamente escassas e preliminares. A função como feromônio de alarme tem sido sugerida por Ward (1981), baseado na resposta dos triatomíneos a ácido isobutírico sintético. Considerando o ácido isobutírico e outros compostos emitidos pelas glândulas de Brindley, questões cruciais permanecem incompreendidas, tal como se eles são parte de um sinal ativo apenas na fase adulta do inseto, ou se estádios imaturos também respondem a este sinal. Além disso, o tipo de resposta

comportamental que estes sinais são capazes de provocar e o contexto em que estes sinais operam são fundamentalmente ignorados. O entendimento destes e outros aspectos por meio de experimentos comportamentais pode ajudar a compreender o papel biológico das secreções das glândulas exócrinas em triatomíneos e pode permitir seu eventual uso como uma ferramenta de controle.

b) Feromônio sexual

O comportamento de acasalamento de várias espécies de triatomíneos vem sendo estudado em condições de laboratório (Hase 1932; Sordillo & De Almeida 1988; Lima-Carvalho *et al.* 1985; Lima *et al.* 1986; Rojas *et al.* 1990; Rojas & Cruz-lópez 1992; Manrique & Lazzari 1994; García-Pérez *et al.* 1997). Esses estudos revelam que os triatomíneos apresentam um comportamento mais simples de corte e cópula quando comparados com outros grupos de insetos. A existência de feromônios sexuais em triatomíneos vem sendo investigada há 40 anos, mas as evidências ainda são equívocas. Velasquez Antich (1965) descreve atração entre machos e fêmeas de *Triatoma pallidipennis* mediada por odores. O mesmo autor (Velasquez Antich 1968), relatou atração química entre sexos em *R. prolixus* e concluiu que as fêmeas são atraídas por odores provenientes dos machos. Baldwin *et al.* (1971) demonstrou para *R. prolixus*, que durante a cópula supostamente ocorre liberação de um feromônio que atrai e agrega os machos ao redor de casais em cópula, sugerindo uma função “afrodisíaca” para este sinal, já que foram observadas tentativas de cópula entre os machos. Ácido acético e ácido isobutírico foram identificados durante o acasalamento de casais de *R. prolixus* e foram atrativos para machos quando testados em um olfatômetro (Rios-Candelaria 1999), porém estes compostos estariam relacionados ao contexto de alarme e não sexual, segundo Manrique (dados não publicados). Manrique & Lazzari (1995) demonstraram a evidência de um estímulo químico que é produzido durante a cópula de *T. infestans* e que atrai machos, produzindo agregação destes ao redor de casais em cópula de maneira semelhante à observada por Baldwin (1971) em *R. prolixus*. De Brito Sánchez *et al.* (1995) obtiveram respostas eletrofisiológicas que oferecem evidências complementares sobre a existência de um feromônio sexual liberado por um ou ambos os sexos durante o acasalamento em *T.*

infestans.

Até o momento pouco se sabe sobre a comunicação química no contexto sexual em triatomíneos. A existência de um feromônio sexual liberado durante a cópula foi demonstrada, mas a origem destes constituintes e a maneira como estes insetos se encontram na natureza são pouco estudados. Este capítulo tem como objetivos principais identificar os compostos voláteis produzidos pelas glândulas metasternais e de Brindley de *T. brasiliensis* e determinar a procedência glandular dos compostos emitidos durante a perturbação mecânica nestes insetos.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1 Insetos

Os exemplares de *T. brasiliensis* foram mantidos no laboratório de Feromônio e Comportamento de Insetos do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, cedidos pelo laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas da Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte – MG, local onde os insetos são criados e mantidos.

Os insetos foram criados em frascos de acrílico cilíndricos com diâmetro de base de 15 cm e altura de 20 cm, forrados com papel de filtro, contendo uma tira de cartolina dobrada em sanfona, para aumentar a superfície interna e fechados com tecido de algodão. Antes da muda imaginal foram separados por sexo, de acordo com a técnica de Espínola (1966) e Lent & Jüberg (1969) e mantidos em fotoperíodo 12L:12E à $27^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $64 \pm 10\%$ de UR. Para as amostragens químicas foram utilizados adultos com dois meses de idade após a ecdise e alimentados semanalmente em camundongos suíços (*Mus musculus*) e ratos Wistar obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa.

4.2.2. Extração dos voláteis: SPME (Microextração por Fase Sólida)

O dispositivo básico de SPME consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida de 100mm de diâmetro, com 10mm da sua extremidade recobertos com um filme fino de um polímero (polidimetilsiloxano = PDMS, poliacrilato = PA

ou Carbowax = Car), ou de um sólido adsorvente (carvão ativo microparticulado = Carboxen) (Valente & Augusto 1999). A fibra utilizada na captura dos odores das secreções das glândulas metasternais e de Brindley teve fase estacionária de CAR/PDMS e 75 µm de espessura (Supelco,USA), sendo que esta fibra, entre as outras testadas, demonstrou uma maior eficiência na sua capacidade de coletar compostos presentes nas glândulas. A extração ocorre mergulhando-se a seção recoberta da fibra no ar que circunda a amostra (*headspace*). Em seguida a fibra é retirada da amostra e inserida na fenda de injeção do cromatógrafo gasoso, onde os analitos são termicamente desorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica.

A SPME é uma microtécnica em que os processos de extração e pré-concentração de analitos ocorrem numa escala dimensional pouco usual (pico gramas a nanogramas). Numa extração por SPME as moléculas do analito têm de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento até que se estabeleça um equilíbrio de partição (ou de adsorção, para o caso de recobrimentos sólidos) do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. Portanto, a teoria de SPME baseia-se na cinética de transferência de massa entre fases e na termodinâmica que descreve o equilíbrio de partição do analito entre elas (Pawliszyn 1997).

4.2.3. Identificação das secreções das glândulas metasternais e de Brindley.

Os insetos foram mantidos em freezer (-18°C) durante 10 min, antes da sua dissecação, para evitar a resposta de perturbação e conseqüente liberação dos compostos presentes na glândula devido à manipulação. Em seguida foram fixados em massas de modelar na posição ventral, retirando o abdômen para possibilitar a exposição da glândula de Brindley, localizada na região dorso-lateral do tórax. No mesmo inseto foi possível dissecar as glândulas metasternais, localizadas no metatórax e situadas contíguas à cavidade de inserção do terceiro par de patas. Esta preparação foi realizada em uma placa de Petri preenchida com gelo, na qual, uma segunda placa de Petri menor foi colocada. Deste modo, a dissecação ocorreu em baixa temperatura (-18°C) para minimizar a evaporação das substâncias presentes nas glândulas.

Para análise do *headspace* das secreções das glândulas metasternais e de Brindley, foram utilizados adultos de *T. brasiliensis* com 15 dias de jejum. O nível de jejum mencionado permite evitar a contaminação das amostras com fezes durante a dissecação. Para extração dos odores as glândulas foram contidas em um frasco de vidro (2ml), fechado com tampa de septo de teflon^R/silicone. A análise das amostras foi realizada separadamente para cada sexo, contendo um grupo de oito glândulas, 4 amostras para machos e 4 amostras para fêmeas. Amostras controle, contendo pedaços de cutícula e tecidos internos de outras partes do corpo do inseto, também foram analisadas. As dissecações foram realizadas em tampão fosfato de sódio 0,1M.

Cada amostra foi sonicada em aparelho de ultra-som (Thornton, T14) durante 5 min e aquecida a 50°C durante 10 min. Após este procedimento, uma fibra de microextração em fase sólida (SPME) (Supelco,USA) foi exposta aos voláteis no frasco de vidro contendo as glândulas durante 30 min a 50°C. Em todos os casos (séries experimental e controle) os voláteis foram vaporizados no porto de injeção do CG por exposição da fibra imediatamente após amostragem dos voláteis presente no recipiente.

4.2.4. Análise dos voláteis liberados por adultos de *T. brasiliensis* perturbados

Para identificar os compostos voláteis liberados frente à perturbação mecânica dos triatomíneos, pares de insetos adultos de mesmo sexo foram perturbados mediante o uso de pinças e, subseqüentemente, colocados em recipientes de 10 ml para amostragem dos voláteis. Em cada recipiente foi usada uma peça de papel de filtro (3 x 1.5 cm) como substrato e este foi fechado com tampa de septo de teflon^R/silicone. Os voláteis foram amostrados durante 10 min a 25°C, 53-60% de UR, utilizando a mesma fibra de SPME (Supelco). Além disso, duas séries controle foram realizadas, a primeira sem insetos, ou seja, amostrando o frasco apenas com o papel de filtro (n= 3), e a segunda com insetos não perturbados no interior do frasco (n= 3). Neste caso, para evitar a perturbação, foi permitido aos insetos escalar espontaneamente o papel de filtro oferecido e em seguida o conjunto papel+inseto foi introduzido no recipiente. Em

todos os casos (séries experimental e controle) os voláteis foram vaporizados por exposição da fibra no interior do porto de injeção do CG após amostragem dos voláteis das amostras.

4.2.5. Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM)

Os voláteis adsorvidos na fibra de SPME foram analisados por cromatografia gasosa (Shimadzu 17A) acoplada a espectrometria de massa CG-MS (Shimadzu 5050A). A temperatura da interface foi de 240°C, a energia de ionização 70 eV e o espectrômetro da massa programado para varrer uma faixa de 40 a 300 M/Z. A coluna usada foi a SupelcoWax-10; 30 m. As fibras foram expostas no injetor no modo *split/splitless* a 240°C com split programado na proporção 1:4 durante 1 min para a desorção térmica dos analitos. O gás de arraste utilizado foi Hélio a 30 cm/s.

Para a separação dos voláteis foi utilizado o seguinte programa de temperatura: 1 min a 50°C, e posteriormente a uma taxa de 10°C por min até 75°C e uma segunda fase com uma taxa de 15°C por min a 240°C. A interface do MS foi mantida a 250°C.

A identificação preliminar dos voláteis foi baseada na análise do seu espectro de massa e sua comparação com os dados da biblioteca espectral do CG-MS (NIST). Padrões sintéticos foram usados posteriormente para confirmar a identidade dos compostos.

4.2.6. Análise estatística

Para verificar a diferença na abundância entre os compostos identificados das glândulas metasternais ou de Brindley foram realizadas análises de variância (ANOVA). Todas as análises foram realizadas através do pacote estatístico R (R 1.7.1, direitos autorais 2003; The R Development Core Team; Ihaka e Gentleman 1996).

4.3. Resultados

4.3.1. Constituição química do conteúdo das glândulas de Brindley

Os componentes detectados no *headspace* dos frascos contendo glândulas de Brindley dissecadas foram: ácido acético; ácido propanóico; ácido isobutírico; ácido butírico e ácido 2-metil-butírico (Fig.21 e Tabela 1). Não foram encontradas diferenças qualitativas ou quantitativas entre machos e fêmeas (Fig. 26).

4.3.2. Constituição química do conteúdo das glândulas metasternais

Os componentes detectados no *headspace* dos frascos contendo glândulas metasternais dissecadas são apresentados na Fig. 22 e Tabela 2. As glândulas dos insetos adultos desta espécie produzem uma série de cetonas e álcoois, sendo que os machos apresentaram uma abundância significativamente maior de 3-pentanol ($P < 0.01$) (Fig. 24). Na fêmea, três compostos parecem ter abundâncias significativamente diferentes, o 2-etil-1-hexanol, 3-hexanol e 3-metil-2-hexanol ($P < 0.001$ para os 3 compostos). Um perfil das diferentes proporções dos compostos produzidos pelas glândulas de machos e fêmeas é apresentado na Figura 25.

4.3.3. Voláteis liberados por adultos de *T. brasiliensis* perturbados mecanicamente

Os voláteis detectados no *headspace* dos frascos contendo adultos machos e fêmeas de *T. brasiliensis* perturbados incluem cetonas, álcoois e ácidos graxos de cadeia curta. A lista completa dos compostos identificados pode ser encontrada na Figura 23 e na Tabela 3. Nenhum destes compostos foi detectado na série controle contendo insetos não perturbados, ou no *headspace* do frasco contendo apenas papel de filtro limpo. O ácido isobutírico foi o principal componente da mistura, como previamente descrito na literatura para outras espécies (Pattenden & Staddon 1972, Games *et al.* 1974, Kalin & Barrett 1975, Schofield 1979, Juarez & Brenner 1981, Cru-López *et al.*, 1995), seguido no nosso estudo pela 3-pentanona. Nenhuma diferença qualitativa foi encontrada para ambos os sexos. *T. brasiliensis* quando perturbado emite uma mistura de substâncias provenientes das glândulas de Brindley e metasternais.

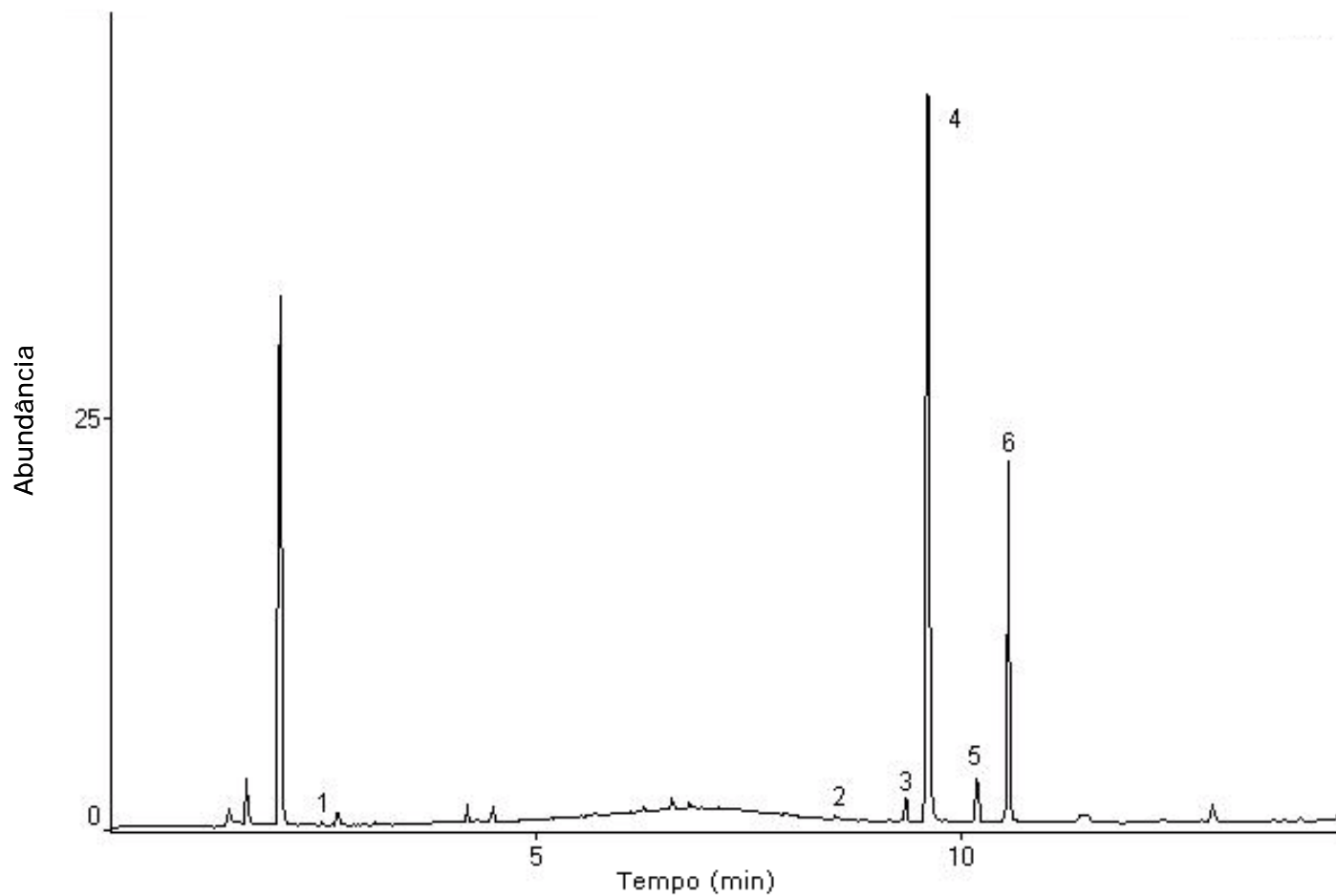


Figura 21. Cromatograma das substâncias amostradas, por meio da técnica de SPME, nas glândulas de Brindley de fêmeas de *T. brasiliensis*. Os picos correspondentes são, 1: 2-butanona; 2: ácido acético; 3: ácido propanóico; 4: ácido isobutírico; 5: ácido butírico e 6: ácido 2-metil-butírico.

Tabela 1. Compostos identificados no *headspace* das glândulas de Brindley de macho e fêmea de *T. brasiliensis*, através da técnica de SPME.

Composto	Erro padrão (e.p.)		% da amostra	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
2-Butanona	0,08	0,09	2,76	2,81
Ácido acético	0,06	0,06	1,88	1,74
Ácido propanóico	0,13	0,12	3,45	3,15
Ácido isobutírico	0,57	0,56	49,74	49,73
Ácido butírico	0,31	0,05	6,17	5,88
Ácido 2-metil butírico	0,35	0,62	31,63	31,90

*8 glândulas por amostra, um total de 8 amostras: 4 de machos e 4 de fêmeas.

** Os valores apresentados são a média das 4 amostras.

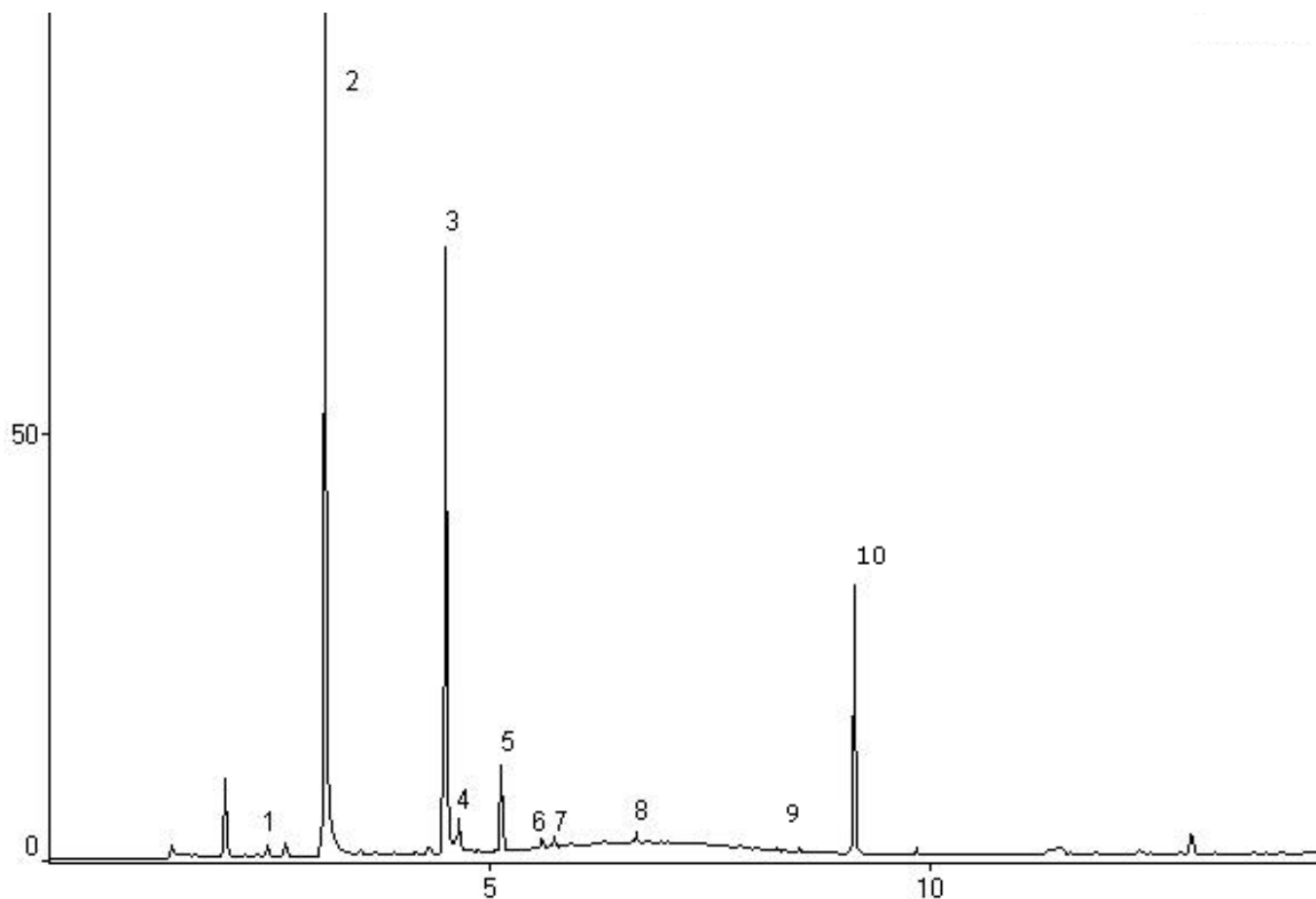


Figura 22. Cromatograma das substâncias amostradas, por meio da técnica de SPME, nas glândulas metasternais de fêmeas de *T. brasiliensis*. Os picos correspondentes são, 1: 2-butanona; 2: 3-pentanona; 3: 3-pentanol; 4: 2-pentanol; 5: não indentificado e 6: 3-hexanol; 7: 2-metil-1-butanol; 8: 3-metil-2-hexanol, 9: 2-etil-1hexanol e 10: 4-metil-1-heptanol.

Tabela 2. Compostos identificados no *headspace* das glândulas metasternais de macho e fêmea de *T. brasiliensis*, através da técnica de SPME.

Composto	Erro padrão (e.p.)		% da amostra	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
2-butanona	0,07	0,06	0,56	0,37
3-pentatona	3,48	5,90	42,83	37,49
3-metil-2-butanol	0,19	0,01	0,38	0,20
3-pentanol	2,17	2,63	35,66♦	15,49
2-pentanol	2,17	0,21	3,32	1,98
Não identificado	5,16	5,16	0,51	0,30
3-hexanol	0,05	0,01	0,43	0,63♦
2-metil-1-butanol	0,22	0,22	0,75	0,77
3-metil-2-hexanol #	0,04	0,05	0,18	0,44♦
1-heptanol #	0,37	0,22	0,64	1,30
2-etil-1-hexanol #	0,01	0,02	0,17	0,25♦
4-metil-1-heptanol #	4,39	4,57	11,17	17,15

* 8 glândulas por amostra, um total de 8 amostras: 4 de machos e 4 de fêmeas.

** Os valores apresentados são a média das 4 amostras.

compostos não confirmados por injeção de padrões sintéticos.

♦ Compostos significativamente diferentes em abundância

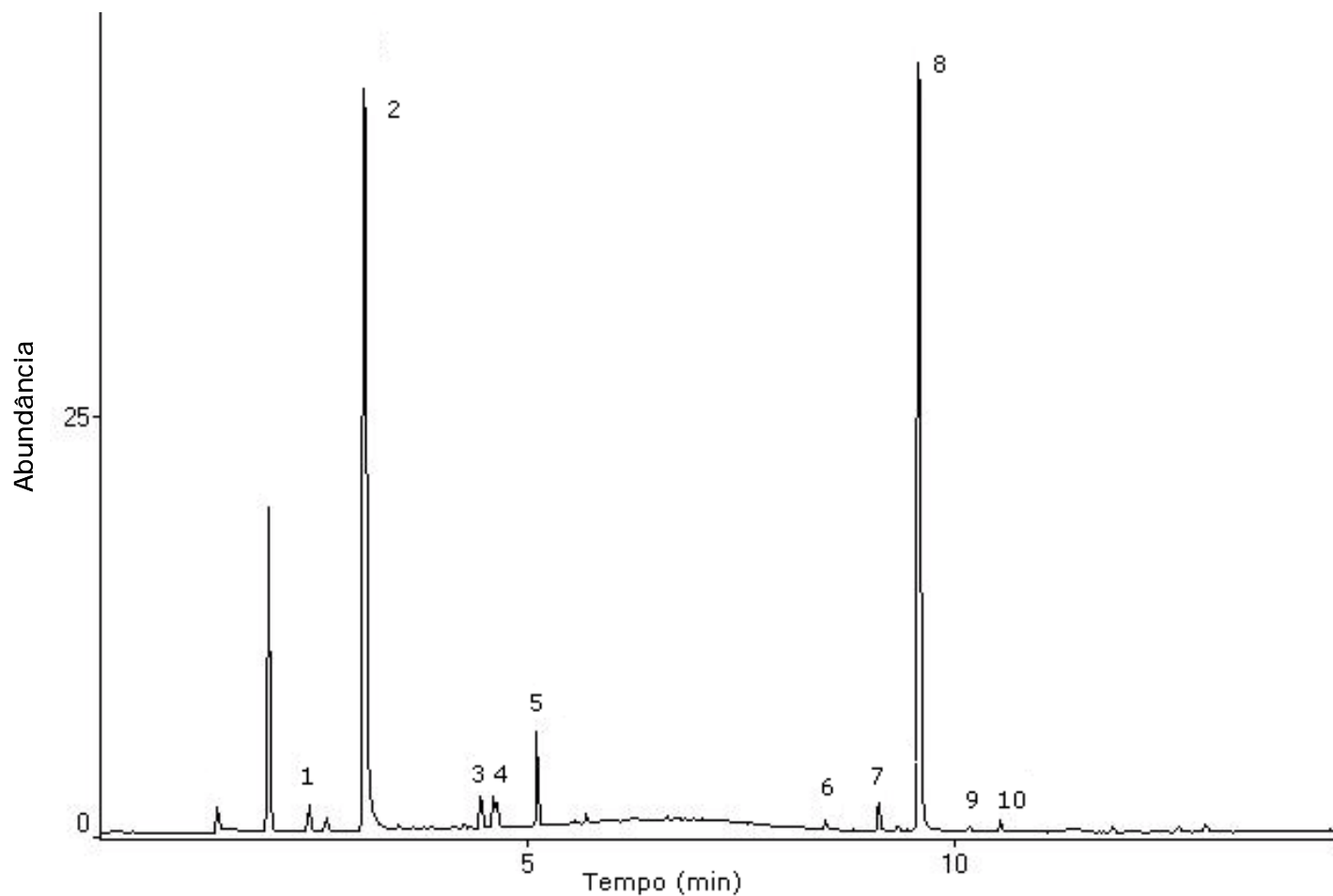


Figura 23. Cromatograma das substâncias voláteis liberadas após a perturbação mecânica de fêmeas de *T. brasiliensis* amostradas por meio da técnica de SPME. Os picos correspondentes são, 1: 2-butanona; 2: 3-pentanona; 3: 3-pentanol; 4: 2-pentanol; 5: não identificado, 6: ácido acético; 7: 4-metil-1-heptanol; 8: ácido isobutírico; 9: ácido butírico e 10: ácido 2-metil butírico.

Tabela 3. Compostos encontrados no *headspace* de fêmeas e machos de *Triatoma brasiliensis* perturbados mecanicamente, identificados através da técnica de SPME.

Composto	Tempo de retenção (min)		% da amostra	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
2-butanona	2,51	2,54	1,39	0,76
3-pentatona	3,61	3,61	27,33	21,49
3-pentanol	4,70	4,71	1,35	1,55
2-pentanol	5,07	5,08	1,07	1,03
Não identificado	5,16	5,16	2,85	2,67
Ácido acético	8,65	8,66	0,25	0,27
4-metil-1-heptanol #	9,26	9,26	3,04	3,03
Ácido isobutírico	9,66	9,64	37,49	38,50
Ácido butírico	10,18	10,19	0,49	0,43
Ácido 2-metil butírico	10,55	10,56	0,60	0,67

*3 amostras para cada sexo, 2 insetos por amostra.

** Os valores apresentados são a média das 3 amostras.

compostos não confirmados por injeção de padrões sintéticos.

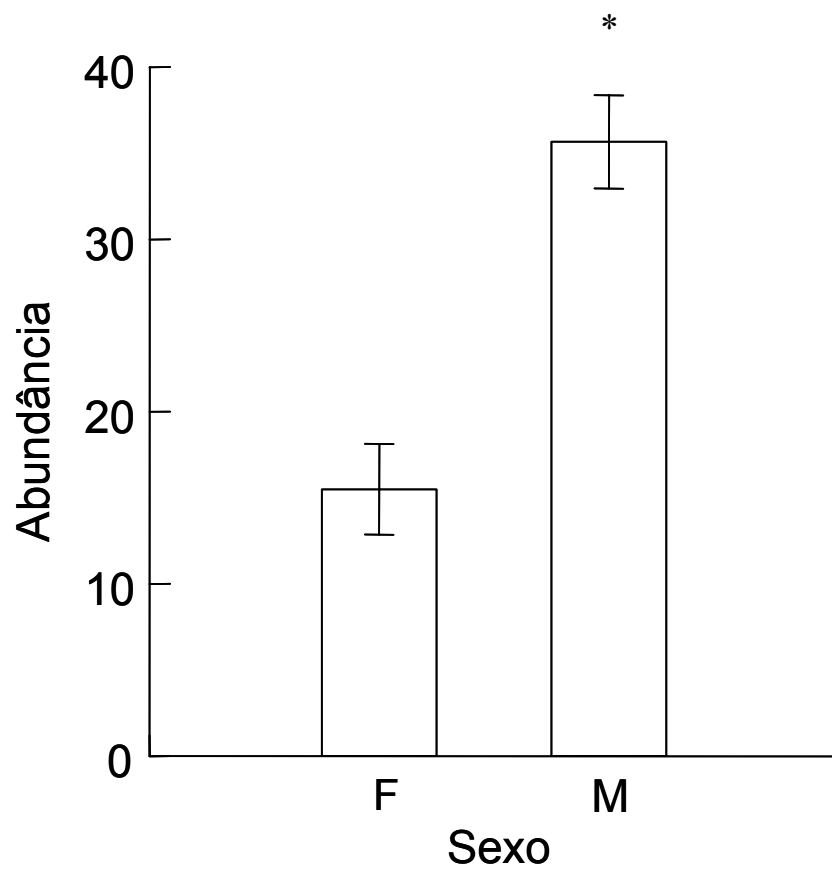


Figura 24. Gráfico de abundância relativa do 3-pentanol nas glândulas metasternais de machos (M) ou fêmeas (F) de *T. brasiliensis* ($F_{1,7} = 28.508$, $P < 0.001$).

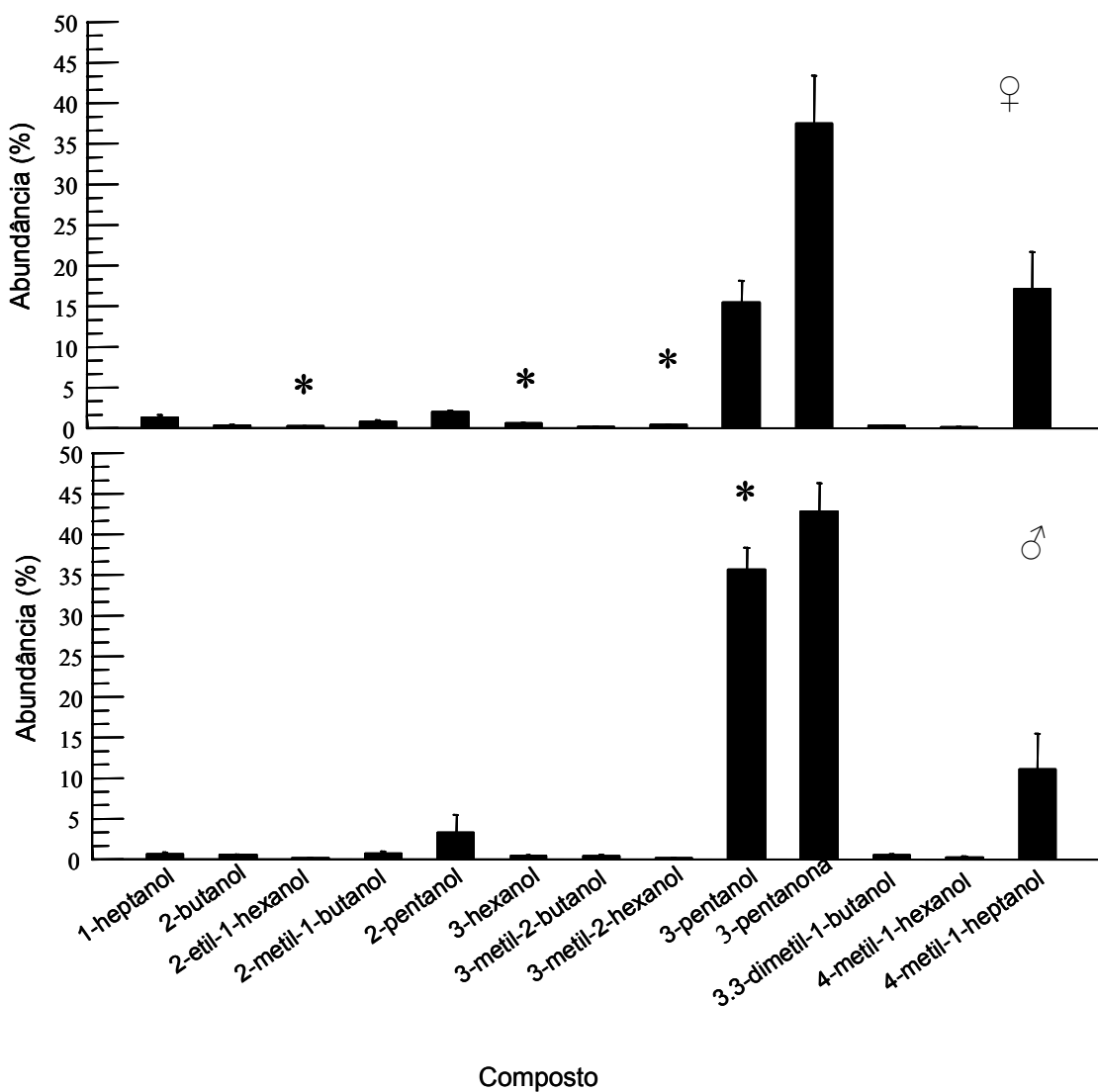


Figura 25. Gráfico de abundância relativa dos compostos presentes nas glândulas metasternais de machos e fêmeas de *T. brasiliensis*: 3-pentanol, com $F_{1,7} = 28.508$, $P < 0.001$; 2-etil-1-hexanol com $F_{1,7} = 11.109$, $P < 0.016$; 3-hexanol com $F_{1,7} = 13.661$, $P < 0.010$ e 3-metil-2-hexanol com $F_{1,7} = 18.358$, $P < 0.005$).

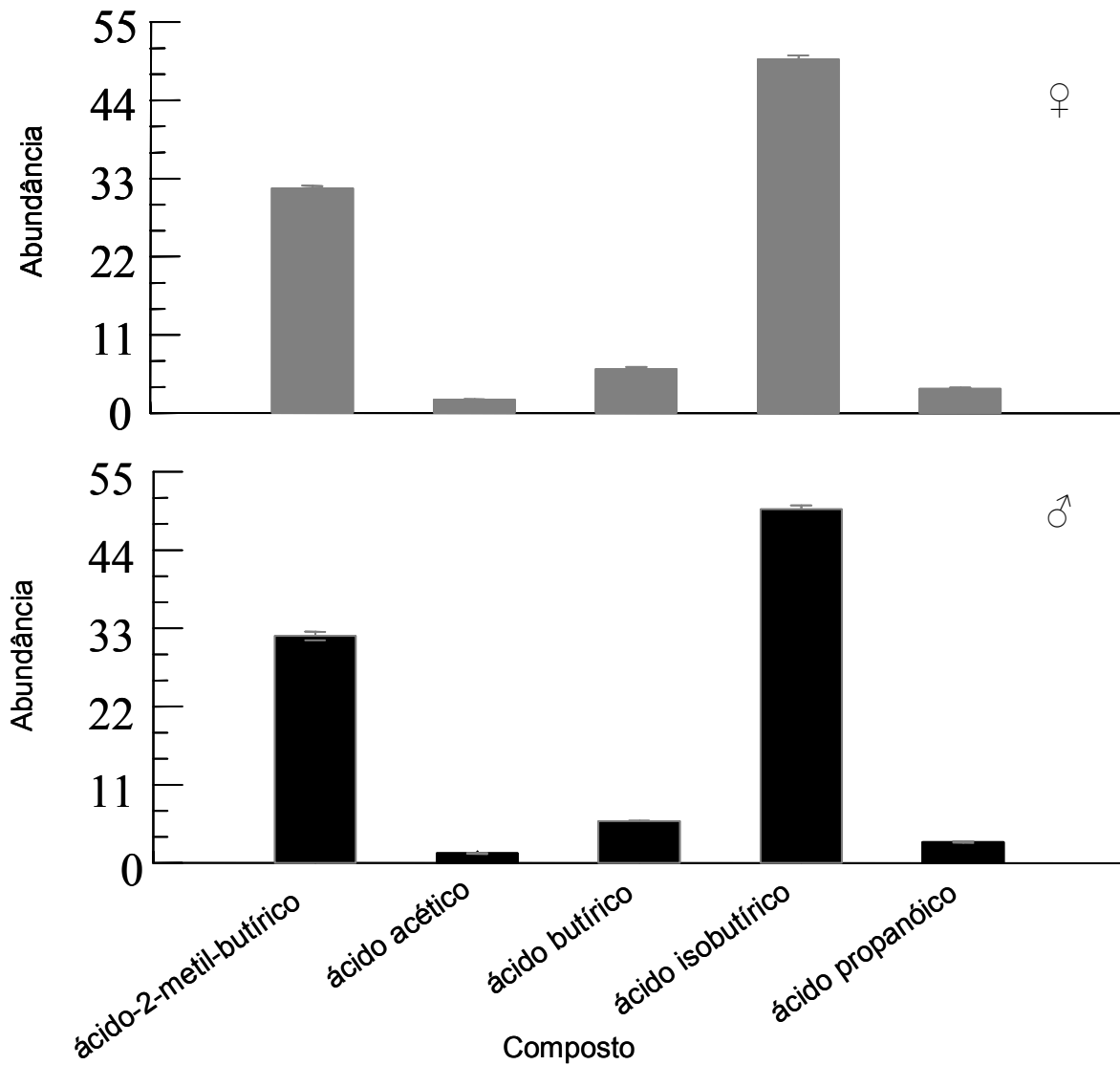


Figura 26. Gráfico de abundância relativa dos compostos presentes nas glândulas de Brindley de machos ou fêmeas de *T. brasiliensis* (ácido-2-metil-butírico $F_{1,7}=0.1522$, $P < 0.70$, ácido acético $F_{1,7}=0.1806$, $P < 0.97$, ácido butírico $F_{1,7}=0.8505$, $P < 0.39$, ácido isobutírico $F_{1,7}=1.1866$, $P < 0.99$ e ácido propanóico $F_{1,7}=0.9321$, $P < 0.40$).

4.4. Discussão

Identificação da secreção produzida pelas glândulas de Brindley

Estudos de identificação das secreções produzidas pelas glândulas de Brindley de adultos de várias espécies de triatomíneos e emitidas durante a perturbação mecânica destes insetos, vêm sendo realizados por décadas com resultados muitas vezes contraditórios. Esta inconsistência observada na literatura provavelmente se deve a diferenças metodológicas. Além disso, a constituição e proporção dos componentes numa mistura pode variar entre espécies, subespécies e até colônias diferentes (Miklas *et al.* 2000).

Neste estudo, a identidade da secreção emitida pelas glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* foi elucidada pela primeira vez. Uma mistura de 5 ácidos foi identificada: ácido acético; ácido propanóico; ácido isobutírico; ácido butírico e ácido 2-metil-butírico. O componente mais abundante nas glândulas de Brindley foi o ácido isobutírico e nenhuma diferença qualitativa ou quantitativa entre os sexos foi observada em relação ao seu conteúdo (Fig. 26). Todos os compostos detectados nas glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* estão presentes também na secreção produzida pelas mesmas glândulas em *T. infestans* (Manrique, dados não publicados). No entanto, as glândulas de Brindley de *T. infestans* produzem um conjunto de álcoois e ésteres, que estão completamente ausentes em *T. brasiliensis*.

Identificação da secreção produzida pelas glândulas metasternais

Nossos resultados demonstram que as glândulas metasternais de *T. brasiliensis* também estão envolvidas na síntese de substâncias voláteis. Estas glândulas produzem basicamente cetonas e álcoois, sendo que o principal constituinte encontrado nas glândulas de ambos os sexos foi a 3-pentanona, um composto altamente volátil, já relatado como infoquímico para outras espécies de insetos (Giblin-Davis 1995, Rochat *et al.* 2000). Outros compostos abundantes identificados incluem o 3-pentanol e 4-metil-1-heptanol. Os únicos autores a detectar em substâncias na secreção de glândulas metasternais de triatomíneos

(Rossiter & Staddon, 1983), identificaram somente um único pico de 3-metil-2-hexanona em *Dipetalogaster maximus*. Este composto, segundo sugerem estes autores, atuaria como uma substância de alarme na comunicação intraespecífica dos insetos ou na sua defesa, para repelir formigas predadoras. Como citado acima, a 3-pentanona e outras cetonas dessas glândulas são liberadas durante a perturbação mecânica dos adultos de *T. brasiliensis*, juntamente com os compostos produzidos pelas glândulas de Brindley. Desta maneira, as duas glândulas emitem compostos como resultado da reação à perturbação dos animais, no entanto não está claro se as secreções liberadas pelos dois tipos de glândulas apresentam funções diferentes. Cruz-Lopez *et al.* (1995) não conseguiram detectar constituintes químicos nas glândulas metasternais de *T. infestans* e sugerem que estas glândulas não seriam fontes de semioquímicos nestes insetos.

Por outro lado, algumas substâncias identificadas nas glândulas metasternais de machos e fêmeas de *T. brasiliensis* apresentam abundâncias significativamente diferentes. O 3-pentanol apresentou maior abundância relativa em machos do que em fêmeas, enquanto o 2-etil-1-hexanol, o 3-hexanol e o 3-metil-2-hexanol apresentaram maior abundância nas fêmeas. No entanto, estas diferenças observadas entre os sexos de *T. brasiliensis* podem não ter um significado biológico para a espécie. Nem sempre cada composto desencadeia uma reação comportamental específica no inseto, sendo necessária a interação entre compostos ou entre apenas alguns deles, para que determinada resposta ocorra. Ao mesmo tempo, há casos em que cada substância da mistura evoca um determinado comportamento como parte de uma seqüência comportamental, como acontece nas formigas da espécie *Oecophylla longinoda* (Atkins 1980, Bradshaw *et al.* 1979).

Identificação da secreção emitida após a perturbação mecânica

Frente à perturbação mecânica, adultos de *T. brasiliensis* liberaram uma mistura de 10 componentes diferentes, incluindo substâncias provenientes das

glândulas metasternais e de Brindley, constituída por cetonas, álcoois e ácidos graxos (Tabela 3). Os componentes da mistura emitida após a perturbação mecânica de adultos de *T.brasiliensis* são descritos pela primeira vez no presente trabalho. Os compostos presentes na secreção das glândulas de Brindley foram todos detectados na mistura de odores emitida por insetos adultos expostos à perturbação mecânica. De maneira semelhante, os compostos majoritários produzidos pelas glândulas metasternais foram detectados na mistura de odores emitida por estes insetos.

As evidências apresentadas por diversos autores sugerem que o ácido isobutírico, principal componente da mistura liberada por triatomíneos perturbados, pode atuar como secreção de defesa útil contra potenciais predadores e também como um sinal de alarme (Schofield 1975 e 1979, Kalin & Barrett 1975, Ward, 1981). Neste trabalho demonstramos que durante a perturbação, dois pares diferentes de glândulas exócrinas (glândulas metasternais e de Brindley) descarregam suas secreções ao ambiente. É necessário determinar, portanto, se o fato dos dois tipos de glândulas emitirem seus compostos simultaneamente representa um caso de redundância ou se cada secreção pode possuir funções diferentes.

Existem evidências de que há comunicação química no contexto sexual de algumas espécies de triatomíneos (Antich 1965, Baldwin *et al.* 1971, Manrique & Lazzari 1995, de Brito *et al.* 1995). Os compostos envolvidos na comunicação neste contexto nunca foram identificados, assim como sua fonte de produção é desconhecida. Manrique *et al.* (dados não publicados) detectaram a presença de substâncias emitidas pelas glândulas metasternais de *T. infestans* durante a cópula destes insetos. Estes fatos, juntamente com a demonstração de que as glândulas metasternais de triatomíneos são fonte emissora de uma mistura de substâncias voláteis, permitem considerar que os produtos destas glândulas podem estar envolvidos na comunicação destes insetos no contexto sexual. Potenciais mecanismos de encontro de parceiro sexual a longa e/ou curta distância em triatomíneos são atualmente desconhecidos e há possibilidade de existirem sinais químicos que medeiam a orientação dos insetos neste contexto.

As substâncias identificadas nas glândulas exócrinas estudadas no presente trabalho são candidatas a serem testadas como potenciais sinais químicos relacionados com a comunicação sexual destes insetos. Aqueles compostos cuja presença foi quantitativamente diferente entre os sexos podem ainda representar sinais específicos de reconhecimento sexual.

Fêmeas e machos perturbados do percevejo *Lygus lineolaris* (Miridae) liberam uma mistura de compostos voláteis constituída por (*E*)-2-hexenal, (*E*)-1-hexenol, (*E*)-2-hexenol, hexil butirato, (*E*)-2-hexenil butirato e (*Z*)-3,4-oxohexenal (Wardle *et al.* 2003). Segundo estes autores, estes compostos apresentam funções múltiplas, e esse modo de utilização de substâncias para funções diversas também foi verificado para outros Heteroptera (Lockwood & Story 1985, 1987, Gunawardena & Bandumathie 1993, Pavis *et al.* 1994). Em parte eles podem apresentar uma função de defesa (Staddon 1979, Aldrich 1988), outra possível função é como feromônio de alarme causando dispersão (Wardle *et al.* 2003). Krall *et al.* (1999) sugerem que o composto de defesa liberado pelo pentatomídeo *Cosmopelma bimaculata* também funciona como um feromônio de alarme. Populações de *Lygus lineolaris* podem manter altas densidades, admitindo que a função de alarme dos voláteis tenha evoluído secundariamente, a partir de uma função de defesa, que resulta em benefício para estes insetos por dispersarem após perceberem a liberação do composto defensivo pelos co-específicos (Nault & Phelan 1984, Blum 1985).

O fato de apenas triatomíneos adultos apresentarem glândulas metasternais e de Brindley, pode ser devido às diferenças no modo de vida entre os diferentes estádios. Em muitas espécies de baratas, a seleção do habitat é diferente entre ninfas e adultos sexualmente maduros (Schal *et al.* 1984). Muitas ninfas vivem no solo, onde o abrigo é abundante, enquanto os adultos são freqüentemente expostos aos predadores durante a procura por parceiro e recurso alimentar, precisando de defesas mais eficientes. Ninfas e adultos de algumas espécies de Blattidae evoluíram estratégias específicas de defesa, ninfas dependem da secreção de deterrentes produzidos pelos segmentos abdominais

(Schal *et al.* 1982, Abed *et al.* 1994), enquanto os adultos secretam um líquido pulverizado pela glândula esternal que tem função de defesa (Farine *et al.* 2002).

As glândulas metasternais de Heteroptera originalmente apresentam constituintes com função de defesa, e pelo menos em alguns casos, evoluíram posteriormente para a produção de feromônios sexuais (Blum 1996). É possível que os voláteis produzidos por estas glândulas em *T. brasiliensis* tenham evoluído também para uma nova função de maneira parcimoniosa. Bioensaios são necessários para elucidar o papel funcional desta mistura de odores em *T. brasiliensis*. A natureza multicomponente das secreções deve ser considerada, levando em conta a partir desse fato a possibilidade de que existam ainda fenômenos de ativação, inibição e sinergismo na presença simultânea de diferentes componentes.

Um maior conhecimento da fisiologia sensorial e do comportamento de *T. brasiliensis* pode possibilitar o desenvolvimento de novos métodos de controle de suas populações. O estudo da comunicação química e da maneira com que estes insetos fazem uso da informação proveniente do ambiente pode contribuir para o desenho de armadilhas e iscas dirigidas à captura e controle destes insetos.

Comportamento sexual em *Triatoma brasiliensis*

5.1. Introdução

O comportamento sexual dos insetos pode ser dividido nas seguintes fases sucessivamente: (1) atração a longa distância, compreendendo vôo ou locomoção orientados por correntes de ar até a fonte de odor, (2) atração a curta distância, (3) comportamento de corte, (4) acasalamento, ocorrendo transferência de esperma e (5) em alguns casos o macho guarda a fêmea para prevenir acasalamentos subseqüentes da mesma. Nem todas as fases mencionadas estão necessariamente incluídas no comportamento sexual de todas as espécies de insetos. Por exemplo, em espécies gregárias os parceiros não são atraídos a longa distância (Cardé & Bell, 1995). Quando os adultos não estão próximos uns dos outros, um dos sexos pode localizar seu parceiro por meio de comunicação visual, química e/ou acústica (Lewis, 1984). Usualmente, um dos sexos emite um sinal para atrair o outro sexo. Sinais químicos parecem especialmente efetivos para atrair parceiros sexuais a longa distância (Cardé & Bell 1995, Cardé & Minks 1997).

Quando um sinal químico atrai um dos sexos na espécie, estes sinais são chamados feromônios sexuais. Em muitas espécies de insetos o macho emite um feromônio que atrai fêmea. Em muitas outras espécies de insetos são as fêmeas que emitem um feromônio para atrair machos, sendo este caso o mais comumente encontrado em insetos. Ao mesmo tempo, atração à longa e curta distância podem ocorrer entre os sexos. A produção e liberação do feromônio sexual de um organismo emissor e sua resposta no receptor dependem da idade, tempo e horário de acasalamento, estado fisiológico e vários fatores ambientais (McNeil 1991, Raina 1989, Raina *et al.* 1994, Landolt & Philips 1997). Por exemplo, fêmeas podem somente liberar o feromônio quando próximas da planta

hospedeira, já que esta afeta seu sucesso reprodutivo atuando como alimento para a prole (Raina *et al.* 1992).

O comportamento sexual dos insetos não necessariamente termina com o primeiro acasalamento. Fêmeas de muitas espécies de insetos acasalam mais de uma vez. Quando uma fêmea se reacasala, pode haver competição por esperma no seu aparelho reprodutor determinando qual esperma vai fertilizar seus ovos. A maioria dos óvulos provavelmente são fertilizados com o esperma procedente do último macho que realizou a cópula (Thornhill & Alcock 1983), embora as fêmeas possam ter influência, através da manipulação da ejaculada e outros processos, na origem do esperma que fertilizará seus ovos (Eberhard 1996).

O comportamento de acasalamento em várias espécies de triatomíneos vem sendo estudado em condições de laboratório (Hase 1932, Sordillo & de Almeida 1988, Lima-Carvalho *et al.* 1985, Lima *et al.* 1986, Rojas *et al.* 1990, Rojas & Cruz-López 1992, Manrique & Lazzari 1994, García-Pérez *et al.* 1997), revelando que estes insetos apresentam um comportamento simples de corte e cópula.

Os triatomíneos tornam-se aptos para a reprodução após a muda imaginal. Entre as alterações corporais ocorridas neste processo, destacam-se o aparecimento das asas, das glândulas exócrinas (metasternais e de Brindley) e o desenvolvimento do aparelho reprodutor. O acúmulo de um volume mínimo de sangue no estômago é condição essencial para que ocorra a cópula em algumas espécies, como em *R. prolixus*, *T. infestans* e *T. barberi* (Abalos & Wygodzinsky 1951, Baldwin *et al.* 1971, Regis 1977, Zárate 1983), caracterizando a maturação sexual dos insetos (Perlowagora-Szumlewiecz, 1969). Regis *et al.* (1985) observaram que para *T. infestans* a primeira alimentação após a muda imaginal é fundamental para o funcionamento das glândulas acessórias dos machos, importantes na formação do espermátóforo e sua posterior transferência. O mesmo não foi observado para *P. megistus*, que está apto para a reprodução mesmo antes da alimentação (Lima *et al.* 1986).

Ao contrário de alguns Heteroptera como *Haemerosiphon inodorus* (Lee 1954), *Hesperocimex sonorensis* (Ryckman 1958) e *Cimex lecticularius* (Davis

1964) que geralmente não amadurecem ovos antes do acasalamento, fêmeas de *T. brasiliensis* conseguem por alguns ovos mesmo quando virgens e submetidas a um jejum completo após a muda imaginal (Perondini *et al.* 1975). Quando alimentadas freqüentemente, estas fêmeas, apesar de virgens, ovipoem com regularidade. Em alguns Diptera e Lepidoptera a vitelogênese ocorre na ausência de acasalamento, necessitando, no entanto, da cópula para postura. Resultados conclusivos evidenciam em alguns Dycioptera, como *Periplaneta americana* (Griffith *et al.* 1942), e Diptera (Engelmann 1959) que a cópula acelera a maturação dos ovócitos e, em conseqüência, aumenta o número de ovos postos durante a vida do animal.

Fêmeas de *T. brasiliensis* podem copular até 27 vezes, com duração de 6 minutos, e vivem aproximadamente 245 dias. Quando acasaladas muitas vezes, põem maior número de ovos e ingerem maior quantidade de sangue do que fêmeas acasaladas uma vez ou virgens. Alguns fatores influenciam a fecundidade, entre eles a cópula, a alimentação e a longevidade (Brasileiro 1982).

Observações ocasionais, sem dados quantitativos, de rejeições das fêmeas frente a tentativas de cópula dos machos foram mencionadas por Lima *et al.* (1986a) em *P. megistus* e por Rojas *et al.* (1990) em *T. mazzottii*. A relevância do comportamento das fêmeas no sucesso do acasalamento vem sendo analisada nas principais espécies vetoras de triatomíneos. Manrique & Lazzari (1994) descreveram em *T. infestans* quatro principais tipos de resposta de rejeição exibidos pelas fêmeas: achatamento corporal e evasão, ambas ocorrendo com maior freqüência, seguidas por movimentos abdominais e por último estridulação.

O mesmo foi observado para *P. megistus*, na mesma seqüência de ocorrência (Pires *et al.* 2004). De acordo com Manrique & Lazzari (1994), o comportamento de rejeição das fêmeas nem sempre previne a ocorrência de cópula, no entanto, os quatro tipos de rejeição podem provocar a interrupção das tentativas realizadas pelos machos.

Este capítulo tem como principais objetivos descrever detalhadamente o comportamento de cópula de *T. brasiliensis* e avaliar a influência da idade e da alimentação na motivação dos insetos para copular.

5.2. Materiais e Métodos

5.2.1. Comportamento de acasalamento em *T. brasiliensis*

Ninfas de 5^o estágio de *T. brasiliensis*, criadas em laboratório a $27^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e mantidas em fotoperíodo 12:12 L/E, foram separadas por sexo em diferentes recipientes (4,0 cm de altura x 4,0 cm de diâmetro) até completarem a muda imaginal. Os adultos emergidos foram alimentados em galinha com 20 dias de idade e mantidos individualmente nos recipientes, contendo como substrato um pedaço de papel de filtro e cobertos por uma malha de nylon. Foram utilizados sete casais virgens com oito dias de idade, iniciando os ensaios um dia após a primeira alimentação. Os insetos não voltaram a ser alimentados durante o experimento.

Foi utilizada uma arena experimental de vidro (1,5 cm de altura e 18 cm de diâmetro) coberta por uma tampa transparente também de vidro (20 cm de diâmetro) e papel de filtro como substrato (16 cm de diâmetro). Os insetos foram transferidos para a sala de experimentação 1 hora antes de iniciar os ensaios. Em cada ensaio, uma fêmea e um macho foram introduzidos cuidadosamente no centro da arena experimental usando pequenos recipientes que foram virados para liberar os insetos. O registro de dados para posterior análise do comportamento sexual foi realizado através da observação direta. Os casais (N=7) foram mantidos em contato por 15 minutos diariamente, durante um período de 20 dias. As tentativas de cópula dos machos aceitas pelas fêmeas foram interrompidas no instante prévio à inserção do edeago pelo macho na genitália da fêmea, de maneira a preservar o estado de virgindade dos insetos ao longo do estudo. Para descrever os componentes comportamentais do acasalamento desta

espécie foram registrados: a) número e tipo de tentativas de cópula exibidas pelos machos, b) número e o tipo de rejeições exibidas pelas fêmeas e c) número de casais que copularam. Para verificar a duração da cópula foi permitido que outros 6 casais virgens, com 25 dias de idade após muda imaginal e alimentados no 10º dia, realizassem a cópula. As diferentes etapas comportamentais da cópula são aqui descritas utilizando a mesma nomenclatura empregada por autores prévios (Lima *et al.* 1986, Rojas *et al.* 1990, Manrique & Lazzari 1998), com o objetivo de fazer uma descrição comparável do comportamento de acasalamento.

5.2.2. *Maturação sexual*

Ninfas de 5º estágio de *T. brasiliensis*, criadas em laboratório a $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e mantidas em fotoperíodo 12:12 L/E, foram separadas por sexo em diferentes recipientes (6,0 cm de altura x 20,0 cm de diâmetro), até completarem a muda imaginal. Os adultos emergidos foram alimentados em camundongos suíços (*Mus musculus*) e ratos Wistar. Foi utilizada uma arena experimental de vidro (15 cm de altura e 20 cm de diâmetro) coberta por uma tampa transparente também de vidro (22 cm de diâmetro) e papel de filtro como substrato (18 cm de diâmetro). Para os ensaios foram utilizados 10 casais virgens em jejum, com a primeira alimentação oferecida somente após completarem 27 dias de idade. Vale ressaltar que naquela ocasião todos os indivíduos aceitaram um repasto sanguíneo. O comportamento de acasalamento foi observado durante 37 dias, com 30 min diários de observação direta para cada ensaio. As tentativas de cópula aceitas pelas fêmeas foram interrompidas no instante prévio à inserção do edeago pelo macho na genitália da fêmea, para garantir que os insetos permanecessem virgens durante todo o experimento. Os experimentos foram realizados numa sala com iluminação controlada (18 a 19 lux).

Para quantificar o efeito da idade e do estado alimentar sobre diversos parâmetros do comportamento sexual dos insetos adultos desta espécie foram registrados antes e após a alimentação: a) número de tentativas de cópula realizadas pelos machos, b) número de rejeições exibidas pelas fêmeas e c) número de cópulas.

5.3. Resultados

5.3.1. Comportamento de acasalamento

a) Comportamento do macho durante o acasalamento

O padrão de acasalamento consistiu essencialmente de cinco etapas comportamentais. Após um curto período (2 min) de exploração da arena, os insetos tentam copular realizando alguns comportamentos estereotipados:

1. Posição vigilante: o macho deixa de caminhar e move suas antenas em direção à fêmea.
2. Salto: o macho se aproxima da fêmea e repentinamente salta e se coloca lentamente sobre o dorso desta.
3. Posição dorso-lateral: o macho se posiciona dorsolateralmente sobre a fêmea pelo lado direito ou esquerdo. Nesta posição a fêmea permanece imobilizada pela ação dos três pares de patas do macho que se posicionam dorsal e ventralmente. Na posição dorso lateral, a porção posterior do abdômen do macho se coloca por debaixo da porção posterior do abdômen da fêmea, expondo a genitália.
4. Cópula: já em posição lateral, o macho aproxima a porção posterior do abdômen da fêmea utilizando seu terceiro par de patas. Os parâmeros do macho auxiliam na fixação da sua genitália em relação à da fêmea, permitindo a introdução do edeago. A duração da cópula variou entre 6 ± 7 min.
5. Separação: ocorre a separação das genitálias, o macho desce da fêmea e se afasta.

b) Comportamento de rejeição das fêmeas durante o acasalamento

Frente às tentativas de cópula dos machos, as fêmeas não receptivas responderam exibindo os seguintes três tipos de comportamento de rejeição:

1. Movimentos abdominais: a fêmea move suas patas e seu corpo para baixo e para cima repetidamente.
2. Achatamento corporal: a fêmea achata seu corpo contra o substrato e realiza movimentos laterais rápidos, de maneira que o macho não consegue se posicionar sobre a região lateral da fêmea, ficando impossibilitado de alcançar a genitália feminina.
3. Evasão: a fêmea se afasta em resposta à tentativa do macho, deslocando-se brusca e rapidamente.

As frequências de ocorrência dos diferentes tipos de rejeições estão ilustradas na Figura 27. Foi observado um total de 311 rejeições em resposta a 310 tentativas dos machos durante um período de 20 dias. As rejeições por achatamento corporal foram mais frequentes, seguidas pelos movimentos abdominais e a evasão, que obteve a menor frequência em todos os ensaios analisados.

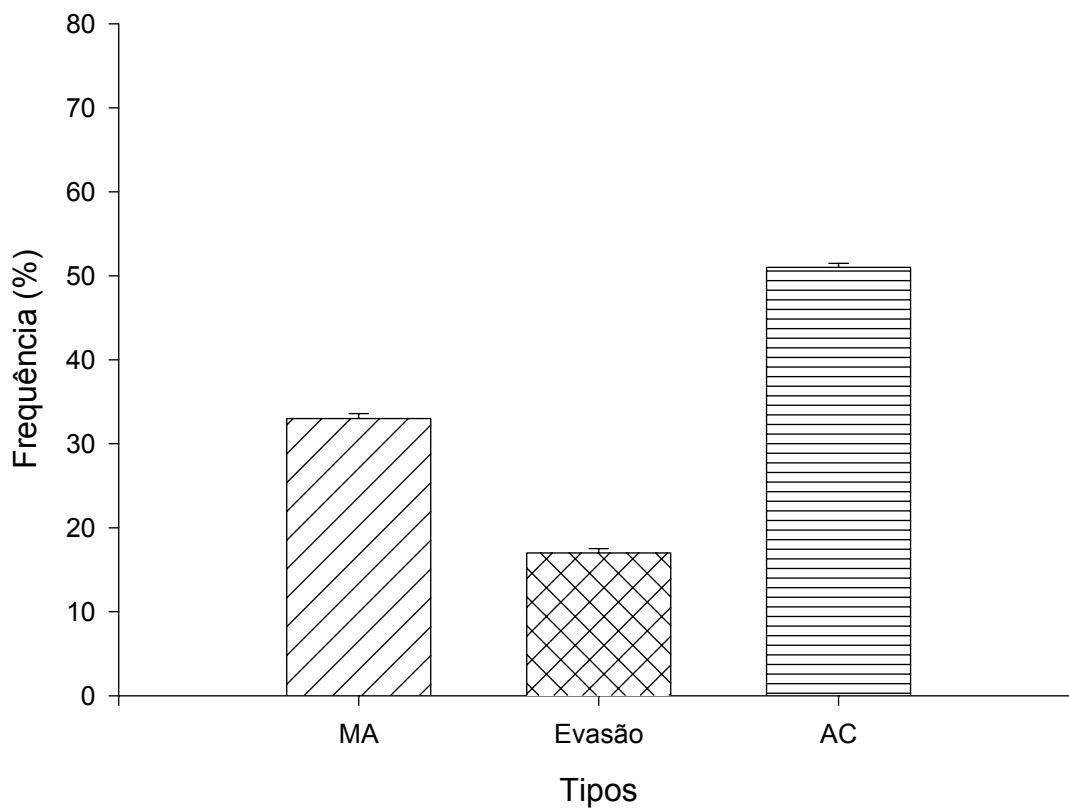


Figura 27. Frequência relativa dos diferentes tipos de comportamento de rejeição exibidos pelas fêmeas de *T. brasiliensis*. (MA: movimentos abdominais, evasão e AC: achatamento corporal, N= 7).

5.3.2. *Maturação Sexual*

O número de tentativas de cópula realizadas pelos machos variou em função da idade, aumentando a partir do 10^o dia. No entanto, os machos tentaram copular desde o primeiro dia, mas foram rejeitados pelas fêmeas (Fig. 28). As fêmeas foram mais receptivas 6 ± 7 dias após a alimentação, o que continuou ocorrendo nos 5 dias subseqüentes em todos os casais observados. A análise do comportamento das fêmeas revelou que o número de rejeições em resposta às tentativas dos machos se manteve igual durante o período pré-alimentação (Fig. 29).

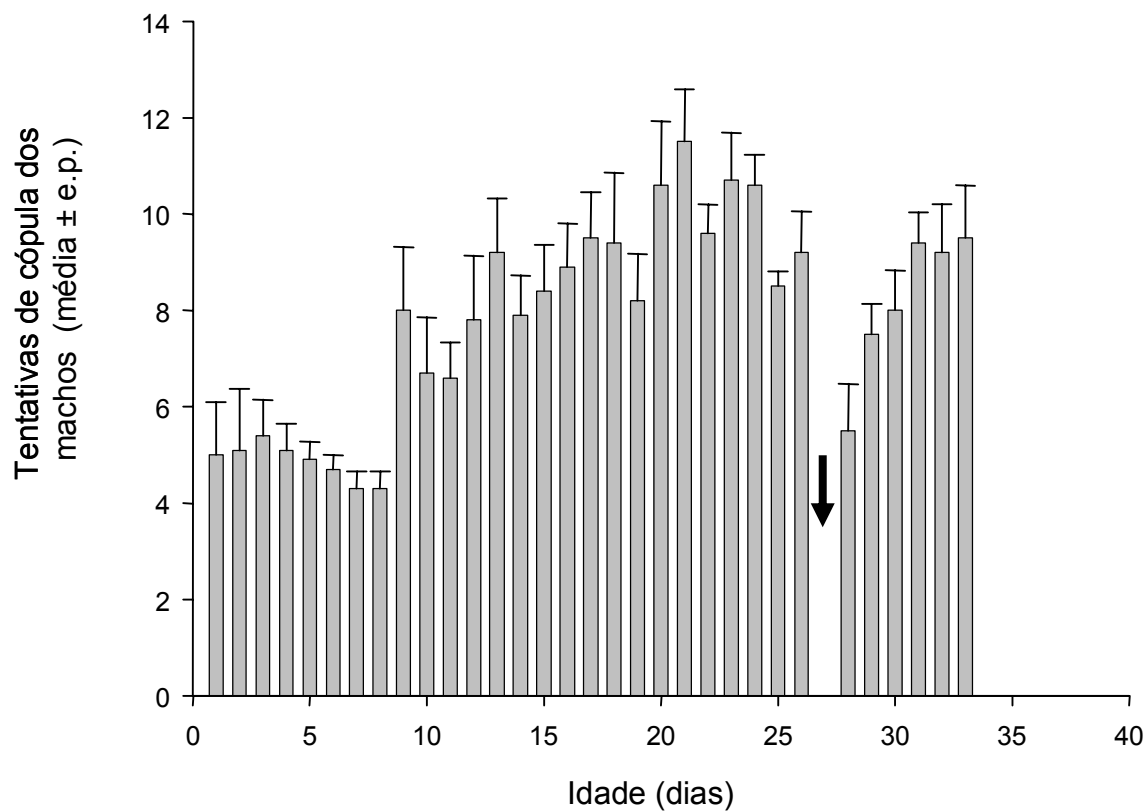


Figura 28. Número médio de tentativas de cópula dos machos de *T. brasiliensis* em função da idade (N=10). A seta indica o dia em que foi oferecida a alimentação (27^o dia).



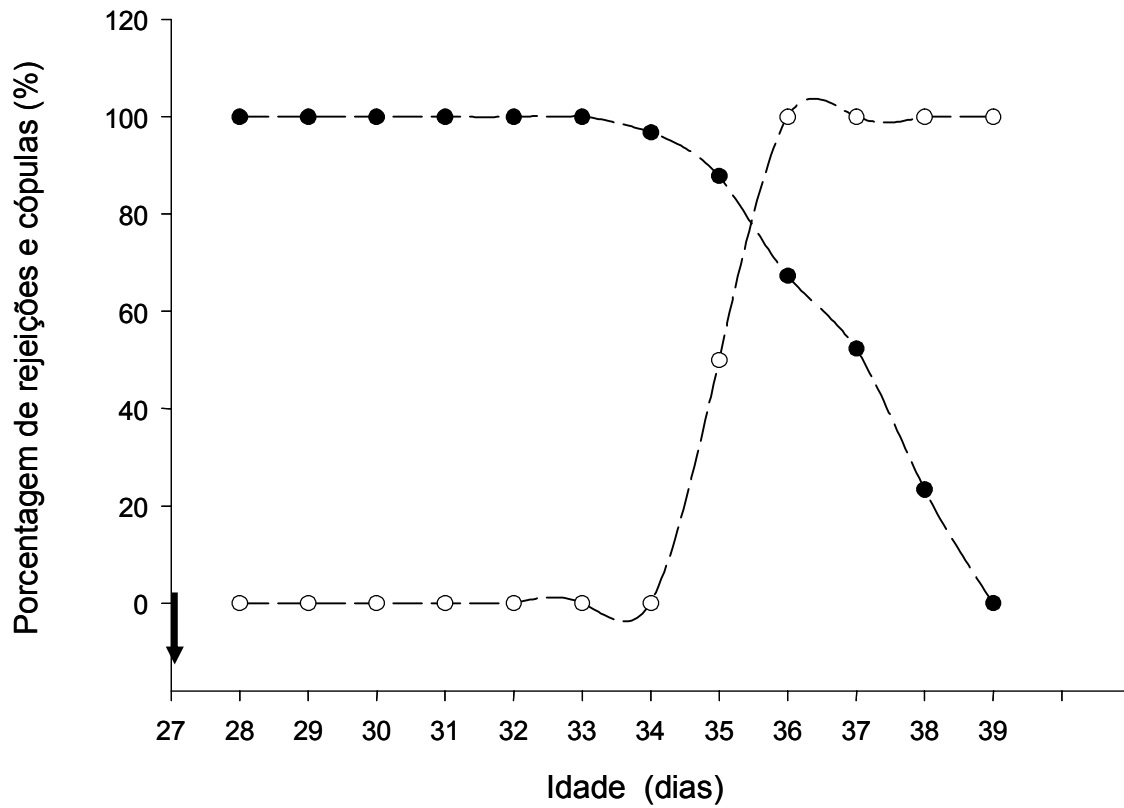


Figura 29. Porcentagem diária de rejeições (●) e porcentagem diária de fêmeas de *T. brasiliensis* que copularam (○) em função do tempo pós-alimentação (N=10). A primeira alimentação foi oferecida no 27^o dia (seta).

5.4. Discussão

Comportamento de acasalamento em T. brasiliensis

No presente trabalho, podemos observar que a seqüência comportamental que leva ao acasalamento em *T. brasiliensis* segue um modelo geral descrito preliminarmente por Lima *et al.* (1986b) em *P. megistus*, e descrito e analisado quantitativamente por Manrique & Lazzari (1994) em *T. infestans* e por Pires *et al.* (2004) para *P. megistus*. No presente estudo, os machos sempre realizaram ativamente a aproximação para a cópula, como previamente descrito pelos autores acima mencionados.

Nossos resultados mostraram que a cópula tem duração média de 6 ± 7 minutos em *T. brasiliensis*. De acordo com Brasileiro (1982), fêmeas de *T. brasiliensis* podem copular até 27 vezes ao longo da vida, com duração de 6 minutos e longevidade de aproximadamente 245 dias. Quando acasaladas muitas vezes, põem maior número de ovos e ingerem maior quantidade de sangue do que fêmeas acasaladas uma vez ou virgens. Este fato sugere haver relevância na cópula poliândrica como fator modulador da fecundidade das fêmeas em algumas espécies de triatomíneos.

A cópula pode durar poucos minutos (Mitchell & Mau 1969, Lima *et al.* 1986, Rojas *et al.* 1990, Carroll 1991, Manrique & Lazzari 1994), embora em muitos heterópteros tenham sido observadas cópulas prolongadas, que podem durar várias horas ou dias (Tostowaryk 1971, Carroll & Loye 1990, Wang & Millar 1997). Tais cópulas prolongadas representam provavelmente uma estratégia do macho para guardar a parceira (McLain 1985 Alcock 1994), um comportamento não observado em *T. brasiliensis*, mas já descrito para *P. megistus* (Pires *et al.* 2004). Fêmeas de *T. infestans* aparentemente realizam cópulas sucessivas com vários machos em poucos minutos (Manrique, comunicação pessoal). Este fato foi observado ocasionalmente em nossos estudos com *T. brasiliensis* (dados não publicados). Portanto, em alguns triatomíneos aparentemente haveria cópulas

poliândricas, o que provavelmente permitiria a potencial ocorrência de competição por esperma, reduzindo a chance de utilização do esperma do primeiro macho para fertilizar os ovos, como acontece com outros insetos (Thornhill & Alcock 1983). Já para *P. megistus*, a ocorrência de uma única cópula ao longo da vida das fêmeas dessa espécie parece indicar uma diferenciação drástica nas suas estratégias reprodutivas em relação aos exemplos descritos anteriormente para outros triatomíneos.

Maturação sexual

a) Comportamento de rejeição nas fêmeas de T. brasiliensis

Estudos prévios com *P. megistus* e *T. infestans* descreveram a ocorrência de diferentes tipos de comportamento de rejeição exibidos pelas fêmeas, como estridulação, movimentos abdominais, evasão e achatamento corporal (Manrique & Lazzari 1994, Pires *et al.* 2004). Neste trabalho, observamos que as fêmeas de *T. brasiliensis* apresentam somente três tipos de comportamento de rejeição frente às tentativas de cópula dos machos. A rejeição por achatamento corporal apresentou uma frequência de 51%, contra 39,3% em *P. megistus* e 40% em *T. infestans*. Em segundo lugar, os movimentos abdominais tiveram uma frequência de 33% contra 20% em *T. infestans* e 29% em *P. megistus*. Finalmente, enquanto a evasão somente aconteceu em 17% dos casos em *T. brasiliensis*, esta foi a segunda maior categoria de rejeição em *T. infestans* (25%) e aconteceu em 15% dos casos em *P. megistus*. Apesar das semelhanças destes resultados com aqueles descritos em *P. megistus* e *T. infestans*, com exceção da estridulação, as porcentagens observadas parecem refletir diferenças específicas no comportamento das fêmeas.

Não observamos estridulação como resposta de rejeição das fêmeas de *T. brasiliensis*. Os triatomíneos produzem estridulações esfregando a ponta da probóscide contra o sulco estridulatório localizado no prosterno (Schofield 1977). Diversos autores sugeriram que a estridulação constitui um meio de comunicação entre machos e fêmeas de triatomíneos (Manrique & Lazzari 1994, Roces & Manrique 1996, Schilman *et al.* 2001). As estridulações produzidas num contexto de perturbação mecânica diferem estruturalmente daquelas usadas para deter os

machos, particularmente quanto à duração das sílabas, taxa de repetição silábica e frequência portadora, indicando que constituem sinais diferentes (Roces & Manrique 1996, Manrique & Schilman 2000). A estridulação em *T. brasiliensis* não parece desempenhar um papel na comunicação intraespecífica.

Curiosamente, o achatamento corporal foi o tipo de rejeição que ocorreu com maior frequência em todas as espécies estudadas. Considerando que para realizarem a cópula os machos precisam se colocar em posição lateral em relação ao abdômen da fêmea, este tipo de rejeição provavelmente é o mais eficiente para evitar a cópula, pois a fêmea oculta a área ventral do corpo na qual o macho precisa se firmar para segurá-la lateralmente.

6. b) Motivação para o acasalamento e alimentação

Sabe-se que a cópula e a alimentação estão envolvidas na modulação da função ovariana em *R. prolixus* (Pratt & Davey 1972a, b). Vários estudos descrevem o importante papel da idade dos machos na ocorrência da primeira cópula em triatomíneos (Regis *et al.* 1985, Malo *et al.* 1993). Em *T. infestans* e *P. megistus* (Manrique & Lazzari 1994, Pires *et al.* 2004) o número de tentativas de cópula dos machos não variou ao longo do tempo, ou seja, eles continuaram apresentando a mesma motivação para copular antes e após a alimentação. Nas nossas condições experimentais, o número de tentativas de cópula exibidas pelos machos foi menor durante os 10 primeiros dias de idade e a partir de então, aumentou claramente e não variou ao longo do tempo.

Nossos resultados mostram que as fêmeas de *T. brasiliensis* modificam sua disposição para copular dependendo do estado nutricional do casal, como já demonstrado para *T. infestans* (Manrique & Lazzari 1994) e *P. megistus* (Pires *et al.* 2004). Porém, é ainda necessário determinar se a alimentação afeta simplesmente a taxa de rejeição das fêmeas ou se pelo contrário, afeta a qualidade dos machos por meio de algum mecanismo de avaliação destes utilizado pelas fêmeas. Por um lado, é possível que após a alimentação, as fêmeas simplesmente deixem de rejeitar as tentativas dos machos devido à

presença de nutrientes no seu intestino que lhes garantem a produção de ovos. Por outro lado, uma mudança na qualidade dos machos após a alimentação, poderia afetar a decisão da fêmea de aceitar ou não a cópula, através de alguns fatores como; a emissão de sinais químicos ou produção de vibrações.

Nossos resultados demonstram uma variação gradual no número de rejeições exibidas pelas fêmeas após a alimentação. Além disso, demonstramos que nesse estado as fêmeas de *T. brasiliensis* podem copular imediatamente após rejeitarem algumas tentativas de cópula do macho, mudando gradualmente ao longo dos dias até atingirem um ponto em que a cópula acontece sem nenhuma rejeição. Sugere-se que algum mecanismo comportamental desencadeado na fêmea dias após a alimentação esteja determinando a ausência de rejeições e conseqüente aceitação da cópula.

Há evidências de que em Lepidoptera, Homoptera e Heteroptera a receptividade das fêmeas está associada com a produção de feromônio sexual (Strong *et al.* 1970). Por outro lado, como os machos de *T. brasiliensis* tentam copular durante todo tempo, não seria necessário para as fêmeas liberar um feromônio sexual para indicar receptividade. O macho, após uma seqüência de tentativas, poderia liberar um sinal químico que estimularia as fêmeas a copular. Estudos futuros são necessários para testar se as fêmeas de *T. brasiliensis* emitem um feromônio sexual para indicar receptividade durante o período de menor probabilidade de rejeição das tentativas de cópula dos machos ou se são os machos que liberam um sinal “afrodisíaco”.

Regis *et al.* (1985) concluíram que a ocorrência de cópula em *T. infestans* depende principalmente da idade dos machos e que as fêmeas poderiam estar receptivas a partir do 4^o dia após a muda imaginal, sendo que neste experimento os adultos foram receptivos imediatamente após a muda imaginal. O mesmo foi observado em *T. mazzottii* (Malo *et al.* 1993). Vale destacar que em nossos experimentos os adultos foram alimentados no 27^o dia após a ecdise e que os casais não foram mantidos permanentemente juntos durante todo o experimento. Os machos de *T. brasiliensis* parecem aumentar o número de tentativas com a idade, mas isto não permite afirmar que a ocorrência de cópula é dependente da

idade dos machos, porque as fêmeas de *T. brasiliensis*, de acordo com nossos dados, não copulariam em jejum.

Manrique & Lazzari (1994), em suas análises do comportamento sexual de *T. infestans*, descreveram que, a partir de 16 dias após a alimentação, 100% dos casais expressaram motivação para copular diariamente. Em *T. brasiliensis*, seis dias após a primeira alimentação, 100% dos casais já tinham expressado disposição para copular. Assim como na maioria dos insetos, nos triatomíneos a reprodução ocorre sob controle hormonal e envolve fatores neuroendócrinos e endócrinos. As fêmeas de *R. prolixus* tem servido de modelo clássico para o estudo da função ovariana nos insetos (Davey 1984). Sabe-se que a cópula e a alimentação estão envolvidas na modulação da função ovariana em *R. prolixus* (Pratt & Davey 1972a, b). Nesta espécie, um aglomerado de ovos é depositado após cada refeição sanguínea, e o número de ovos depositado depende do tamanho da refeição ingerida (Buxton 1930). Cada ato alimentar promove a secreção do hormônio juvenil, que regula a produção de vitelogenina pelo corpo gorduroso (Coles 1965), o desenvolvimento pré vitelogênico dos óocitos e a vitelogênese. Neste último caso, o hormônio juvenil induz a separação das células foliculares entre si, de maneira que as proteínas da hemolinfa tenham acesso livre aos óocitos (Abu-Hakimma & Davey 1977). A cópula, por outro lado, provoca a liberação de substâncias da espermateca da fêmea, estimulando células neurosecretoras. Entretanto, estas substâncias não são suficientes. Um segundo estímulo representado por um ecdisteróide do ovário (ecdisterona) sinaliza que existem ovos maduros. Os ecdisteróides não agiriam diretamente sobre as células neuroendócrinas, mas através de uma via aminérgica (Gorbman & Davey 1991). Como resposta os *corpora cardiaca* liberam um fator miotrópico que aumenta a motilidade dos músculos do oviduto. A presença de ovos maduros no ovário faz com que células neurosecretoras periféricas secretem um fator antigonodotrópico que bloqueia a vitelogênese nos óocitos mais jovens, impedindo a produção subsequente de ovos (Davey & Kuster 1981).

Thornhill (1983, 1984a) definiu os processos influenciados pelas fêmeas durante e/ou após a cópula, que levam à fertilização dos ovos por um ou outro macho, como escolha críptica da fêmea. Os processos são crípticos no sentido em que eles ocorrem no corpo da fêmea e não podem ser diretamente observados. Eberhard (1996), observando a literatura contemporânea sobre a biologia reprodutiva da perspectiva da fêmea, ilustrou mais de 20 mecanismos potencialmente diferentes no comportamento, morfologia e fisiologia da fêmea que podem contribuir direta ou indiretamente na variação não aleatória de paternidade da prole. Quinze mecanismos podem ser aplicáveis aos insetos e podem ser classificados em cinco categorias principais: influência da fêmea sobre o reacasamento, transferência de esperma durante o acasalamento, transporte e estocagem de esperma, utilização de esperma e investimento na prole (Simmons 2001). Eberhard (1991, 1994, 1996) sugere que, as fêmeas podem escolher os machos durante a cópula, e reconhece uma ampla ocorrência de corte no contexto sexual como uma possível via pela qual os machos tentam persuadir as fêmeas para transportar seu esperma até os seus órgãos de estocagem e, dessa maneira, aumentar seu sucesso reprodutivo individual.

Simmons & Parker (1992), Ward (1993) e Parker & Simmons (1994, 2000) tem demonstrado que machos grandes apresentam uma taxa alta e constante de transferência e deslocamento de esperma em relação a machos pequenos. Talvez as fêmeas de *T. brasiliensis* sejam capazes de diferenciar esta dimensão e/ou outros parâmetros relacionados com a escolha do parceiro. Portanto, experimentos onde sejam oferecidos parceiros com diferentes qualidades, ou seja, alimentação, tamanho ou peso, precisam ser realizados para determinar se o comportamento de rejeição representa um mecanismo de escolha do macho pelas fêmeas de triatomíneos.

6.0. Discussão Geral

As glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* apresentam uma porção secretora que se mostra em forma de um saco dilatado, desembocando no exterior através de um ducto coletor afilado. Inserindo-se na parede do ducto coletor está presente um tendão bem desenvolvido, em cuja porção distal ligam-se feixes de músculos, considerados aqui como músculos retratores. As glândulas metasternais estão localizadas na região metatorácica, laterais à articulação de cada cavidade metacoxal. Cada glândula, juntamente com seu reservatório, está ligada a uma apófise metasternal e a um músculo retrator. Cada orifício externo de abertura da glândula apresentou um conjunto de sensilas tricóides.

Em ambas as glândulas metasternais e de Brindley a célula secretora parece coincidir com a descrição da célula tipo III, proposta por Noirot & Quenedey (1991). Sugerimos reavaliar a proposição das denominações dos tipos glandulares “A” e “B”.

As glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* produzem uma mistura de 5 ácidos graxos, cujo principal componente foi o ácido isobutírico. Os compostos presentes na secreção das glândulas de Brindley foram todos detectados na mistura de odores emitida por insetos adultos expostos à perturbação mecânica. De maneira semelhante, os compostos majoritários produzidos pelas glândulas metasternais foram detectados na mistura de odores emitida por estes insetos.

No citoplasma das células secretoras das glândulas metasternais foram encontrados grânulos fortemente corados, bem distribuídos, sugerindo que esta glândula produz substâncias diferentes daquelas produzidas pelas glândulas de Brindley, que apresentam vacúolos não corados, indicando ausência de grânulos. Após análise das secreções das glândulas metasternais verificamos que elas também estão envolvidas na síntese de substâncias voláteis produzindo basicamente cetonas e álcoois.

Neste trabalho demonstramos para *T. brasiliensis* que durante a perturbação, dois pares diferentes de glândulas exócrinas (glândulas metasternais e de Brindley) descarregam suas secreções ao ambiente. É necessário

determinar, portanto, se o fato dos dois tipos de glândulas emitirem seus compostos simultaneamente representa um caso de redundância ou se cada secreção pode possuir funções diferentes.

O fato de apenas triatomíneos adultos apresentarem glândulas metasternais e de Brindley, pode ser devido às diferenças no modo de vida entre os diferentes estádios. Em muitas espécies de baratas, a seleção do habitat é diferente entre ninfas e adultos sexualmente maduros (Schal *et al.* 1984). Muitas ninfas vivem no solo, onde o abrigo é abundante, enquanto os adultos são freqüentemente expostos aos predadores durante a procura por parceiro e recurso alimentar, precisando de defesas mais eficientes.

As glândulas metasternais de Heteroptera originalmente apresentam constituintes com função de defesa, e pelo menos em alguns casos, evoluíram posteriormente para a produção de feromônios sexuais (Blum 1996). É possível que os voláteis produzidos por estas glândulas em *T. brasiliensis* tenham evoluído também para uma nova função de maneira parcimoniosa. Bioensaios são necessários para elucidar o papel funcional desta mistura de odores em *T. brasiliensis*. A natureza multicomponente das secreções deve ser considerada, levando em conta a partir desse fato a possibilidade de que existam ainda fenômenos de ativação, inibição e sinergismo na presença simultânea de diferentes componentes.

Fêmeas de *T. brasiliensis* modificam sua disposição para copular dependendo do estado nutricional do casal, como já demonstrado para *T. infestans* (Manrique & Lazzari 1994) e *P. megistus* (Pires *et al.* 2004). Porém, é ainda necessário determinar se a alimentação afeta simplesmente a taxa de rejeição das fêmeas ou se pelo contrário, afeta sinais indicadores da qualidade dos machos que poderiam ser detectados por meio de algum mecanismo de avaliação utilizado pelas fêmeas. Por um lado, é possível que após a alimentação, as fêmeas simplesmente deixem de rejeitar as tentativas dos machos devido à presença de nutrientes no seu intestino que lhes garantem a produção de ovos. Por outro lado, a qualidade dos machos após a alimentação, poderia afetar a

decisão da fêmea de aceitar ou não a cópula, através de alguns fatores como a emissão de sinais químicos ou produção de vibrações.

Nossos resultados demonstram uma variação gradual no número de rejeições exibidas pelas fêmeas após a alimentação. Além disso, demonstramos que nesse estado as fêmeas de *T. brasiliensis* podem copular imediatamente após rejeitarem algumas tentativas de cópula do macho, mudando gradualmente ao longo dos dias até atingirem um ponto em que a cópula acontece sem nenhuma rejeição. Sugere-se que algum mecanismo comportamental desencadeado na fêmea dias após a alimentação esteja determinando a ausência de rejeições e a conseqüente aceitação da cópula.

Os machos de *T. brasiliensis* parecem aumentar o número de tentativas com a idade, mas isto não permite afirmar que a ocorrência de cópula é dependente da idade dos machos, porque as fêmeas de *T. brasiliensis*, de acordo com nossos dados, não parecem copular em jejum.

Manrique & Lazzari (1994), em suas análises do comportamento sexual de *T. infestans*, descreveram que, a partir de 16 dias após a alimentação, 100% dos casais expressaram motivação para copular diariamente. Em *T. brasiliensis*, seis dias após a primeira alimentação, 100% dos casais já tinham expressado disposição para copular. Assim como na maioria dos insetos, nos triatomíneos a reprodução ocorre sob controle hormonal e envolve fatores neuroendócrinos e endócrinos.

Os resultados apresentados mostram que as glândulas metasternais e de Brindley em adultos de *T. brasiliensis* produzem substâncias voláteis. A mudança na tendência de cópula das fêmeas ao longo do experimento de comportamento sexual pode ser influenciada pelo estado nutricional dos machos. As respostas a estas e outras questões sobre a função provável dos odores produzidos pelas glândulas estudadas e a maturação do comportamento sexual de *T. brasiliensis* devem ser definidas para permitir a compreensão dos processos de comunicação química no contexto sexual destes insetos. Uma vez definido o papel das secreções voláteis dos insetos aqui analisados será possível contar com

substâncias modificadoras do comportamento, com potencial para a manipulação das respostas comportamentais. Estes compostos poderão ser utilizados futuramente no desenho de iscas e outras ferramentas de controle destes vetores da doença de Chagas.

7.0. Conclusão Geral

- Insetos adultos de *Triatoma brasiliensis* apresentam dois pares de glândulas exócrinas produtoras de substâncias voláteis, as glândulas metasternais, localizadas no metatoráx ventral e as glândulas de Brindley, situadas entre o abdômen e o metatórax dorsolateral.
- As glândulas de Brindley apresentam uma porção secretora que se mostra em forma de um saco dilatado, desembocando no exterior através de um ducto coletor afilado. Inserindo-se na parede do ducto coletor estão presentes tendões bem desenvolvidos, em cuja porção distal ligam-se feixes de músculos, considerados aqui como músculos retratores.
- As glândulas metasternais estão localizadas na região metatorácica, laterais à articulação de cada cavidade metacoxal. Cada glândula, juntamente com seu reservatório, está ligada a uma apófise metasternal e a um músculo retrator. Cada orifício externo de abertura da glândula apresentou um conjunto de sensilas tricóides.
- Em ambas as glândulas metasternais e de Brindley as células secretoras parecem do tipo III, segundo a classificação proposta por Noirot & Quenedey (1991).
- As glândulas de Brindley de *T. brasiliensis* produzem uma mistura de 5 ácidos graxos, cujo principal componente foi o ácido isobutírico.
- As glândulas metasternais de *T. brasiliensis* também estão envolvidas na síntese de substâncias voláteis. Estas glândulas produzem basicamente cetonas e álcoois, sendo a 3-pentanona o principal constituinte encontrado nas glândulas de machos e fêmeas.
- Algumas substâncias identificadas nas glândulas metasternais de *T. brasiliensis* apresentaram abundâncias significativamente diferentes em machos e fêmeas.

- Após a perturbação mecânica, adultos de *T. brasiliensis* liberaram uma mistura de odores, constituída por ácidos graxos, cetonas e álcoois, que inclui substâncias provenientes das glândulas metasternais e de Brindley.
- O número de tentativas de cópula realizadas pelos machos variou em função da idade, ocorrendo um aumento das tentativas a partir do 10^o dia após a muda imaginal. Apesar disso, os machos tentaram copular desde o primeiro dia.
- Fêmeas de *T. brasiliensis* apresentaram somente três tipos de comportamento de rejeição frente às tentativas de cópula dos machos incluindo achatamento corporal, movimentos abdominais e evasão, mas nunca estridulando em resposta às tentativas dos machos.
- Em fêmeas de *T. brasiliensis* o número de rejeições em resposta às tentativas dos machos se manteve igual na fase pré-alimentação. Após a sua alimentação, houve uma diminuição gradual no número de rejeições exibidas pelas fêmeas ate que no 6^o dia pos alimentação todas as fêmeas se mostraram receptivas.
- Estes dados oferecem informações relevantes, uma vez que aprofundadas e integradas poderão ser exploradas em desenho de novas ferramentas de detecção e controle deste vetor baseado no uso de iscas químicas.

8.0. Referências Bibliográficas

- Abalos JW & Wygodzinsky P 1951. Las triatominae argentines (Reduviidae, Hemiptera), monogr p. 178 In: Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro (Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Juberg J & Lent H 1999).
- Abu-Habima R & Davey KG 1977. The action of juvenile hormone on the follicle cells of *Rhodnius prolixus*: the importance of volume changes. *J Exp Biol*, 69: 33-44.
- Alcock J 1994. Postinsemination association between males and females in insects: the mateguarding hypothesis. *Ann Rev Entomol*, 39: 1-21.
- Aldrich JR, Oliver JE, Lusby WR, Kochansky JP & Lockwood JA 1987. Pheromone strains of the cosmopolitan pest *Nezara viridula* (Heteroptera, Pentatomidae). *J Exp Zool*, 244: 171-175.
- Aldrich JR 1988a. Chemical ecology of Heteroptera. *Annu Rev Entomol*, 33: 211-238.
- Aldrich JR, Blum MS, Duffey SS & Fales HM 1976. Male specific natural products in the bug *Leptoglossus phyllopus*: chemistry and possible function. *J Insect Physiol*, 22: 1201-1206.
- Aldrich JR 1988b. Chemistry and biological activity of pentatomid sex pheromones. In: Feromonios de Insetos. Biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2º edição (Vilela EF & Della Lucia TMC 2001).
- Aldrich JR; Blum MS & Fales HM 1979. Species-specific natural products of adult male leaf-footed bugs (Hemiptera). *J Chem Ecol*, 5: 53-62.
- Aldrich JR 1991. Pheromones of good and bad bugs. *News Bull Entomol Soc Queensland*, 19: 19-27.
- Alencar JE 1987. História natural da doença de Chagas no Estado do Ceará, Fortaleza. Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará., Fortaleza, pp. 341
- Aragão MB 1983. Domiciliação de triatomíneos ou pré-adaptação à antropofilia e à ornitofilia. *Rev Saúde Públ*, 22:401-410.
- Baker R, Borges M, Cooke NG & Herbert RH 1987. Identification and synthesis of (Z)-(1-S-3-R,4-S)-(-)-2-(3,4-epoxy-4-methylcyclohexyl)-6-methylhepta-2,5-dione, the sex pheromone of the southern green stinkbug *Nezara viridula* (L.). *J Chem Soc Comun*, 414-416.

- Baldwin WF, Knight AG & Lyn KR 1971. A sex pheromone in the insect *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). *Canadian Entomologist*, 10: 18-22.
- Barrett FM, Millen BF & Lai-Fook J 1979. The Brindley's glands of *Rhodnius prolixus*. I. Structure of the mature gland. *Can J Zool*, 57: 1109-1119.
- Barretto MP 1979. Epidemiologia. In: *Trypanossoma cruzi* e doença de Chagas. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 89-152 (Brener Z & Andrade Z).
- Barrozo RB & Lazzari CR 2004. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. *Chem Senses*, 29: 319-329.
- Birch MC & Haynes KF 1982. Insect pheromones. The institute of Biology's. *Studies in biology*, 147, p.60.
- Blatt SE & Borden JH 1996. Evidence for male-produced aggregation pheromone in the western conifer seed bug *Leptoglossus occidentalis* (Hemiptera, Coreidae). *Can Entomol*, 128: 777-778.
- Blatt SE, Borden JH, Pierce JR, Gries R & Gries G 1998. Alarm pheromone system of the western conifer seed bug, *Leptoglossus occidentalis*. *J Chem Ecol*, 24: 1013-1031.
- Blum MS 1981. Chemical defenses of arthropods. Academic Press, New York. Borges.
- Blum MS 1996. Semiochemical parsimony in the Arthropoda. *Annu Rev Entomol*, 41: 353-74.
- Bordas L 1905. In: On the Metasternal scent-glands of certain Heteroptera, pp. 126-180 (Brindley HDM 1930).
- Borden JH 1990. Use of semiochemicals to manage coniferous tree pests in western Canada. In: Sexual behaviour of the green capsid bug. PhD Thesis (Groot AT 2000).
- Borges M & Aldrich JR 1992. Feromônios de Heteroptera. In: Feromônios de Insetos. Biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2º Ed. 93-98 (Vilela EF & Della Lucia TMC 2001).

- Bovin G & Steward 1982. Attraction of male green apple bugs, *Lygocoris communis* (Hemiptera: Miridae), to caged females. *Can Entomol*, 114: 765-766.
- Brasileiro VLF 1982. Fecundidade e fertilidade da fêmea de *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera - Reduviidae). I- Influência da cópula e da longevidade. *Rev Brasileira Biol*, 42:1-13.
- Brézot PM, Mori C & Renou M 1994. Bisabolene epoxides in sex pheromone in *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera, Pentatomidae): Role of *cis* isomer and relation to specificity of pheromone. *J Chem Ecol*, 20: 3133-3147.
- Brindley MDH 1930. On The metasternal scent-glands of certain Heteroptera. *Trans Ent Soc Lond*, 78: 199-207.
- Buxton PA 1930. The biology of a blood-sucking *Rhodnius prolixus*. *Trans R Ent Soc Lond*, 8: 227-236.
- Carayon J, Usinger RL, Wygodzinsky P 1958. In: The scent glands of Heteroptera. Press University College, p.351-417 (BW Staddon 1979).
- Carayon J 1962. In: The scent glands of Heteroptera. Press University College, p.351-417 (BW Staddon 1979).
- Carayon J 1971. Notes et documents sur l'appareil odorant matathoracique des Hémiptères. *Annls Soc Ent Fr*, 7: 737-770.
- Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Juberg J & Lent H 1999. Atlas of Chagas's disease vectors in the Americas, Vol. III, pp. 746-1217.
- Cardé RT & Baker TC 1984. Sexual communication with pheromone. In: Chemical ecology of insects, Chapman and Hall, New York, Vol 2, p. 433 (WJ Bell & RT Cardé, eds.).
- Cardé RT & Bell W 1994. Chemical ecology of insects. New York, Vol 2, p. 433.
- Cardé RT & Minks AK (eds) 1997. Insect pheromone research: new directions. Chapman & Hall, New York, 664 p.
- Caroll SP & Loye JE 1990. Male-biased sex ratios, female promiscuity, and copulatory mate guarding in an aggregating tropical bug, *Dysdercus bimaculatus*. *J Insect Behav*, 3: 33-48.

- Chagas C 1909. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*, agente etiológico da nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1: 159-218.
- Chapman R.F. 1998. The insects: structure and function. 4th edition. Cambridge University Press, UK. 770 pp.
- Cobben RP 1968. In: The scent glands of Heteroptera. (BW Staddon 1979).
- Coles GC 1965. Haemolymph proteins and yolk proteins in *Rhodnius prolixus* Stal. *J Exp Biol*, 43: 425-431.
- Costa J, Almeida CE, Dotson E, Lins A, Vinhaes M, Silveira AC, Beard CB 2003. The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1933-1999. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98: 443-449.
- Coura JR 2002. Tripanossomose, doença de Chagas. *Endemias/Artigos* 13: 30-33.
- Coura JR, Junqueira ACV, Giordano CM, Funatsu IRK 2001. Chagas disease in the Brazilian Amazon I - A short review. *Rev Inst Med Trop, São Paulo* 36: 363-368.
- Cruz-López L, Malo EA & Rojas JC 1993. Aggregation pheromone in five species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 88: 535-539.
- Crúz López L, Morgan ED & Ondarza RN 1995. Brindley's gland exocrine products of *Triatoma infestans*. *Med Vet Entomol*, 9: 403-406.
- Cruz-Landim C & Abdalla FC 2002. Glândulas exócrinas das abelhas. Ribeirão Preto, FUNPEC-RP, 181p.
- Dahmen HJ 1980. A simple apparatus to investigate the orientation of walking insects. *Experientia*, 36: 685-687.
- Davey KG 1965. Copulation and egg-production in *Rhodnius prolixus*: the role of the spermatecae. *J Exp Biol*, 42: 373-378.
- Davey KG 1967. Some consequences of copulation in *Rhodnius prolixus*. *J Insect Physiol*, 13: 1629-1636.

- Davey KG 1984. Neuroendocrine controls on insect reproduction. In: *Insect Neurochemistry and Neurophysiology*. Borkovec AB & Kelly TJ (eds). pp. 93-113. Plenum Publishing Co.
- Davey KG & Kuster JE 1981. The source of an antigonadotropin in the female of *Rhodnius prolixus* Stal. *Can J Zool*, 59: 761-764.
- De Brito Sanchez, MG Manrique, G & Lazzari CR 1995. Existence of a sex pheromone in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). II. Electrophysiological correlates. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 90: 649-651.
- Dias JCP 1987. Control of Chagas disease in Brazil. *Parasitol Today* 3:336-341.
- Dias JCP, Coura JR 1997. Epidemiologia. In: *Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Um manual prático para o Clínico Geral*, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, pp. 33-66 (Dias JC & Coura JR).
- Dias JCP & Vinhaes MC 2000. Chagas disease in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, vol.16 suppl.2, RJ.
- Dias JCP, Prata A, Schofield JC 2002. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectiva de prevenção. *Rev Soc Bras de Med Trop*, 35: 669-678.
- Dias JCP 2002. In: Silveira AC 1999/2001. O controle da doença de Chagas nos países do Cone Sul da América. História de uma iniciativa internacional. Faculdade do Triângulo Mineiro, Uberaba, pp. 155-222.
- Dias JCP 2004. Doença de chagas no século XXI. I Simpósio virtual da doença de Chagas 11 pp.
- Diotaiuti L, Filho FFO, Carneiro FF, Soares PPR, Romanha JA, Pires RHH, Borges CE, Schofield JC 1996. Caracterização da Infestação e Variabilidade do *Triatoma brasiliensis* no Nordeste do Brasil. *Rev. Soc.. Brasileira Med Trop*, 29:(2) 38-39
- Dicke M & Sabelis MW 1988a. Infochemical Terminology: should it be based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Funct Ecol*, 2:131-139.

- Dusenbery DB 1992. Sensory Ecology: how organisms acquire and respond to information. Freeman W.H. (ed.), New York, USA, p. 558.
- Dufour L 1833. Recherches anatomiques et physiologiques sur les Hemipteres. C.R. Ac Sc, 5:129-462.
- Eberhard WG 1994. Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implications for cryptic female choice. *Evolution*, 48: 711-733.
- Eberhard WG 1996. Female control: sexual selection by cryptic female choice. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 501 p.
- Eberhard WG & Gutierrez 1991. Male dimorphisms in beetles and earwigs and the question of developmental constraints. *Evolution*, 45: 18-28.
- Engelmann F 1959. The control of reproduction in *Diploptera punctata*. *Biol Bull*, 116: 406-419.
- Farine JP, Semon E, Everaerts C, Abed D, Grandcolas P & Brossut R 2002. Defensive secretion of *Therea petiveriana*: chemical identification and evidence of an alarm function. *J Chem Ecol*, 8: 1629-1639.
- Filshie BK & Waterhouse DF 1969. The structure and the development of a surface pattern on the cuticle of the green vegetable bug '*Nezara viridula*. *Tissue Cell*, 1: 367-385.
- Fontan A, Audino PG, Martinez A, Alzogaray RA, Zerba EN, Cork A 2002. Attractant volatiles released by female and male *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of chagas disease: chemical analysis and behavioral bioassay. *J Med Entomol*, 39(1):191-7.
- Forattini OP 1980. Biogeografia, origem e distribuição de triatomíneos no Brasil. *Rev Saúde Públ.*, 14:265-299.
- Friend WG, Smith JJB 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. In: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. *Epidemiologia*. Vetores, OPS, OMS, Argentina, pp. 55-72 (RU Carcavalho, JE Rabinovich, RJ Tonn).
- Games DE; Schofield CJ & Staddon BW 1974. The secretion from Brindley's scent gland in Triatominae. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 67: 820.

- Galvão C, Carvalho R, Rocha DS, Jurberg J 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, 202: 1-36.
- García-Pérez J, Blanco-Pinon A & Navarro-Fernandez E 1997. Comportamiento sexual de *Triatoma gerstaeckeri* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Zoologica Mexicana*, 70: 55-63.
- Gorbman A & Davey KG. 1991. Endocrines. In: Neural and integrative animal physiology. Prosser, L. (ed). P. 693-753. Willey-Liss, Inc.
- Griffiths JT & Tauber OE 1942. Fecundity, longevity and parthenogenesis of the American roach, *Periplaneta americana*. *L Physiol Zoo*, 15: 196-209.
- Groot AT 2000. Sexual behaviour of the green capsid bug. PhD thesis, University of Wageningen: 11-150.
- Guerenstein PG, Lorenzo MG, Núñez JA, Lazzari CR. 1995. Baker's yeast, an attractant for baiting traps for Chagas' disease vectors. *Experientia*, 51(8):834-837.
- Guerenstein PG 1999. Sensory and behavioural responses of *Triatoma infestans* to host and conspecific odours. PhD Thesis. Université de Neuchatel, Switzerland.
- Gunawardena NE & Bandumathie MK 1993. Defensive secretion of rice bug, *Leptocorisa oratorius* Fabricius, (Hemiptera, Coreidae): A unique chemical combination and its toxic, repellent, and alarm properties. *J Chem Ecol*, 19: 851-861.
- Gupta A P1961. A critical review of the studies on the studies on the so-called stink or repugnatorial glands of Heteroptera with further comments. *Can. Entomol*, 93:482-486.
- Hack WH, Ricciardi AI, Oscherov B, Olivetti de B 1980. Composition of the secretion of Brindley's gland in Triatominae. *Medicina* (Buenos Aires) 40 Suppl I: 178-180.

- Happ GM, Stradberg JD & Happ CN 1966. The terpene-producing glands of a phasmid insect: cell morphology and histology. *J Morphol*, 119: 143-159.
- Hase A 1932. Beobachtungen na Venezolanisch Triatoma-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der familie der Triatomidae (Hemiptera). *Zeitschrift fur Parasitenkund*, 4, 585-652
- Juárez P & Brenner RR 1981. Bioquímica del ciclo evolutivo del *Triatoma infestans* (vinchuca). V. Emisión de ácidos grasos volátiles. *Acta Fisiológica Latino-Americana*, 31: 113-117.
- Kalrson P & Luscher M 1959. " Pheromones" a new term for a class of biologically active sustances. *Nature*, 183: 155-156.
- Kálin M & Barrett FM 1975. Observations on the anatomy, hystology, release-site, and function of Brindley's gland in the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 68: 126-134.
- Kochansky JP, Aldrich JR & Lusby WR 1989. Synthesis and pheromonal activity of 6,10,13-trimethyltetradecanol for the predatory stink bug, *Stiretrus anchorago* (Heteroptra, Pentatomidae). *J Chem Ecol*, 15: 1717-1728.
- Krall BS, Bartelt RJ, Lewis CJ, & Whitman DW 1999. Chemical defensive.
- Lai-Fook J 1970. The fine structure of developing type B dermal glands in *Rhodnius prolixus*. *Tissue Cell*, 2: 119-138.
- Landois L 1868. In: On the Metasternal scent-glands of certain Heteroptera, pp. 109-205 (Brindley HDM 1930).
- Landolf P.J. & Philips T.W. 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol*, 42: 371-391.
- Lee PE & Wilkes A 1965. Polymorphic spermatozoa in the hymenopterous wasp *Dahlbominous*. *Science*, 147: 1445-1446.
- Lee RD 1954. Oviposition by the poultry bug. *J. Econ. Entomol*, 47: 224-226.
- Leal WS, Higuchi H, Mizutani N, Nakamori H, Kadosawa T & Ono M 1995. Multifunctional communication in *Riptortus clavatus* (Heteroptera, Alydidae): conspecific nymphs and egg parasitoid *Ooencyrtus nezarae*

- use the same adult attractant as chemical cue. *J Chem Ecol*, 21: 973-985.
- Leal WS, Ueda Y & Ono M 1996. Attractant pheromone for malice bug, *Leptocorista chinensis*: semiochemicals produced by both male and female. *J Chem Ecol*, 8: 1429-1437.
- Leal WS, Kuwahara S, X Shi, H Higuchi, CEB Marino, M Ono & J Meinwald 1998. Male-Released Sex Pheromone of the Stink Bug *Piezodorus hybneri*. *J Chem Ecol*, 11: 1817-1827.
- Lent H & Jurberg J 1969. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Acad. Brasileira Ciên*, 41(1): 125-131.
- 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-Carvalho AL, Valverde-Macedo M, Sordillo CMO & de Almeida JR 1985. Observações sobre o comportamento de corte e cópula em *Triatoma protacta* (Heteroptera:Reduviidae). *Resumos do Congresso Brasileiro de Zoologia*, pp. 78-79.
- Lima MM, Juberg P & Almeida JR 1986. Behavior of triatomines (Hemiptera:Reduviidae) vectors of Chagas` disease. I. Courtship and copulation of *Panstrongylus megistus* in laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 8: 271-274.
- Lockwood JA & Story RN 1985. Bifunctional pheromone first instar of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae): Its characterization and interaction with other stimuli. *Ann Entomol Soc Am*, 80: 686-691.
- Locy R 1884. In: On the Metasternal scent-glands of certain Heteroptera, pp. 120-123 (Brindley HDM 1930).
- Lorenzo FAN; Kenigsten A & Lazzari CR 1994. Aggregation in the haematophagous bug *Triatoma infestans*: Chemical signals and temporal pattern. *J Insect Physiol*, 40: 311-316.

- Lorenzo MG, Lazzari CR, 1996. The spatial pattern of defecation in *Triatoma infestans* and the role of faeces as a chemical mark of the refuge. *J Insect Physiol*, 42: 903-907.
- Lorenzo Figueiras AN & Lazzari CR 1998. Aggregation Behaviour and Interspecific Responses in three Species of Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 93: 133-137.
- Lorenzo Figueiras NA & Lazzari CR 2002. Aggregation behaviour and interspecific response in *Rhodnius prolixus* Stal. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 97(4): 569-571.
- Malo EA, Ramírez-Rovelo A, Cruz López L, Rojas JC 1993. Life cycle and influence of age and feeding on the first mating of *Triatoma mazzottii* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 88: 203-206.
- Mayer P 1874. In: On the Metasternal scent-glands of certain Heteroptera, pp. 199-205 (Brindley HDM 1930).
- Manrique G & Lazzari CR 1994. Sexual behaviour and stridulation during mating in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 89(4): 629-633.
- Manrique G & Lazzari CR 1995. Existence of a sex pheromone in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae): I. Behavioural evidence. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 90: 645-648.
- Manrique G & Schilman PE 2000. Two different vibratory signals in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Tropica*, 77: 271-278.
- McBrien HL, Millar JG, Gottlieb L, Chen X & Rice RE 2001. Male produced sex attractant pheromone of the green stink bug, *Acrosternum hilare* (Say). *J Chem Ecol*, 9: 1821-1839.
- McLain DK 1985. Male size, sperm competition, and the intensity of sexual selection in the southern green stink bug, *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Ann Entomol Soc Am*, 78, 86-89.
- McNeil JN 1991. Behavioral ecology of pheromone mediated communication in moths and its importance in the use of pheromone traps. *Ann Rev Entomol*, 36, 407-430.

- Millar JG, Rice RE & Wang Q 1997. Sex pheromone of the mired bug *Phytocoris relativus* Knight. *J Chem Ecol*, 23: 1743-1754.
- Miller JR & Roelofs WL 1980. Individual variation in pheromone sexual component ratios in two populations of the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*. *Environ Entomol*, 9:359-363.
- Mitchell WC & Mau RFL 1969. Sexual activity and longevity of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Ann Entomol Soc Am*, 62: 1246-1247.
- Mora IRM 1991. Resposta da broca do café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos. Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, p. 44.
- Moore BP & Brown WV 1979. Chemical composition of the defensive secretion in *Dyschirius bonelli* (Coleoptera, Carabidae, Scaritinae) and its taxonomic significance. *J Aust Entomol Soc*, 18: 123-125.
- Noirot C & Quennedey A 1974. Fine structure of insect epidermal glands. *Annu Rev Entomol*, 19:61 – 80.
- Noirot C, Quennedey A 1991. Glands, gland cells, glandular units; some comments on terminology and classification. *Annals Soc Ent Fr*, 27:123-128.
- Nordlund DA & Lewis WJ 1976. Terminology of Chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J. Chem. Ecol.* 2:211-220.
- Nordlund DA 1984. Semiochemicals: A review of the terminology, p.13-28. In: Nordlund, D.A.; L.J.Richard & W.J.Lewis (eds), Semiochemicals and their role in pest control. Jhon Wiley & Sons, New York.306p.
- Núñez JA 1982. Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). *Bull Ent Res*, 72: 252-262.
- Núñez JA & Segura EL 1987. Rearing of Triatominae. In: Brener & Stoka (eds.) Chaga`s Disease Vectors, CRC Press, Florida, vol. II, 29-40.
- Ondarza RN; Gutierrez-Martinez A & Malo EA 1986. Evidence for the presence of sex and aggregation pheromones from *Triatoma mazzottii* (Hemiptera: Reduviidae). *J Econom Entomol*, 79: 688-692.

- Pawliszyn J 1997. Solid Phase Micro Extraction. Theory and Practice. Wiley-VHC, New York, pp. 247.
- Parker GA & Simmons LW 1994. Evolution of phenotypic optima and copula duration in dungflies. *Nature*, 370: 53-56.
- Parker GA & Simmons LW 2000. Optimal copula duration in yellow dung flies: Ejaculatory duct dimensions and size-dependent sperm displacement. *Evolution*, 54: 924-935.
- Pattenden G & Staddon BW (1972). Identification of iso-Butyric acid in secretion from Brindley's scent glands in *Rhodnius prolixus* (Heteroptera: Reduviidae). *Ann Entomol Soc Am*, 65(5): 1240-1241.
- Pavis C, Malosse C, Ducrop PH & Descoins C 1994. Dorsal abdominal glands in nymphs of southern green stink bug *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae): Chemistry of secretions of five instars and role of (E)-4-oxo-2-decenal, compound specific to first instars. *J Chem Ecol*, 20: 2213-2227.
- Perlowagora-Szumlewicz A 1969. Estudos sobre a biologia do *Triatoma infestans*, o principal vetor da doença de Chagas no Brasil (importância de algumas de suas características biológicas no planejamento de esquemas de combate a esse vetor). *Rev Bras Malariol D Trop*, 21: 117-159.
- Pinder AR & Staddon BW 1965. Trans-4-oxohex-2-enal in the odoriferous secretion of *Sigara falleni* (Fieb) (Hemipetra, Heteroptera). *Nature*, 205: 106-107.
- Pires HHR, Lorenzo MG, Diotaiuti L, Lazzari CR & Lorenzo Figueiras AN 2002. Aggregation behaviour in *Panstrongylus megistus* and *Triatoma infestans*: inter and intraspecific responses. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 81: 47-52.
- Pires HHR, Lorenzo MG, Lazzari CR, Diotaiuti L & Manrique G 2004. The sexual behaviour of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae): an experimental study. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol 99(3): 295-300.
- Pratt GE & Davey KG 1972a. The corpus and oogenesis in *Rhodnius prolixus* Stal. III. The effects of starvation. *J Exp Biol*, 56: 223-237.

- Pratt GE & Davey KG 1972b. The corpus and oogenesis in *Rhodnius prolixus*.
Stal II. The effects of starvation. *J Exp Biol*, 56: 215-221.
- Price PW, Bouton CE, Gross P, Mcpherson BA, Thompson JN & Weis AE
1980. Interactions among three trophic levels: influence of plants on
interactions between insect herbivores and natural enemies
- Raina AK 1989. Male induced termination of sex pheromone production and
receptivity in mated females of *Heliothis zea*. *J Insect Physiol*, 35: 821-
826.
- Raina AK, Kingan TG & Matto AK 1992. Chemical signals from host plant and
sexual behavior in a moth. *Science*, 244: 796-798.
- Raina AK, Kingan TG & Giebultowicz JM 1994. Mating-induced loss of sex
pheromone and sexual receptivity in insects with emphasis on *Helicoverpa
zea* and *Lymantria dispar*. *Arch Insect Biochem Physiol*, 25: 317-327.
- Ribeiro JMC 1987. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Rev
Entomol*, 32: 463-478.
- Ribeiro JMC, Schneider M, Isaias T, Jurberg J, Galvão C, Guimarães JA
1998. Role of salivary antihemostatic components in blood feeding by
triatomines bugs (Heteroptera). *J Med Entomol*, 35: 599-610.
- Ríos Candelaria, E. 1999. Análisi químico y conductual de los compuestos
volátiles emitidos por *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), vectos
de la enfermedad de Chagas. Tesis de Licenciatura, Facultad de
Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas, Chiapas.
- Regis I 1977. Functional compensatory hypertrophy resulting from
spontaneous or induced atrophy disconnecting one of the ovaries of
Triatoma infestans (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). *Annales de
Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 17(6): 961-969.
- Regis L, Gomes YM, Furtado AF 1985. Factors influencing male accessory
gland activity and first mating in *Triatoma infestans* and *Panstrongylus
megistus* (Hemiptera: Reduviidae). *Inst Sci Applic*, 6: 579-583.

- Roces F, Manrique G 1996. Different stridulatory vibrations during sexual behaviour and disturbance in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Insect Physiol*, 42: 231-238.
- Rojas JC, Cruz López L 1992. Sexual behaviour in two species of *Triatoma ptyllosoma* complex (Hemiptera; Reduviidae) under laboratory conditions. *J Med Entomol*, 29: 13-18.
- Rojas JC, Malo EA, Gutierrez-Martinez A, Ondarza RA 1990. Mating behaviour of *Triatoma mazzottii* Usinger (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Ann Entomol Soc Am*, 83: 598-602.
- Roth LM 1961. A study of the odoriferous glands of *Scaptocoris divergens* (Hemiptera: Cydnidae). *Ann Entomol Soc Am*, 54:900-911.
- Rossiter M & Staddon BW 1983. 3-Methyl-2hexanone from the triatinae bug *Dipetalogaster maximus* (Uhler) (Heteroptera; Reduviidae). *Experientia*, 39: 380-381.
- Ryckman RE 1962. Biosystematics and hosts of the *Triatoma protracta* complex in North America (Hemiptera: Reduviidae), (Rodentia: Cricetidae). *Univ Calif Publ Ent*, 27:93-240, 15 figs., 24 pranchas.
- Santos-Mallet JR & Souza W 1990. Histological and ultrastructural aspects of the Brindley's glands of *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 85(2): 141-152.
- Schal C, Fraser J & Bell WJ 1982. Disturbance stridulation and chemical defence in nymphs of the tropical cockroach *Megaloblatta blabeoides*. *J Insect Physiol*, 28: 541-552.
- Schal C, Gautier JY & Bell WJ 1984. Behavioral ecology of cockroaches. *Biol Rev*, 59: 209-254
- Schilman PE, Lazzari CR & Manrique G 2001. Comparison of disturbance stridulations in five species of triatominae bug. *Acta Tropica*, 79: 171-178.

- Schofield CJ & Moreman K 1976. Apparent absence of a sex attractant in adult *Triatoma infestans* (Klug), vector of Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 70:165-166.
- Schofield CJ 1977. Sound production in some triatomine bugs. *Physiol Entomology*, 2: 43-52.
- Schofield CJ & Patterson JW 1977. Assembly pheromone of *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus* nymphs (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol*, 13: 727-734.
- Schofield CJ, Upton CP 1978. Brindley's scent-glands on the metasternal scent glands of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev Brasil Biol*, 38: 665-678.
- Schofield CJ 1979. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): A review. *Bull. Entomol. Res.*, 69: 363-379.
- Schofield CJ 1994. Triatominae: Biologia y control. Eurocommunica Publications, West Sussex, pp. 80
- Shannon CE & Weaver W 1949. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana.
- Sherlock IA 1979. Vetores. In: Z Brener, Z Andrade. *Trypanossoma cruzi e doença de Chagas*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 42-89.
- Silveira AC; Feitosa VR & Borges R 1984. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/83, Brasil. *Rev Brasileira Malariologia e Doenças Trop*, 36 : 15-312.
- Silveira AC, Vinhaes M 1998. Doença de Chagas: Aspectos epidemiológicos e de controle. *Ver Soc Brasil Méd Trop*, 31: 15-60
- Silverstein RM, Brownlee RG, Bellas TE, Wood DL & Browne LE 1989. Brevicomín: principal sex attractant in the frass of the female western pine beetle. *Science*, 159:889 p.
- Smith RF, Pierce HD & Borden JH 1991. Sex pheromone of the mullein bug *Campylomma verbasci* (Meyer) (Heteroptera, Miridae). *J Chem Ecol*, 17: 1437- 47.

- Sordillo CMO & de Almeida JR 1988. Comportamento de corte e cópula de *Triatoma pseudomaculata* Correa & Spinola, 1964 (Hemiptera: Reduviidae) sob condições de laboratório. *Ann Soc Entomo Brasil*, 17: 47–69.
- Staples JK, Krall BS, Bartelt RJ & Whitman DW 2002. Chemical defence in the plant bug *Lopidea robiniae* (Uhler). *J Chem Ecol*, 28: 601-615.
- Stefanini M, De Martino C & Zamboni L 1967. *Nature*, 216: 173-174.
- Simmons LW 2001. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Princeton University Press, pp. 433.
- Staddon BW, Weatherston J 1967. In: BW Staddon 1979. The scent glands of Heteroptera. Press University College, p.351-417.
- Staddon, BW 1979. The scent glands of Heteroptera. *Advances in Insect Physiology*, 14: 131-157.
- Sugie H, Yoshida M, Kawasaki K, Noguchi H, Moriya S, Takagi K, Fukuda H, Fujiie A, Yamanaka M, Ohira Y, Tsutsumi T, Tsuda K, Fukumoto K, Yamashita M & Suzuki H 1996. Identification of the aggregation pheromone of the brown-winged green bug *Plautia stali* (Hemiptera, Pentatomidae). *Appl Entomol Zool*, 31: 427-431.
- Taneja J & Guerin PM 1995. Oriented responses of the triatomine bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* to vertebrate odours on a servosphere. *J Comp Physiol A*, 176: 455-464.
- Taneja J & Guerin PM 1997. Ammonia attracts the haematophagous bug *Triatoma infestans*: behavioural and neurophysiological data on nymphs. *J Comp Physiol A*, 181: 21-34.
- Thornhill R & Alcock J 1983. The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, USA, pp. 547.
- Thornhill R 1984. Alternative female choice tactics in the scorpionfly *Hylobittacus apicalis* (Mecoptera) and their implications. *Am Zool*, 24: 367-383.
- Valente SAS, Valente VC, Fraiha Neto H 1999. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94(suppl I): 395-398.

- Velasquez Antich A 1965. Introducción al estudio de la atracción por el olor en reduviidos hematofagos transmisores de la enfermedad de Chagas. Investigaciones de laboratorio con el *Triatoma phyllosoma pallidipennis* (Stal). *Archivos Venezolanos de Medicina e Parasitología Medica*, 5, 329-344.
- Velasquez Antich A 1968. Atracción por el olor en ninfas y adultos de *Rhodnius prolixus* (Stal). *Revista Internacional de Medicina Tropical*, 10: 242-246.
- Vilela EF & Della Lucia TMC 2001. Feromonios de Insetos. Biología, química e emprego no manejo de pragas. 2º edição.
- Vitta ACR, Lorenzo Figueiras AN, Lazzari CR, Diotaiuti L, Lorenzo MG 2002. Aggregation mediated by faeces and footprints in *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera: Reduviidae), a Chagas disease vector. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 97(6): 865-867.
- Vrkoc J, Ubik K & Dolejs L 1973. On the chemical composition of the frontal gland in termites of the genus *Nasutitermes* (*N. costalis* and *N. rippertii*). *Acta Entomol Bohemoslov*, 70: 74- 80.
- Zárate LG 1983. The biology and behavior of *Triatoma barbei* (Hemiptera, Reduviidae) in México. III completion of the life cycle, adult longevity and egg production under optimal feeding conditions. *J Medical Entomol*, 20(5): 485-497.
- Zeledon R & Rabinovich JE 1981. Chagas disease: an ecological appraisal with emphasis on its insect vectors. *Annu Rev Entomol*, 26: 101-134.
- Wang Q, Millar GJ 2000. Mating behavior and evidence for male-produced sex pheromone in *Leptoglossus clypealis* (Heteroptera, Coreidae). *Behavior*, 4: 972-976.
- Wallbank BF & Waterhouse DF 1970. The defensive secretions of *Polyzosteria* and related cockroaches. *J Insect Physiol*, 16: 2081- 96.
- Ward JP 1981. A comparison of the behavioural responses of the haematophagous bug, *Triatoma infestans* to synthetic homologues of

- two naturally occurring chemicals (n- and isobutyric acid). *Physiol. Entomol*, 6: 325-329.
- Ward PI 1993. Females influence sperm storage and use in the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria* (L.). *Behav Ecol Sociobiol*, 32: 313-319.
- Wardle AR, Borden JH, Pierce HD & Gries R 2003. Volatile compounds released by disturbed and calm adults of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris*. *J Chem Ecol*, 4: 931-943.
- Wiener N. 1948. *Cybernetics*. Wiley, New York. Citado por Dusenbery (1992)
- Wigglesworth V.B. 1933. The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera) with special reference to the function of the oenocytes and of the dermal glands. *Q. J. Microsc. Sci*, 76: 269-319.
- Weirauch C 2003. Glandular areas associated with the male genitalia in *Triatoma rubrofasciata* (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera) and other Reduviidae. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98(6): 773-776.