

Andrey José de Andrade

**Avaliação de Cairomônios na Atratividade de Flebotomíneos
(Diptera: Psychodidae) em Brejo do Mutambal,
Município de Varzelândia, MG.**



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte, 2006

ANDREY JOSÉ DE ANDRADE

**Avaliação de cairomônios na atratividade de
flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Brejo do
Mutambal, município de Varzelândia, MG**

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte, MG
2006**

ANDREY JOSÉ DE ANDRADE

**Avaliação de cairomônios na atratividade de
flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Brejo do
Mutambal, município de Varzelândia, MG**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Parasitologia.

Área de concentração: Entomologia

Orientador: Dr. Álvaro Eduardo Eiras

Coorientadora: Dra. Mara Cristina Pinto

**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte, MG
2006**

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Culicídeos, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais e financiado pela Fundação de Amparo a Pesquisa em Minas Gerais (FAPEMIG).

Pesquisador colaborador:

Dr. Edelberto dos Santos Dias – Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, Minas Gerais (CPqRR/FIOCRUZ – BH)

Sei que Deus quando nos traça uma trajetória ela tem muitos
obstáculos...
Acreditava que os obstáculos era o que nos levavam à queda e nos
exautavam a glória...
Aprendi que a queda é um aprendizado e que a glória é mero
reconhecimento...
Conheci pessoas que não nos deixam permanecer na queda e que
nos aplaudem frente a uma vitória...
Entendi que ao longo desse percurso se constrói amizades
verdadeiras...
Afirmo que em todo esse projeto de vida, existiram pessoas que
sempre me estenderam as mãos que amenizaram a queda...
e mais que isso, me ensinaram que ser vitorioso não é só alcançar a
glória, mas enfrentar os obstáculos!!!
(Autoria Própria)

Dedico aos meus amigos **Mateus R. de Andrade** e **Michel P. Valim...**
em ordem alfabética!!!

“... faça o melhor, que sou capaz, só pra viver em paz!!!”

(O Vencedor – Marcelo Camelo)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a **Deus** por ter me dado sabedoria, ter me feito perseverante e por colocar em meu caminho todos vocês... vencemos juntos!!!

Agradeço ao meu orientador e “pai científico” **Dr. Álvaro Eduardo Eiras**, por ter confiado em mim essa fabulosa missão de aprender e entender sobre estes pequenos insetos e como eles se relacionam como o mundo. Sei que agora estou pronto para um dia me tornar um mestre como você.

Agradeço a minha coorientadora **Dra. Mara Cristina Pinto** que embora nem sempre ao meu lado sabia interferir nos momentos exatos, com uma palavra de apoio ou com um conhecimento a ser passado de forma a entender que os problemas são as alavancas do sucesso.

Agradeço ao mestre **Dr. Edelberto dos Santos Dias**, o qual me proporcionou como biólogo entender de uma ciência pura, chamada Taxonomia. Obrigado por fazer parte dessa pesquisa e me fazer entender frente às minhas dificuldades.

Agradeço ao professor **Dr. Nelder de Figueiredo Gontijo** que conseguia fazer a montagem de uma lâmina se tornar cada vez mais prazerosa. Obrigado por ter me emprestado sua criatividade várias vezes ao longo deste trajeto.

Agradeço a minha eterna turma de mestrado (Turma do Bico - **Carol, Elisa, Sílvia, Vânia, Haendel, Marcelle, Michel, Daniel, Eveline, Bárbara, Ju**). Estes foram os amigos que me deram o suporte e a força pra enfrentar esse desafio. Estiveram ao meu lado o tempo todo, durante meus melhores e piores momentos. Nunca me negaram um sorriso ou um abraço. Fomos felizes e contribuímos cada um para o crescimento do outro... levo um pouco de cada um de vocês comigo. Obrigado galerinha!!!

Agradeço, em especial, ao meu amigo e agora Mestre, **Michel Paiva Valim**. Viemos de longe, enfrentamos as mesmas dificuldades e desafios. Foram conversas, reclamações, desabafos... Ensinou-me que existe uma grande diferença entre ser parasitologista e fazer parasitologia. Pra onde quer que nossa ciência nos leve ou o que quer que ela nos torne, nós

ainda seremos grandes amigos. Você me falou isso quando entrei aqui na UFMG e hoje eu repito para que todos ouçam: “We are the champions, my friend...”.

Agradeço a galera do Laboratório de Culicídeos (**Maristela, Ângela, Cristiano, Márcia, Raquel, Marcelle, Maíra, Verônica, Maria Cristina, Ana Paula, Rose, Dri, Iv, Cristina, Izabela, Mateus, Liliane, Cíntia, Cristiane, Izabela, Carla, Kelly, Célia, Claudinha, Renata, Fred, Rodrigo, Renato, Fernanda, Luciana, Lucas, Madson, Jivago, Filipe “Gigante”, Thiago, Amanda, Cristiane, João, Tatiana, Ione**). Foi ao lado destes amigos que encontrei o conhecimento necessário para desenvolver minhas pesquisas. Muitos passaram, muitos chegaram e todos permaneceram. Faço, hoje, parte deste grupo e me orgulho disso. Obrigado por me aturarem.

Agradeço em especial a duas pessoas fantásticas. A **Rose**, que embora sempre muito ocupada, dispunha de seu pequeno tempo para me auxiliar nas análises estatísticas deste projeto e a **Renatinha**, a mais empolgada, todo resultado era motivo de comemoração. Você sabe que nunca mediu esforços para me ajudar. Obrigado meninas, por tudo!!!

Agradeço ao meu amigo **Mateus**. Nós formávamos uma dupla em que adquirir conhecimento e mostrar resultados era pouco demais. Nunca tivemos relação chefe e estagiário, porque crescíamos com os nossos erros, os quais sempre foram admitidos, seja na potassa a 10%, no etanol ou no preparo de um relatório. O meu obrigado aqui pra você é meramente formal, porque para o seu empenho e dedicação a este projeto e à sua amizade não tem agradecimento. Obrigado fiote... sei que o caminho que você quiser trilhar só terá sucesso!!!

Agradeço a outros amigos da parasito que fiz nesta caminhada, **Kezinha, Lívio, Vivi, Érika, Isabela, César, Francisco, Felipe, Ricardo, as Adrianas, Leandra, Karinas, Veruska**, . Embora não ligados diretamente ao meu trabalho sempre tínhamos palavras a serem trocadas, o que tornava menos pesado o dia e com isso mais fácil a execução do projeto.

Agradeço a **Kêninha, Érika Michalsky, Ricardo Barata e Fábio** do LALei do Centro de Pesquisas René Rachou que foram fundamentais para os resultados deste trabalho. Muitas vezes passava por vocês correndo a procura de ajuda e sempre me estenderam as mãos sem nunca me cobrarem nada em troca. Meus sinceros agradecimentos.

Agradeço a todos os laboratórios do Departamento de Parasitologia em nome dos seus estagiários, técnicos e chefes (**Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos, Laboratório de Ectoparasitos, Laboratórios de Helminologia, Laboratório de Toxoplasmose e Laboratório de Amebíase**). Obrigado pelos socorros prestados a mim na hora que meu material faltava.

Agradeço a **Dona Odete** e a **Ângela** que me receberam na pensão onde morei 1 ano e meio e onde tive o prazer de conhecer o Felipe, Leandro, Warrison, Daniel Pantoja e Danilo os quais entre uma conversa e outra amenizavam aquele dia mais cansativo.

Agradeço aos meus companheiros de república (**Augusto, David, Daniel e Gabriel**) com os quais dividia todo meu estresse e anseios. Desculpe se alguma vez parecia um velho rabugento e obrigado pelas cervejas, pelo carteadado e por me fazerem gostar de músicas estranhas. Vocês foram muito importantes nessa conquista.

Agradeço aos **meus pais José Francisco e Conceição** e às **minhas irmãs, Andréa e Adriana**. O filho e irmão de vocês hoje sobe mais um degrau nesse “mundo de meu Deus”. Fique tranqüilo, eu estou bem e como disse quando saí daí de Bias Fortes: “- Eu trarei orgulho para casa, mãe. Vou subir na vida, mas não se preocupe não vou me perder”. Então a senhora respondeu: “Lembra que essa será sempre sua casa, se ficar triste volta!”. Ao meu sobrinho **Rafael** meu motivo maior de ser biólogo. Amo vocês!

Agradeço aos meus tios **Zizinho e Terezinha/ Nivaldo e Sônia** e meus primos e primas. Hoje dou mais valor a minha família por saber da importância de vocês na minha vida. É bom saber que estão por perto e desculpe minha ausência em vários momentos.

Agradeço a minha **Tia Naná** que segurou minha estadia aqui durante um tempo. A senhora sempre me apoiou e sei que mais uma vez não a decepcionei. Continue rezando por mim e obrigado.

Agradeço aos **amigos e professores de Juiz de Fora** que sempre acreditaram no meu potencial. Não vou citar nomes, pois esquecerei de alguém. Obrigado pelos emails, scraps e telefonemas na hora do desespero. Espero vê-los em breve.

Agradeço ao **Programa de Pós-Graduação em Parasitologia** da UFMG por me tornar um dos seus e pelos ensinamentos adquiridos.

Agradeço ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia **Dr. Pedro Marcos Linardi**, que sempre lutou pelo bem comum dos alunos e por sempre ter uma palavra sábia nos momentos de maiores dúvidas.

Agradeço a Secretária do Programa, a nossa protetora e amiga, **Sumara Ferreira** que nos quis ver bem e sempre esteve ao nosso lado sem nunca cobrar nada. Você foi sublime o tempo todo. Eu e minha turma vamos ser eternamente gratos a sua dedicação.

Agradeço ao **Sr. Nery** o atleticano mais fanático que conheci. Às vezes era aquele cafezinho que fazia a gente acordar ou naquela salinha que encontrávamos quem mais a gente procurava o dia todo. Funcionava como ponto de encontro e tirando que ele sempre “quebrava o galho” na falta de grana com seus pães de queijo e salgadinhos.

Agradeço ao **Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/ FIOCRUZ)**, em nome do **Laboratório de Leishmanioses (LaLei)** por me ceder espaço para aprender a montagem, confecção e identificação de lâminas de flebotomíneos. Obrigado a todos aos chefes e estagiários do Laboratório de Leishmaniose do centro.

Agradeço a **FAPEMIG** pelo financiamento deste projeto, hoje concluído, apoio este que deve ser estimulado cada vez mais em Minas Gerais, para que possamos contribuir para a ciência da vida no mundo.

Agradeço ao **CNPq** pela bolsa de mestrado concedida a mim durante este tempo para eu pudesse cada vez mais me dedicar a este trabalho.

Agradeço ao pessoal da **SVS (João Carlos, Jeová e o Alcides)** que me apresentaram a Brejo do Mutambal. Pelas experiências adquiridas e trocadas. Valeu a força!

Aqui fica um agradecimento mais que especial, ao **povo de Brejo do Mutambal**. Obrigado por me aceitarem na comunidade e fazer a minha labuta se tornar menos exaustiva. A cada casa que eu entrava era um mundo que descobria. Na humildade dos moradores havia sempre

um sorriso de que tudo iria melhorar um dia. Foi pouco tempo com vocês mais o suficiente para entender que temos muito a aprender sobre o Brasil. A Dona Mariana que me albergou em sua casa e ao Tiago que vez ou outra me ajudava no trabalho de campo.

... enfim agradeço a todos os anjos que cruzaram meu caminho e várias vezes me estenderam as mãos para que eu desse continuidade ao que chamo de PROJETO DE VIDA.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

RESUMO

ABSTRACT

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Os Flebotomíneos: posição sistemática, biologia e ecologia	27
1.2 - As leishmanioses: problemas sócio-econômico e ambiental	28
1.3 - <i>Lutzomyia longipalpis</i> (hospedeiro) e a <i>Leishmania chagasi</i> (parasito)	29
1.4 - A Tríade Epidemiológica: hospedeiro, parasito e ambiente	30
1.5 - Os estímulos químicos e físicos envolvidos na densidade da população de flebotomíneos e na localização do hospedeiro	32
1.6 - A Comunicação Química	35
1.6.1 - A Química da Atração Intraespecífica	36
1.6.2 - A Química da Atração Interespecífica	37
1.7 - A Isca Humana: eficiência e problemática	40
1.8 - Os Cairomônios Testados para Flebotomíneos	42
1.8.1 - CO ₂	42
1.8.2 - 1-octen-3-ol (Octenol)	44
1.8.3 - Ácido Láctico	45
1.9 - JUSTIFICATIVA	46
1.10 - OBJETIVO GERAL	48
1.10.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Local de coleta	51
2.2 - Armadilha utilizada para a captura dos espécimes	53
2.3 - Metodologia de instalação e recolhimento das armadilhas	53
2.4 - Cairomônios	55
2.5 - Testes preliminares em laboratório para avaliação dos compostos em campo	57
2.5.1 - Preparação do liberadores feitos de polímeros (sistemas) testados para avaliação das taxas de evaporação do octenol	57

2.5.2 - Avaliação da taxa de liberação de octenol em sistemas de polietileno e silicone	58
2.5.2.1- Liberadores de polietileno e de silicone	58
2.5.2.2- Liberadores de vidro	61
2.6 - Testes de fumaça visando-se conhecer a dispersão da pluma de odor, formada pelo BG <i>Mesh Lure</i> ®, em dois tipos de liberadores iscados nas armadilhas	63
2.7 - Experimentos de campo	65
2.7.1 - Dose resposta do octenol	65
A – Experimento 1	65
B – Experimento 2	68
C - Experimento 3	70
2.8 – Coleta e acondicionamento do flebotomíneos	72
2.9 – Técnicas de preparação, montagem e identificação dos exemplares capturados	72
2.10 – Análise estatística	74
3 – RESULTADOS	
3.1 - Testes preliminares em laboratório para avaliação do composto octenol em campo	76
3.1.1 - Avaliação do recipiente e da taxa de liberação de octenol	76
3.1.2 - Liberadores testados	76
3.1.3 - Liberadores de vidro	89
3.2 - Avaliação da dose resposta do octenol	93
3.2.1 - Comparação das taxas de evaporação do octenol e do local de coleta para as espécies mais freqüentes no Experimento 1	99
3.3 - Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ® iscado na armadilha luminosa na ausência ou presença de octenol 5 mg/h	107
3.3.1 - Comparação dos atraentes iscados nas armadilhas luminosas para as espécies mais freqüentes no Experimento 2	108
3.4 - Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios <i>Mesh Lure</i> ® e dos compostos que constituem a formulação, iscados na armadilha luminosa	117

3.4.1 - Comparação dos cairomônios iscados nas armadilhas luminosas para as espécies mais freqüentes no Experimento 3	120
4- DISCUSSÃO	
4.1 - Testes preliminares em laboratório para avaliação do composto octenol em campo	129
4.1.1 – Avaliação das taxas de evaporação do octenol	129
4.2 - Inferências ecológicas para as espécies mais abundantes durante a condução dos três experimentos	131
4.3 - Experimento 1: Avaliação da dose resposta do octenol, em campo, para a captura de flebotomíneos em dois ecótopos (mata e peridomicílio)	139
4.4 - Experimento 2: Avaliação da formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ® e desta associada com a taxa de evaporação do octenol (5 mg/h) na captura de flebotomíneos	146
4.5 - Experimento 3: .Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios <i>Mesh Lure</i> ® e dos compostos que constituem a formulação, iscados na armadilha luminosa	151
4.6 – Contribuição para a diversidade da fauna de flebotomíneos de Brejo do Mutambal, município de Varzelândia, MG	156
5 – CONCLUSÕES	160
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1	Polímeros utilizados e suas taxas de evaporação do octenol	77
Tabela 2	Liberadores de vidro utilizados para se avaliar a taxa de evaporação de 1 ml de octenol em condições de laboratório	94
Tabela 3	Espécies de flebotomíneos atraídas (+) ou não (-) pelas armadilhas luminosas CDC (modelo HP) controle e iscadas pelos atraentes sintéticos octenol, BG <i>Mesh Lure</i> ® + octenol, BG <i>Mesh Lure</i> ® , ácido láctico, ácido capróico e amônia, durante os três experimentos realizados em Brejo do Mutambal, MG, em abril e maio de 2005	95
Tabela 4	Espécies do gênero <i>Lutzomyia</i> spp. capturadas em Brejo do Mutambal em área de mata e peridomicílio em armadilhas luminosas CDC (modelo HP) iscadas com octenol entre os dias 05/04/2005 e 09/04/2005	100
Tabela 5	Total de captura e porcentagem das espécies <i>L. intermedia</i> , <i>L. longipalpis</i> , <i>L. renei</i> , <i>L. quinquefer</i> e <i>L. sallesi</i> em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle e armadilhas associadas com taxas de evaporação do octenol (0,5; 5; 15 e 30 mg/) em área de mata e peridomicílio, entre os dias 05/04/2005 e 09/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG	101
Tabela 6	Iscas utilizadas nas armadilhas luminosas CDC (modelo HP) no experimento 2	109
Tabela 7	Espécies do gênero <i>Lutzomyia</i> spp. capturadas em peridomicílio, na localidade de Brejo do Mutambal, em armadilhas luminosas CDC (modelo HP): controle (Isca 1) e com a formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ® aberto (Isca 2); Semi-aberto (Isca 3); aberto com octenol (Isca 4) e semi-aberto com octenol (Isca 5), entre os dias 18/04/2005 a 22/04/2005	111

Tabela 8	Total de captura e porcentagem das espécies <i>L. quinquefer</i> , <i>L. longipalpis</i> e <i>L. intermedia</i> em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle e com a formulação de cairomônios instaladas em peridomicílio, entre os dias 18/04/2005 e 22/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG	112
Tabela 9	Espécies do gênero <i>Lutzomyia</i> spp. capturadas em peridomicílio, na localidade de Brejo do Mutambal, em armadilhas luminosas CDC (modelo HP) entre os dias 02/05/2005 a 06/05/2005	121
Tabela 10	Total de captura e porcentagem das espécies <i>L. longipalpis</i> , <i>L. renei</i> , <i>L. lenti</i> e <i>L. intermedia</i> em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle, com a formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ® e com os compostos individualizados (ácido láctico, ácido capróico e amônia) instaladas em peridomicílio, entre os dias 02/05/2005 e 06/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG	122

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1	Vista parcial do distrito de Brejo do Mutambal (15°33'13 S; 44°00'18W) situado no norte do Estado de Minas Gerais, Brasil	52
Figura 2	Armadilha luminosa CDC modificada (modelo HP) (Pugedo <i>et al.</i> , 2005)	54
Figura 3	Foto mostrando a armadilha luminosa instalada em uma árvore, no peridomicílio	55
Figura 4	Formulação de cairomônios BG Mesh Lure® (ácido lático, ácido capróico e amônia)	55
Figura 5	A – mangueiras de silicone; B – mangueiras tubulares de polietileno; C e D – mangueiras achatadas transparentes de polietileno, 10 e 15 cm; E e F – mangueiras achatadas pretas de polietileno, 10 e 15 cm	59
Figura 6	Sistema de liberação utilizado para octenol. Taxas de liberação: (A) média; (B) alta (adaptado por Van Essen <i>et al.</i> (1994) e modificado por Silva (2003))	62
Figura 7	Modelo de liberador de vidro para liberação do octenol com taxa de evaporação baixa.	62
Figura 8:	Sistema de liberação de octenol de 0,5 mg/h (AMBIENSIS®)	62
Figura 9	Recipiente aberto (BG Mesh Lure® aberto); adaptação “pet” (BG Mesh Lure® semi-aberto) e a formulação de cairomônios BG Mesh Lure® utilizada como isca nos liberadores	64
Figura 10	Disposição dos liberadores de octenol nas armadilhas luminosas CDC: 1) liberadores de 0,5 mg/h; 2) liberadores de vidro com papel de filtro de 5 mg/h; 3) liberadores de 15 mg/h com um pavio; 4) liberadores de 30 mg/h com dois pavios	67

Figura 11	Recipientes aberto e semi-aberto contendo a formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ®	69
Figura 12	Formulação de cairomônios com seus componentes separados para avaliação nos liberadores de pote aberto e semi-aberto	71
Figura 13	Componentes da formulação de cairomônios BG <i>Mesh Lure</i> ® individualizados em liberadores abertos: A) mangueira contendo ácido láctico; B) mangueira contendo ácido caprótico; C) “pastilha porosa” contendo amônia	71
Figura 14	Triagem dos flebotomíneos em campo para acondicionamento em envelopes entomológicos	74
Figura 15	Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,001 ml de octenol	78
Figura 16	Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,01 ml de octenol	79
Figura 17	Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,05 ml de octenol	79
Figura 18	Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,1 ml de octenol	81
Figura 19	Taxa acumulativa de evaporação do octenol para os diferentes volumes acrescentados no interior das mangueiras de polietileno tubulares de 5 cm	81
Figura 20	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 250µl de octenol (10 x 3 cm)	83

Figura 21	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 300µl de octenol (10 x 3 cm)	83
Figura 22	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 500µl de octenol (10 x 3 cm)	84
Figura 23	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 250µl de octenol (15 x 3 cm)	84
Figura 24	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 300µl de octenol (15 x 3 cm)	85
Figura 25	Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 500µl de octenol (15 x 3 cm)	85
Figura 26	Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas pretas (10 x 5 cm) preenchidas com 500µl de octenol	87
Figura 27	Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas pretas (15 x 5 cm) preenchidas com 500µl de octenol	87
Figura 28	Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas transparentes + mangueiras de silicone de 10 cm	88
Figura 29	Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas transparentes + mangueiras de silicone de 15 cm	88
Figura 30	Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com papel de filtro (■ octenol; ▲ temperatura)	90

Figura 31	Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores confeccionados com papel de filtro	90
Figura 32	Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com um pavio (■ octenol; ▲ temperatura)	91
Figura 33	Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores com um pavio	91
Figura 34	Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com dois pavios (■ octenol; ▲ temperatura)	92
Figura 35	Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores com dois pavios	92
Figura 36	Abundância de flebotomíneos capturados em Brejo do Mutambal em cinco noites em área de mata e peridomicílio (Abril 2005)	97
Figura 37	Abundância do total de flebotomíneos capturados em área de mata e peridomicílio (Abril 2005)	97
Figura 38	Média aritmética de captura de flebotomíneos (peridomicílio + área de mata) no Experimento 1 durante as cinco noites de captura em função das diferentes taxas de evaporação do octenol (0,5, 5, 15 e 30mg/h)	98
Figura 39	Média aritmética de captura de flebotomíneos em peridomicílio e área de mata durante as cinco noites de captura em função das diferentes taxas de evaporação do octenol (0,5, 5, 15 e 30mg/h)	98

- Figura 40** Média de Williams (95%IC) das espécies *Lutzomyia intermedia*, *L. longipalpis*, *L. renei*, capturadas em armadilhas luminosas iscadas com diferentes taxas de evaporação do octenol durante as cinco noites de capturas realizadas em Brejo do Mutambal, MG 102
- Figura 41** Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas da espécie *Lutzomyia intermedia*, *L. longipalpis*, *L. renei*, capturadas em armadilhas luminosas iscadas com diferentes taxas de evaporação do octenol durante as cinco noites do Experimento 1 realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas) 102
- Figura 42** Média aritmética de captura de flebotomíneos no Experimento 2 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas HP: controle (Isca 1) e com as formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*® aberto (Isca 2); Semi-aberto (Isca 3); aberto com octenol (Isca 4) e semi-aberto com octenol (Isca 5) 109
- Figura 43** Média de Williams (95%IC) da espécie *Lutzomyia quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas controle (Isca 1), com a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*® (Isca 2 e 3) e desta associada com octenol 5 mg/h (Isca 4 e 5) durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG 113
- Figura 44** Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas das espécies *Lutzomyia quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas controle (Isca 1), com a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*® (Isca 2 e 3) e desta associada com octenol 5 mg/h (Isca 4 e 5) durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas). 115
- Figura 45** Média aritmética de captura de flebotomíneos no Experimento 3 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas CDC: controle, ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*® 119

- Figura 46** Média aritmética de captura de flebotomíneos no Experimento 3 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas CDC: controle, ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*® (sem as armadilhas instaladas na casa 10 entre os dias 02/05/200 a 06/05/2005) 119
- Figura 47** Média de Williams (95%IC) das espécies *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas CDC: controle e iscadas com ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*® durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG 124
- Figura 48** Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas das espécies *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas CDC: controle e iscadas com ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*® durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas). 125

LISTA DE QUADROS

Página

Quadros 1, 2, 3, 4, 5	Disposição de delineamento do Quadrado Latino 5x5 das armadilhas luminosas controle (Contrl.) e iscadas com taxas de evaporação do octenol de 0,5 mg/h (T1), 5 mg/h (T2), 15 mg/h (T3) e 30 mg/h (T4) para captura de flebotomíneos durante o experimento 1	66
Quadro 6	Delineamento do Quadrado Latino das armadilhas luminosas controle e iscadas com ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG Mesh Lure® para captura de flebotomíneos durante o Experimento 3	70
Quadro 7	Protocolo para preparação e montagem de machos e fêmeas de flebotomíneos	73

RESUMO

Flebotomíneos transmissores de leishmanioses são geralmente capturados sugando humanos e/ou animais e ainda, por armadilhas luminosas iscadas ou não, dentre outras. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de cairomônios (odores sintéticos de hospedeiros) em armadilha luminosa CDC (modelo HP) em campo no Brejo do Mutambal (Varzelândia, MG) visando aumentar o potencial das armadilhas luminosas. Tubos de polietileno, silicone e frascos de vidro foram avaliados com possíveis liberadores de 1-octen-3-ol (octenol). O cairomônio octenol foi liberado em frascos de vidro nas taxas de evaporação de 0,5; 5; 15 e 30 mg/h e os resultados demonstraram que, embora não tenha aumentado a captura indiscriminada do gênero *Lutzomyia*, em armadilha luminosa, o cairomônio foi eficiente para *L. intermedia*, em resposta dose-dependente. O cairomônio *BG Mesh Lure*® sozinho e associado ao octenol (5mg/h) foi avaliado e mostrou eficiência na captura de várias espécies de flebotomíneos, quando comparado às armadilhas controle (somente a luz). Das espécies mais abundantes, somente *L. intermedia* respondeu ao atraente *BG Mesh Lure*® associada a taxa de 5mg/h de octenol em comparação ao controle. O efeito da atratividade do *BG Mesh Lure*® e de seus compostos individualizados (ácido láctico, ácido capróico e amônia) também foram avaliados visando conhecer a especificidade de cada componente cairomonal. As maiores médias de captura para armadilhas iscadas com *BG Mesh Lure*® foram observadas para *L. longipalpis* e *L. intermedia* quando comparadas ao controle. O ácido láctico se mostrou mais atrativos para a espécie *L. lenti*, embora *L. longipalpis*, *L. intermedia* e *L. renei* tenham apresentado capturas maiores para este cairomônio, quando comparadas ao controle. O ácido capróico foi mais eficiente na de captura da espécie *L. renei*, quando comparado à amônia. Armadilhas luminosas contendo amônia capturaram mais flebotomíneos das espécies *L. longipalpis*; *L. intermedia* e *L. lenti* que armadilhas iscadas com ácido capróico. O octenol e o *BG Mesh Lure*® associado à taxa de 15mg/h foram eficientes na captura de *L. intermedia*, que foi uma das espécies mais abundantes durante os experimentos. O *BG Mesh Lure*® apresentou um potencial de captura maior para flebotomíneos antropofílicos quando comparado aos seus compostos individualizados, mostrando-se como uma possível isca para atração destes flebotomíneos. Das 20 espécies capturadas em Brejo do Mutambal, *L. lutziana*, *L. longipennis* e *L. goiana* foram observadas pela primeira vez no município de Varzelândia.

ABSTRACT

Phlebotominae (sandflies), which transmit leishmaniasis, are generally captured during biting humans and/or animals and also, with light traps which can be baited or not. The objective of this present study was to evaluate the effect of synthetic lures of kairomones (host odors) on capture of sandflies within CDC light traps (HP model). Three field experiments were completed in Brejo do Mutambal (Varzelândia, MG, Brazil). The first experiment compared vials of polythene, silicon, and glass as possible dispensers of the kairomone 1-octen-3-ol (octenol), but only glass vials were able to achieve the desired release rates of 5, 15, and 30mg/h. It was observed that octenol was not effective in capturing many species of the genera *Lutzomyia* when using light traps, but the quantity of *L. intermedia* captured was positively dose dependent up to 15mg/h. The second experiment compared attractants of octenol (release rate = 5mg/h) and BG *Mesh Lure*[®] in single and binary combinations, and significantly more species were captured using kairomones as compared to light traps without kairomones (controls). Considering the most abundant species collected, only *L. intermedia* was captured in significantly higher numbers when both octenol and BG *Mesh Lure*[®] were used as compared to controls. The third experiment compared the effect of BG *Mesh Lure*[®] and its individual components (lactic acid, caproic acid, and ammonia) on the specificity of sandfly capture. Light traps baited with BG *Mesh Lure*[®] captured greater numbers of *L. longipalpis*, and *L. intermedia* as compared to controls. Lactic acid was more attractive for species of *L. lenti*, *L. longipalpis*, *L. intermedia*, and *L. renei* as compared to controls. Caproic acid was more efficient than ammonia in capturing *L. renei*. Light traps with ammonia captured more *L. longipalpis*, *L. intermedia*, and *L. lenti* as compared to light traps with lactic acid. These results suggest that octenol with a release rate of 15mg/h, or the BG *Mesh Lure*[®] combined with octenol (release rate = 5mg/h), effectively captures *L. intermedia*, which was one of the most abundant species collected during this study. The BG *Mesh Lure*[®] captures more anthropophilic sandflies than its individual components (lactic acid, caproic acid, and ammonia), and so it has the potential of being an effective lure for future sandfly studies. Of the 20 species collected in Brejo do Mutambal, *L. lutziana*, *L. longipennis*, and *L. goiana* were recorded for the first time in the municipal of Varzelândia.

1. INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Os Flebotomíneos: posição sistemática, biologia e ecologia

Os flebotomíneos são dípteros hematófagos que surgiram, provavelmente, durante o Cretáceo Inferior (LEWIS, 1982). Estes pertencem à subordem Nematocera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae, a qual é composta por seis gêneros: *Phlebotomus* Rondani, 1840; *Sergentomyia*, França & Parrot, 1920 e *Chinius* Leng, 1987 no Velho Mundo e *Lutzomyia* França, 1924; *Brumptomyia* França & Parrot, 1921 e *Warileya* Hertig, 1984 no Novo Mundo (YOUNG & DUNCAN, 1994).

Na subfamília Phlebotominae, os gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* são os que apresentam importância médica, por incluírem espécies transmissoras de leishmaniose, bartonelose e arboviroses. Além disso, a picada desses insetos pode causar, por ação da saliva, reações alérgicas no homem (ADLER & THEODOR, 1957).

Dos gêneros de flebotomíneos do Novo Mundo, *Lutzomyia* é o maior e o de mais ampla distribuição geográfica, com representantes desde os Estados Unidos até o norte da Argentina. Das mais de 500 espécies conhecidas de flebotomíneos nas Américas, um pouco mais de 400 são de *Lutzomyia*. O gênero é formado por 15 subgêneros, 11 grupos de espécies e duas espécies com descrição deficiente (YOUNG & DUNCAN, 1994).

Os flebotomíneos são insetos holometábolos, sendo que seus ínstares larvais desenvolvem-se e alimentam-se de matéria orgânica depositada no solo, enquanto os adultos, de ambos os sexos, se alimentam de açúcares de plantas. Somente as fêmeas adultas são hematófagas, sendo o alimento importante para a maturação dos ovos (FORATTINI, 1973), no entanto algumas espécies, como *Lutzomyia lichyi* Floch & Abonnenc, 1950, fazem primeira oviposição sem se alimentarem de sangue (MONTROYA-LERMA, 1992). Embora se

conheça o hábito alimentar das formas imaturas, principalmente através de estudos feitos com colônias de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) mantidas em laboratório, pouco se sabe sobre os criadouros naturais das larvas de flebotomíneos no Novo Mundo. As formas imaturas de flebotomíneos têm sido encontradas em ambientes domésticos (construções abandonadas, porões de casas, fendas de chão e paredes), peridomésticos (tocas de animais, latrinas, debaixo de pedras, aterros) e silvestres (formigueiros, cavernas, raízes tubulares, tocas de gerbis e roedores). O conhecimento mais preciso sobre esses sítios de criação de *L. longipalpis*, bem como de outras espécies do gênero *Lutzomyia* Neo-Tropicais, poderia facilitar o controle destes psicodídeos (FELICIANGELI, 2004).

1.2 - As leishmanioses: problemas sócio-econômico e ambiental

Os movimentos de migração de pessoas de diferentes regiões do Brasil para a Região Amazônica, nas últimas décadas, têm sido apoiados financeiramente pelo Governo Federal através de projetos de colonização e construção de estradas. Com estas correntes migratórias ocorreu uma considerável alteração no ambiente (AZEVEDO *et al.*, 2002).

Segundo GÁLLEGO (2004), diferentes zoonoses assumiram um papel importante na saúde pública devido ao que chamam de urbanização das doenças. Isto é devido a essas alterações no ambiente e o constante movimento migratório da população da periferia para os grandes centros. Embora as taxas de incidência dessas zoonoses tenham aumentado na área urbana, não se pode dizer que as mesmas diminuíram em área rural, uma vez que esta mantém ainda condições necessárias de prevalência de vetores e patógenos. A leishmaniose é um bom exemplo deste fenômeno. Essa doença, nos últimos anos tem se apresentado como um importante problema de saúde pública em vários países, não somente por causa da invasão de área antes livres da mesma, mas também pela emergência de antigos focos da doença.

Na América Latina, por exemplo, as florestas seriam os *habitats* dos transmissores da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). A destruição destas florestas altera a geografia local e conseqüentemente o “microhabitat” das espécies animais que vivem neste ambiente. Com isso novas associações, como agricultura de subsistência, ocorrem entre humanos e a natureza produzindo novos focos de doenças como a malária e, especialmente a Leishmaniose Cutânea (LC) (AZEVEDO *et al.*, 2002), como observado para a espécie *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) uma espécie com maior capacidade de domiciliação e da maior adaptação aos ambientes modificados pelo homem (AGUIAR *et al.*, 1987).

Sendo assim, a criação destes aglomerados populacionais promovidos por estas migrações, bem como pelo crescimento desordenado das grandes cidades, sem a mínima infra-estrutura sanitária, precedeu à destruição dos ecótopos naturais do vetor colocando as pessoas mais expostas ao contágio da doença (REBÊLO, 2001). Paralelamente à essa conjuntura social, está ocorrendo uma maior adaptação de algumas espécies de flebotomíneos ao ambiente urbano, como tem se observado para *L. longipalpis*, o que acarretou um maior aumento no número de casos de leishmaniose visceral em grandes cidades, como por exemplo, Belo Horizonte, MG (SILVA *et al.*, 2001).

1.3 - *Lutzomyia longipalpis* (hospedeiro) e a *Leishmania chagasi* (parasito)

Lutzomyia. longipalpis (Diptera: Psychodidae) é o mais importante vetor da Leishmaniose Visceral (LV) no Novo Mundo (FORATTINI, 1973). Na América Latina a doença está distribuída desde o México até a Argentina e possui como agente etiológico o protozoário *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1934 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (YOUNG & DUNCAN, 1994). A LV é um grave problema de saúde no

Brasil (LAINSON, 1989), sendo que o país contribui com 90% dos casos no continente (SOARES & TURCO, 2003).

Esta espécie passou a ser o elo entre as fontes de infecção, cão doméstico, reservatório (CHAGAS, 1938) e homem, hospedeiro acidental (LAINSON, 1989), em decorrência da flexibilidade alimentar da espécie vetora (REBÊLO, 2001).

LANZARO *et al.* (1993) compararam 27 enzimas de populações de *L. longipalpis* provenientes da Colômbia, Costa Rica e Brasil e demonstraram o polimorfismo destas populações, por meio de diferenças no traçado izoenzimático das espécies. propondo que *L. longipalpis* seria um complexo de espécies devido a esta divergência genética. Uma das teorias de que esta espécie faz parte de um complexo é evidenciada para populações que ocorrem em diferentes regiões do Brasil através da análise de feromônios sexuais e de agregação emitidos pelos machos (HAMILTON *et al.*, 1996a; HAMILTON *et al.*b, 1996; SPIEGEL *et al.*, 2005).

1.4 - A Tríade Epidemiológica: hospedeiro, parasito e ambiente

As espécies de flebotomíneos podem ser divididas em três categorias: a) silvestres, que vivem nas florestas ou em regiões não florestais, porém só acidentalmente são encontradas associadas ao homem e aos animais domésticos; b) semidomésticos, que vivem fora das habitações humanas e de animais domésticos, somente procurando-as para obtenção do repasto sangüíneo; c) domésticos, que vivem associados ao homem e aos animais domésticos, no interior de habitações ou próximo delas (BARRETO, 1943 *in* AGUIAR & MEDEIROS, 2003).

XIMENES *et al.* (1999), demonstrando a densidade de flebotomíneos em abrigos de animais domésticos e silvestres, no estado do Rio Grande do Norte, através de captura por

aspiração e armadilhas luminosas CDC observaram que *L. longipalpis* e *L. evandroi* Costa Lima & Antunes, 1936 se mostraram como espécies ecléticas quanto à escolha de seus hospedeiros. Neste trabalho *L. longipalpis* mostrou sua preferência alimentar, em ordem decrescente, por cavalos, tatus (*Euphractus sexcintus*), galinhas e preás (*Galea spixii*), respectivamente. Já *L. evandroi* teve sua preferência em ordem decrescente por tatus, preás, cavalos e galinhas.

A preferência de fêmeas de *L. longipalpis* por *hamsters* infectados com *L. chagasi* foi avaliada em túnel de vento e cromatografia gasosa, e foi observada uma resposta atrativa a estes roedores quando infectados (O'SHEA *et al.*, 2002).

QUINNEL *et al.* (1992) em experimentos de campo na Ilha de Marajó, demonstraram que *L. longipalpis* são mais atraídas mais por iscas humanas que por cães e galinhas. Resultado similar foi demonstrado por CAMPBELL-LENDRUNM *et al.* (1999) para espécies de *L. whitmani* Antunes & Coutinho, 1939 provenientes da Amazônia. BONGIORNO *et al.* (2003) realizaram coletas em campo na Itália para mostrar as preferências das espécies de flebotomíneos pelos hospedeiros, uma vez que se trata de uma área de leishmaniose canina. Das espécies encontradas *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 havia se alimentado sobre homens, cães, cavalos, ovelhas e pássaros enquanto as fêmeas de *P. papatasi* Scopoli, 1776 haviam se alimentado sobre cães, cavalos e pássaros.

Estes estudos que demonstram a atração interespecífica e o comportamento alimentar das espécies de flebotomíneos, do Novo e do Velho Mundo, tornam clara a preferência destes por determinados hospedeiros, mas em geral a maior parte das espécies são oportunistas. Além disso, a disponibilidade de hospedeiros deve ser levada em consideração na interpretação destes estudos. Este comportamento eclético de algumas espécies é um evento importante no ciclo zoonótico da leishmaniose, associado à idade, abundância e comportamento do hospedeiro. MONTROYA-LERMA & LANE (1996) mostraram que

Lutzomyia evansi Nuñez-Tovar, 1924, em altas densidades, têm preferência por humanos quando comparados com cães e gambás, salientando que esta espécie de flebotomíneo é bem adaptada às áreas degradadas.

Isto mostra que há necessidade de mais estudos taxonômicos, biológicos e ecológicos do grupo, que dêem subsídios para formas alternativas de controle dos flebotomíneos.

1.5 – Os estímulos químicos e físicos envolvidos na densidade da população de flebotomíneos e na localização do hospedeiro

Dípteros hematófagos, das Subordens Nematocera e Brachycera, têm sido objetos de pesquisas interessadas na elucidação de mecanismos comportamentais pelos quais estes insetos localizam o hospedeiro por meio de estímulos químicos (odor) e físicos (umidade, temperatura e visão), onde algumas vantagens e desvantagens referentes a hematofagia noturna destes são relatadas (GIBSON & TORR, 1999).

Flebotomíneos adultos possuem atividade crepuscular e noturna (GIBSON & TORR, 1999; SANTOS-DE MARCO *et al.*, 2002), movimentando-se em pequenos saltos em torno dos seus hospedeiros, com capacidade de se dispersarem por volta de 200m em uma única noite. De modo geral, os flebotomos são particularmente ativos nas tardes e noites quentes e calmas, com temperatura superior a 20°C (FORATTINI, 1973).

Para os flebotomíneos a baixa percepção visual (especialmente cores), baixa velocidade do vento influenciando no direcionamento dos voláteis emitidos pelo hospedeiro, aumento de dióxido de carbono (CO₂) atmosférico e a menor mobilidade do hospedeiro (diminuindo a eficiência da estratégia de "senta e espera") culminam como desvantagens para estes dípteros. O hábito hematofágico noturno apresenta como vantagens menor risco de

dessecação do flebotomíneo, o hospedeiro encontra-se quase sempre parado (diminuindo o risco de um comportamento defensivo deste, aumentando a probabilidade de sucesso na alimentação), menor risco de predadores e menor turbulência atmosférica não interrompendo a pluma de odor. Isso mostra que o comportamento de cada espécie, frente a um estímulo, está adaptado às suas próprias condições bióticas e abióticas (MONTROYA-LERMA & LANE, 1996).

A baixa condição luminosa e, conseqüentemente, a menor percepção da luz por estes insetos permite inferir que este estímulo tenha importância secundária para a localização do hospedeiro (GIBSON & TORR, 1999).

Trabalhos de campo com flebotomíneos de comportamento crepusculares ou noturnos, visando à resposta visual são pouco conhecidos, embora se saiba que ambos os sexos sejam atraídos por luz artificial emitidas por armadilhas, como a CDC. (SUDIA & CHAMBERLAIN, 1962 *apud* MELLOR *et al.* 1996). Estes autores, usando eletrorretinograma avaliaram a resposta de machos e fêmeas de *L. longipalpis* e demonstraram que estes apresentaram uma região de resposta á luz ultravioleta (UV - até 340nm), com um pico secundário na região azul-verde-amarela de 520 nm e 546 nm para os respectivos sexos. A sensibilidade espectral de *L. longipalpis* é similar a de *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae), com máxima na região de 360 á 490 nm, entre luz UV e azul-verde-amarela. Mais tarde, MELLOR & HAMILTON (2003) trabalhando com *L. longipalpis* mostraram que esta espécie de flebotomíneo pode distinguir cores e discriminar entre diferentes comprimentos de onda de diferentes intensidades, o que teria importantes implicações no desenho de armadilhas luminosas.

Trabalhos com o objetivo de se conhecer a fauna de flebotomíneos de um determinado local também utilizam três outros estímulos físicos, temperatura, umidade relativa e pluviosidade, para inferir na densidade populacional das espécies coletadas. BARATA *et al.*

(2004), trabalhando em Porteirinha (MG) observaram que das três variáveis supracitadas, as duas últimas interferiram mais na captura das espécies que a temperatura. Segundo os autores isso pode ter sido devido a pequena variação da mesma entre 23° e 28C°. A interferência de fatores climáticos na população de flebotomíneos tem sido estudada por outros autores. FELICIANGELI (1987) demonstrou que níveis de pluviosidade e a conseqüente umidade relativa foram as variáveis mais importantes na sazonalidade flebotomíneos em um foco endêmico de LC na Venezuela.

REBÊLO (2001) realizando captura de *L. longipalpis*, com armadilha CDC observou que a espécie foi coletada durante todo o ano, tendo capturas mais freqüentes para as estações chuvosas (57,2%) que secas (42,8%). Neste trabalho as variáveis, temperatura umidade relativa e pluviosidade não constituíram fatores de influência na densidade da espécie. No entanto, quando esses fatores ambientais foram relacionados com freqüência do flebotômo por estação constatou-se que a pluviosidade exerceu forte influência em sua distribuição sazonal. Para os importantes vetores relacionados com LC, *L. intermedia* em Minas Gerais e *L. whitmani* no Brasil, SOUZA *et al.* (2002) observaram que enquanto a primeira é predominante nos meses quentes para o Estado, a segunda predomina nos meses frios, entretanto as mesmas estiveram presentes durante todo os dois anos de estudo. Também no Estado do Rio de Janeiro, MENESES *et al.* (2002) notaram que *L. intermedia* e *L. migonei* França, 1920 aumentam significativamente durante estações quentes do ano e decrescem durante estações frias em parte do ano, estando as distribuições sazonais destas intimamente relacionadas à temperatura e umidade. O aumento da população de transmissores da LTA tem como fatores favoráveis a umidade e as temperaturas elevadas, tendo implicação direta com risco de infecção numa determinada região. O clima quente e úmido, a declividade (boqueirões), fontes de alimento e outros parâmetros ecológicos determinam a distribuição e a possível ocorrência do ciclo da doença (LEMOS & LIMA, 2005).

1.6 - A Comunicação Química

A orientação dos insetos em direção às fontes de odores atrativas depende da distribuição temporal e espacial das moléculas odoríferas no ambiente. Na medida em que as moléculas de odor se dispersam de uma fonte, a concentração de odor no ar diminui com o aumento da distância (LIMA & DELLA LÚCIA, 2001). As moléculas evaporadas formam uma nuvem ou pluma alongada, geralmente de formato irregular, que se move a favor do vento. Uma pluma de odor não é contínua e aparece como uma série de pulsos que variam em força e duração. Durante o vôo, a pluma pode ser perdida e para aumentar as chances de reencontrá-la, os insetos realizam vôos perpendiculares ao fluxo normal do vento (EIRAS & MAFRA NETO, 2001).

As moléculas responsáveis pelos estímulos olfativos são substâncias voláteis que se dispersam segundo a lei dos gases, formando plumas de odores (MATHEWS & MATHEWS, 1988). O estudo destas plumas e de como os insetos respondem a elas são necessários para que se possa compreender, por exemplo, o raio de alcance dos atraentes colocados em armadilhas e o comportamento empregado pelos insetos para a localização da fonte de odor (EIRAS & JEPSON, 1996). Os testes simulam a propagação dos odores e a pluma pode ser visualizada por meio de uma fumaça branca produzida por ácido clorídrico e hidróxido de amônia em contraste com fundo preto (EIRAS & JEPSON, 1991).

As reações metabólicas dos hospedeiros geram grande número de substâncias químicas voláteis, como CO₂ e ácido láctico, que são liberadas e, provavelmente, cada inseto hematófago tenha se especializado em detectar e utilizar algumas destas substâncias como informação para a localização de um hospedeiro específico (GIBSON & TORR, 1999). Estes são mediadores químicos utilizados por vertebrados e invertebrados na comunicação entre indivíduos, visando a reprodução, agregação, alarme e oviposição (NORLUND, 1984). Estes

“sinais químicos”, denominados semioquímicos, abrangem substâncias intraespecíficas denominadas feromônios e interespecíficas denominadas infoquímicos e, dentre estes, destacam-se os cairomônios (VILELA & DELLA LUCIA, 2001).

1.6.1 - A Química da Atração Intraespecífica

A palavra feromônio é proveniente do grego, onde “pherein” significa carrear e “hormon”, estimular. Este termo foi introduzido por KARLSON & LÜSCHER (1959) referindo-se a grupos de substâncias biologicamente ativas, que são secretadas por um indivíduo e lançadas para o ambiente, provocando em outro indivíduo receptor de mesma espécie uma reação específica comportamental ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido. Algumas destas substâncias voláteis que, em baixas concentrações, atraem à distância os indivíduos do sexo oposto para o acasalamento e, em altas concentrações, estimulam o comportamento de corte a curta distância são denominadas feromônios sexuais. Extratos de glândulas de feromônios sexual de machos de *L. longipalpis* são capazes de atrair fêmeas co-específicas em laboratório a uma distância de até 2,2 metros (MORTON & WARD, 1990; WARD *et al.*, 1990). De acordo com KELLY & DYE (1997), os feromônios de machos de flebotomíneos e os odores dos hospedeiros (cairomônios) funcionam como atraentes para a realização do repasto sangüíneo pelas fêmeas, embora haja relato de hematofagia em machos de *L. migonei*, *L. pessoai* Coutinho & Barreto, 1940, *L. fischeri* Pinto, 1926 (SANTOS DA SILVA & GRÜNEWALD, 1999).

A produção e liberação do feromônio sexual por machos de *L. longipalpis* é feita por glândulas localizadas no terceiro tergito abdominal (LANE & WARD, 1984). Fenotipicamente, a presença de uma ou duas manchas no abdômen dos machos caracteriza a produção de feromônios sexuais de diferente constituição química. Desta forma *L. longipalpis*

é composta por diferentes populações (polimorfismo) (AZEVEDO *et al.*, 2000). Análises químicas de extratos destas glândulas têm revelado três diferentes tipos de feromônios sexuais produzidos por machos de *L. longipalpis* do Brasil, dependendo da sua distribuição geográfica (HAMILTON *et al.*, 1996 a, b; 2002): (a) o homosesquiterpeno (1S,3S,&r)-3-metil-himacaleno é específico para *L. longipalpis* de Jacobina (BA); (b) o homosesquiterpeno (s)-9-metilgermacreno-B que é específico para *L. longipalpis* provenientes da Gruta da Lapinha (MG); (c) e um diterpeno específico para populações de *L. longipalpis* de Sobral (CE).

KELLY & DYE (1997) estudando dinâmica de agregação da espécie *L. longipalpis*, através de capturas em armadilhas luminosas CDC próximas a galinheiros, demonstraram que machos chegam mais cedo até a isca (galinhas), provavelmente atraídos pelos odores dos hospedeiros. Mais tarde SPIEGEL *et al.* (2005) mostraram que o feromônio, (1s, 3S, 7R) -3-metil- α -himachaleno não só funciona como atrativo sexual para fêmeas, mas também induz resposta neurofisiológica em machos, importante para agregação da população de *L. longipalpis* de Jacobina (BA).

Nas espécies do complexo *L. longipalpis* machos formam “leks” (comportamento de machos de *L. longipalpis*, quando em contato com o hospedeiro, promovido pelo feromônios, responsável pela marcação de território) próximos aos seus hospedeiros tanto em campo quando em laboratório (KELLY & DYE, 1997), pelos quais as fêmeas são atraídas (KELLY & DYE, 1997; WARD & MORTON, 1991). Estes feromônios são importantes na agregação de fêmeas do gênero *Lutzomyia* sp. e no conseqüente comportamento de corte das espécies de *L. longipalpis* (NIGAN & WARD, 1991; JONES & HAMILTON, 1998; HAMILTON *et al.*, 2002; SOARES & TURCO, 2003). Sendo assim, pode-se dizer que as fêmeas de cada população respondem, diferentemente, aos feromônios sexuais produzidos pelos machos (JONES & HAMILTON, 1998).

1.6.2 - A Química da Atração Interespecífica

O termo caïromônio deriva do grego “kairo”, que significa oportunista, e foi proposto por BROWN *et al.* (1970) para designar substâncias químicas, interespecíficas, que desencadeiam uma reação fisiológica ou comportamental beneficiando a espécie receptora. No caso de flebotomíneos e outros artrópodos hematófagos, exemplos de caïromônios são as substâncias metabólicas voláteis produzidas pelos hospedeiros que são detectadas por receptores nas antenas e palpos (DAVIS & BOWEN, 1994; DOUGHERTY *et al.*, 1999) no processo de procura e localização da fonte alimentar, desenvolvendo uma seqüência de comportamentos (EIRAS, 2001).

Existe forte evidência que mosquitos usam uma combinação de caïromônios emitidos pelo hospedeiro para discriminar entre os indivíduos, isto associado a fatores físicos, tais como a visão do inseto e a temperatura corporal no hospedeiro (REBOLLAR -TELEZ *et al.*, 1999). MAIBACH *et al.* (1966) mostraram que o suor humano é capaz de atrair *A. aegypti*, pois foi demonstrado que os mosquitos não respondiam à pessoas que não suam. ACREE *et al.* (1968) demonstraram que o ácido lático isolado da pele humana era atrativo para a espécie. Partindo-se deste estudo, o papel deste caïromônio na atração de mosquitos tem sido investigado e os resultados sugerem que esta substância é fundamental no processo de atração de fêmeas de *A. aegypti* (GEIER *et al.*, 1999; STEIB *et al.*, 2001). Respostas do mosquito *A. aegypti* foi investigada por EIRAS & JEPSON (1991) os quais mostraram que o ácido lático não ativou o vôo desta espécie, mas apresentou efeito sinérgico ou aditivo com o (CO₂) e, quando combinado em altas concentrações, causou inibição do vôo. O efeito sinérgico do ácido lático com outros componentes do suor humano, como a amônia, também foi demonstrado por GEIER *et al.* (1999), pois a remoção do ácido resultou em perda de

atratividade de mosquitos *A. aegypti*. No entanto não é conhecido se os flebotomíneos respondem aos semioquímicos como os culicídeos (REBOLLAR-TELEZ *et al.*, 1999).

HAMILTON & RAMSOONDAR (1994) sugerem que diferenças na atratividade entre as populações humanas de uma área endêmica funcionariam como um fator de risco para LV. Essas diferenças foram demonstradas em um estudo utilizando mãos de pessoas de raças distintas, as quais permaneciam cinco minutos em contato com uma placa de Petri, para posterior atração de machos e fêmeas de *L. longipalpis*, embora não tenha sido feita a caracterização dos constituintes dos odores (REBOLLAR-TELEZ *et al.*, 1999).

Para que os flebotomíneos sejam atraídos por diferentes espécies de hospedeiros, devem responder a caimônios não específicos, como por exemplo, o CO₂. Isto explicaria porque, em muitas espécies de flebotomíneos, a taxa de atração parece aumentar com o tamanho do hospedeiro (QUINNELL *et al.*, 1992; CAMPBELL-LENDRUM *et al.*, 1999).

CAMPBELL-LENDRUM *et al.* (1999), em estudos comportamentais com populações de *L. whitmani*, evidenciaram a preferência desta espécie por certos hospedeiros, neste caso sendo o homem mais atrativo que galinhas e cachorros e conseqüentemente que o controle (luz). O acompanhamento de vôo dos insetos, em relação ao seu hospedeiro preferencial, foi feito marcando-se os mesmos com tinta fluorescente. Foi observado também, o retorno destes ao local onde tinham sido capturados antes dos testes.

Para culicídeos, mais de 350 voláteis liberados pela pele humana foram identificados (BERNIER *et al.*, 1999, 2000) e várias tentativas têm sido feitas para se produzir formulações a partir destes compostos capazes de substituir a isca humana na captura destes insetos. Estes compostos foram avaliados, em laboratório em testes de olfatômetro, quanto a sua atividade biológica para fêmeas de *A. aegypti*, mostrando-se promissores como atrativos para a espécie (BERNIER *et al.*, 2002).

Uma formulação de compostos sintéticos do odor humano tem apresentado resultados promissores com *A. aegypti*, a qual é composta com os ácidos láctico, capróico (ácido hexanóico) e por amônia (BOSCH *et al.*, 2000). Estudos para avaliar o potencial desta formulação de cairomônios, como atraentes para flebotomíneos, ainda não foram realizados.

1.7 - A Isca Humana: eficiência e problemática

Dentro dos programas de controle da malária, por exemplo, a determinação da abundância de populações de mosquitos, a frequência do contato homem-vetor e a taxa de paridade das fêmeas das espécies do gênero *Anopheles*, são parâmetros caracterizados mediante a técnica de coleta no homem (isca humana), o qual é considerado por pesquisadores preciso, eficiente e representativo (MORENO *et al.*, 2002). A alternativa mais utilizada para evidenciar hospedeiros preferenciais, na hematofagia do gênero *Lutzomyia*, é a exposição de iscas animais, como cães, galinhas, eqüinos e gambás em campo (XIMENES *et al.*, 1999; BONGIORNO *et al.*, 2003; QUINNELL *et al.*, 1992), e eventualmente de iscas humanas (QUINNELL *et al.*, 1992; AGUIAR *et al.*, 1996; REBOLLAR-TELEZ *et al.*, 1999; PINTO *et al.*, 2001) para detecção de espécies antropofílicas de flebotomíneos. Embora estes métodos de coleta sejam relevantes no monitoramento deste grupo para a pesquisa faunística e epidemiológica das espécies, a exposição de seres humanos em ambientes de transmissão de leishmaniose, ou mesmo de malária, tornou-se, hoje, uma questão ética.

Para os psicodídeos em geral, a isca humana é utilizada quando associada, principalmente, a armadilhas luminosas. Para isso deve-se levar em conta os abrigos naturais das espécies onde a captura destes insetos pode ser feita por meio do tubo capturador de Castro, ou da utilização de aparatos que dependam de atrativos usados em combinação ou não, incluídas, neste caso, as armadilhas de pano, de luz ou àquelas em que se pode utilizar

iscas animais. Entre estas se pode citar a armadilha de Damasceno e a armadilha de Shannon, sendo que esta última o homem pode servir como isca para avaliação do nível de antropofilia das espécies do gênero *Lutzomyia* (VILELA *et al.*, 2003).

Uma prática muito comum é a utilização de armadilhas luminosas em campo como forma de substituir o problema ético da exposição de seres humanos, como iscas, para o monitoramento de flebotomíneos. Na determinação da efetividade de intervenção para o controle de vetores, por exemplo, o principal indicador a ser medido é a taxa de inóculo de *Leishmania*. Um dos componentes necessários para o cálculo desta taxa é o número de flebotomíneos capturados da isca humana em um determinado tempo de exposição (ALEXANDER *et al.*, 1995; DAVIES *et al.*, 1995).

Três aspectos foram ressaltados por DAVIES *et al.* (1995) com relação a estes dois tipos de captura: (a) as espécies de flebotomíneos diferem ao nível de antropofilia e fototaxia, (b) as iscas humanas provavelmente atraem mais fêmeas do que as iscas luminosas e o (c) estado gonadotrófico das fêmeas pode diferir de acordo com a isca utilizada. Alguns autores, entretanto, têm salientado que, de acordo com o objetivo da investigação, as armadilhas luminosas podem não ser as mais adequadas (MOLYNEAUX & ASHFORD, 1983; WHEELER *et al.*, 1996).

Embora o uso das armadilhas luminosas CDC elimine o problema ético de isca humana, algumas espécies de flebotomíneos são altamente antropofílicas e não são fototrópicas (ALEXANDER *et al.*, 1995; TRAVI *et al.*, 1998), enquanto outras parecem ser mais fototrópicas que antropofílicas, como por exemplo, *L. verrucarum* Townsend, 1913 (DAVIES *et al.*, 1995). Por outro lado, uma forte correlação foi encontrada entre as capturas em armadilhas luminosas e isca humana para *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786 (FRYAUFF & MODI, 1991). Em virtude destas diferenças comportamentais, comparações entre os dois métodos devem ser realizadas antes da utilização da luz como indicador de

atração humana, a fim de identificar a existência de correlação ou não entre eles (WHEELER *et al.*, 1996).

HAMILTON & RAMSOONDAR (1994), utilizando populações de *L. longipalpis*, da Gruta da Lapinha (MG) e de Jacobina (BA), demonstraram que fêmeas respondem mais significativamente à emissão de odor humano que os machos, embora este mecanismo não esteja claro. Houve uma maior resposta da população de *L. longipalpis* de Jacobina quando comparada à da Gruta da Lapinha, o que implica em maior antropofilia da primeira população em relação a segunda e na conseqüente diferença na dinâmica de transmissão de *Leishmania*.

1.8 - Os Cairomônios Testados para Flebotomíneos

DOUGHERTY *et al.* (1999) caracterizaram e identificaram substâncias voláteis a partir de compostos extraídos de glândula de odor de raposa, um animal considerado reservatório para *L. chagasi*, como possíveis cairomônios. Por meio de cromatografia gasosa e espectrometria de massa, detectaram a presença de 16 compostos, sendo que alguns dos atraentes sintéticos utilizados em bioensaios foram atrativos para fêmeas de flebotomíneos. Estes compostos foram divididos em quatro classes: cetonas, ácidos carboxílicos, álcoois e aldeídos. Trata-se do único estudo de tentativa de se isolar classes de químicos para elucidação de atratividade de flebotomíneos, embora nenhum dos componentes sintéticos isoladamente tenha desenvolvido resposta comportamental nos flebotomíneos, como o odor liberado pela glândula de raposa. Os autores sugerem que o desenvolvimento de formulações específicas poderia vir a ser importante para iscar armadilhas, aprimorando o monitoramento do complexo *L. longipalpis*.

1.8.1 - CO₂

É o principal cairomônio volátil liberado pelos vertebrados e é utilizado pela maioria dos insetos hematófagos vetores para a localização dos hospedeiros (EIRAS, 2001). O CO₂ não é um composto de fácil utilização em campo, pois o modo mais apropriado de utilização desse composto é através de gás comprimido em cilindro, onde o volume liberado através das válvulas pode ser controlado, simulando, por exemplo, a produção do gás pelo hospedeiro. Desta forma o manuseio e o custo elevado do sistema com cilindros dificultam o seu uso em larga escala para monitoramento e/ou controle. Um outro fator limitante na utilização do CO₂ é a sua falta de especificidade, visto que a grande maioria dos mosquitos hematófagos é atraída por este composto (EIRAS, 2001).

Para o grupo dos flebotomíneos, KNUDSEN *et al.* (1979) mostraram pela primeira vez evidências sobre o potencial atrativo de CO₂ liberado na forma de gelo seco. O composto iscado em armadilhas luminosas CDC aumentou a captura de espécies antropofílicas e zoofílicas de flebotomíneos, em campo (CHANIOTS, 1983), embora em laboratório, seu papel atrativo não tenha sido consistentemente observado (NIGAM & WARD, 1991).

Entretanto, a participação de CO₂ na atratividade proveniente de hospedeiros somente foi, recentemente, quantificada em um estudo com seres humanos. PINTO *et al.* (2001) avaliaram, em situação de campo, a atratividade de um ser humano para *L. whitmani* e *L. intermedia* comparada com a sua taxa equivalente de CO₂ liberada artificialmente e observaram que aproximadamente 45% da atração exercida por todos os odores liberados pelo ser humano foi atribuída ao CO₂. O restante da atividade foi atribuída a compostos não identificados liberados pela respiração ou suor humano. Por outro lado, outros autores também, em estudos de laboratório, demonstraram que o suor humano é atrativo para *L. longipalpis* sem a presença de CO₂ (HAMILTON & RAMSOONDAR, 1994; REBOLLAR-TELLEZ *et al.*, 1999), porém não identificaram os compostos envolvidos nesse processo.

1.8.2 – 1-octen-3-ol (Octenol)

Identificado à partir de voláteis provenientes da expiração de bovinos (HALL *et al.*, 1984), foi inicialmente descrito como atraente para algumas espécies de mosca tse-tsé (*Glossina* spp.) (VALE & HALL, 1985) e é considerado um dos melhores atraentes para a espécie *G. morsitans* (HALL *et al.*, 1984), mesmo quando usado na ausência de CO₂ (HURSEY & SLINGENBERGH, 1992).

O composto octenol é relatado como importante cairomônio na localização do hospedeiro por espécies de dípteros zoofílicos, das famílias Muscidae, Tabanidae, Ceratopogonidae e Culicidae, não havendo evidência para a subfamília Phlebotominae (GIBSON & TORR, 1999). Entretanto, SANT'ANA *et al.* (2002) mostraram pela primeira vez que *L. longipalpis* pode detectar a presença de 1-octen-3-ol em corrente de ar. BEAVERS *et al.* (2004) avaliaram o composto octenol e o CO₂ como atraentes para *P. papatasi*, em armadilhas luminosas do tipo CDC e demonstraram que o octenol, sozinho, não apresentou significância na atração da espécie quando comparado com o CO₂. Nenhum efeito sinérgico também foi observado entre estes cairomônios na atração de fêmeas da espécie. O CO₂ funcionou como melhor atraente para machos e fêmeas de *P. papatasi* em armadilhas do tipo CDC, quando comparado com a luz e com o octenol.

De uma forma geral, poucas espécies de mosquitos respondem com grande intensidade ao octenol quando este é apresentado isoladamente (KLINE, 1994). Uma resposta dose-dependente significativa ao octenol foi observada para fêmeas de *Anopheles gambiae* (CORK & PARK, 1996). Para a mosca tsé-tsé (*G. morsitans*) o número de capturas em campo praticamente dobra quando se acrescenta ao odor bovino 0,5 mg/h de taxa de evaporação de octenol e declina quando são usadas taxas entre 50-500mg/h, demonstrando a importância das taxas de liberação dos atraentes (VALE & HALL, 1985).

CAMERON *et al.* (1991) relatam que o efeito de odores sintéticos para flebotomíneos no Sri Lanka não está claro. Sachês contendo fenol e octenol iscados em armadilhas CDC funcionam melhor na atração do gênero *Phlebotomus* do que quanto o octenol é apresentado isoladamente. Ainda segundo os autores, estas armadilhas iscadas com octenol não aumentaram, significativamente, a captura de flebotomíneos quando comparadas com armadilhas tendo somente a luz como atrativo. SILVA *et al.* (2000) avaliando o cairomônios na captura de flebotomíneos numa área de Mata Atlântica em Recife (PE) observaram que a maioria dos insetos capturados em armadilhas luminosas do tipo CDC iscada com octenol e/ou CO₂ pertenciam às famílias Culicidae e Psychodidae.

Portanto, variações promovidas nas associações do octenol bem como da sua quantidade utilizada nas respostas olfativas de diferentes espécies de dípteros podem refletir o uso de taxas de evaporação inapropriadas do odor (GIBSON & TORR, 1999).

A resposta do octenol parece ser espécie-específica, atuando como atraente para algumas espécies e como repelentes para outras (KEMME *et al.*, 1993). Segundo KLINE (1994), a resposta ao octenol também pode apresentar variações geográficas, sazonais ou de acordo com a idade e estado fisiológico dos mosquitos.

1.8.3 - Ácido Lático

É o principal componente do suor humano (CORK & PARK, 1996) e está presente em todos os tipos de hospedeiros vertebrados o qual é proveniente de todas as partes do corpo através de suor e expiração.

Armadilhas iscadas com ácido lático em ambientes naturais não são eficientes na captura de mosquitos, porém tornam-se atrativas com a adição de CO₂, podendo haver um sinergismo entre os dois cairomônios (KLINE *et al.*, 1990). O ácido lático usado em

combinações com CO₂, aumentou a captura de moscas tse-tsé em armadilhas, porém este cairomônio não foi eficiente quando testado individualmente (VALE, 1979 *apud* EIRAS, 2001). STEIB *et al.* (2001) investigaram o papel do ácido láctico na preferência olfatória de fêmeas *A. aegypti* comparando a atratividade dos mesmos pelo atrito das mãos de humanos e extratos obtidos da pele de diferentes mamíferos. Humanos foram mais atrativos e esta taxa de atração aumentava com acréscimo desta substância, mostrando a influência desta na atração da espécie.

PINTO (2001) realizando experimentos de campo na região Norte do Estado do Paraná, demonstrou que o ácido láctico apresentou uma certa atratividade para a espécie *L. whitmani*. O composto liberado isoladamente capturava mais machos e fêmeas da espécie quando comparado ao controle. Porém sua atratividade foi inferior àquela exercida pelo CO₂. e nenhum efeito sinérgico foi detectado entre os cairomônios avaliados para flebotomíneos, possivelmente pela forte efeito atrativo do CO₂.

1.9 - JUSTIFICATIVA

Considerando as duas formas de leishmaniose, LC e LV, como doenças de altas prevalências no Brasil, os trabalhos de interesses voltados à tentativa de se obter uma melhor forma de conhecer a biologia dos vetores desta enfermidade e de um possível monitoramento e/ou controle destes mostram-se de suma importância.

A utilização do octenol como atraente para flebotomíneos é ainda uma especulação, embora SANT'ANA *et al.* (2001) já tenham demonstrado que *L. longipalpis* apresenta quimiorreceptores para a substância, através de eletroantografia (EAG). No entanto, respostas comportamentais da espécie em estudo não foram realizadas.

O ácido lático é um importante cairomônio na atratividade de dípteros hematófagos (STEIB *et al.*, 2001) e tem seu efeito aumentado quando em combinação com a amônia (GEIER *et al.*, 1999). Estes dois últimos compostos, juntamente com o ácido capróico, fazem parte de uma formulação de cairomônios a qual apresentou eficiência na captura de *A. aegypti* (BOSCH *et al.*, 2000) e tem sido usado com sucesso na captura de culicídeos, principalmente para *A. aegypti* (KRÖCKEL *et al.*, 2006, MACIEL-DE-FREITAS *et al.*, no prelo). Já foi demonstrado, em peridomicílio nas Fazendas Palmital e Marista (PA), que o ácido lático, colocado no interior de armadilhas “odours-baited entry traps” (OBETS), sem a presença de CO₂, age como atrativo para machos e fêmeas de *L. whitmani* (PINTO, 2001).

O município de Varzelândia (MG) possui 17.372 habitantes, onde ocorreu uma incidência de 303 casos humanos de LTA no ano de 2000, sendo 25 deles na localidade do Brejo do Mutambal. DIAS *et al.* (2003), usando armadilhas CDC, capturaram 19 espécies de flebotomíneos em um total de 6.756 indivíduos. Destes, a espécie mais representativa foi *L. longipalpis* (34,80%). No entanto *L. intermedia* (5,08%), *L. whitmani* (0,06%) e *L. migonei* (0,042%), os quais estão relacionados com a LTA, não apresentaram uma população significativa quando comparados com o vetor da *L. chagasi*, agente etiológico da LV. Isso mostra que uma área endêmica para LTA poderia vir a ser, futuramente, área de risco para LV, no que se refere ao vetor. Sendo assim, escolheu-se essa região devido ao grande número de espécies coletadas obtido durante o ano de 2003, bem como a presença da fauna diversificada de flebotomíneos (18 espécies encontradas).

A armadilha luminosa CDC modificada (PUJEDO *et al.*, 2005) foi utilizada devido ao fato de ser um produto de fabricação nacional, de menor custo e maior eficiência na captura de flebotomíneos.

Até o momento o número de pesquisas na área de ecologia química, referente a cairomônios atrativos para flebotomíneos merece atenção. Sabe-se que a isca humana não é

aconselhável, principalmente em área endêmica de leishmaniose, porém, seu poder de atratividade é fundamental para os estudos ecológicos com flebotomíneos. Portanto, a busca de armadilhas iscadas com cairomônios seria de grande valia para o monitoramento das espécies, pois além de trazer alternativas para a substituição da isca humana, o desenvolvimento de cairomônios para armadilhas poderia fornecer subsídios para o melhor conhecimento da biologia destes insetos e futuramente subsidiar, de fato, programas efetivos de controle.

1.10 – OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia de diferentes cairomônios na atratividade para flebotomíneos, no município de Varzelândia (MG), visando aumentar a eficiência de armadilhas luminosas em campo.

1.10.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar em condições de laboratório as taxas de liberação do octenol em diferentes liberadores (polietileno, silicone e/ou vidro);
2. Avaliar a armadilha luminosa CDC modificada (modelo HP) iscada com diferentes taxas de liberação de octenol na captura de flebotomíneos;

3. Avaliar a atratividade da formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*® associada à taxa de evaporação do octenol em armadilha luminosa que estimulou maior captura de flebotomíneos;
4. Avaliar armadilhas luminosas iscadas com os compostos da formulação BG *Mesh Lure*® (ácido láctico, ácido capróico e amônia), individualmente;
5. Realizar a sexagem e identificação das espécies de flebotomíneos, atraídas nas armadilhas pelos cairomônios em campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Local de coleta: Os experimentos de campo foram realizados no município de Varzelândia, vila de Brejo do Mutambal (15°33'13" S; 44°00'18"W) situado no norte do Estado de Minas Gerais (Fig. 1). O lugarejo foi reconhecido como vila em 1990 e sua população está estimada em 2049 pessoas (www.fallingrain.com).

Essa localidade é constituída exclusivamente por residências que possuem quintal com alguma criação de animal como galinhas, cachorros, cavalos. O sistema de saneamento básico é precário e algumas casas ainda possuem fossa em seu peridomicílio. Não existe coleta de lixo no local, sendo o mesmo jogado em áreas abertas, próximas às casas ou em área de mata. A maioria dos moradores realiza agricultura de subsistência, como plantação de milho e cana-de-açúcar. O distrito é circundado por uma formação rochosa de calcário e as casas foram construídas ao redor destas formações as quais estão em contato direto com o peridomicílio. O lugarejo possui iluminação pública pouco eficaz e algumas casas não possuem abastecimento de energia elétrica.

Na Região Norte de Minas Gerais, o clima é quente com médias mensais sempre superiores a 20°C. As chuvas são escassas e concentradas no verão, com marcante variabilidade interanual. Outra característica é a forte insolação que acontece durante o verão para o referido Estado. A deficiência de água no solo, resultante da conjunção dessas condições, torna indispensável o uso de irrigação para garantir a produtividade agrícola e agropastoril. Em decorrência do solo, das condições topográficas e climáticas, a vegetação natural é constituída pelo cerrado e cerradão, pelas matas secas, pelas belas veredas onde se destaca o buriti e pela caatinga (www.januar.com.br).



Figura 1: Vista parcial do distrito de Brejo do Mutambal ($15^{\circ}33'13$ S; $44^{\circ}00'18$ W) situado no norte do Estado de Minas Gerais, Brasil.

Neste trabalho, os experimentos foram realizados nos meses de abril e maio de 2005, sendo estas épocas coincidentes com altos picos populacionais de flebotomíneos (AGUIAR *et al.*, 1996; MARCONDES *et al.*, 2001; REBÊLO, 2001).

2.2 - Armadilha utilizada para a captura dos espécimes: A armadilha CDC modificada (modelo HP) (PUGEDO *et al.*, 2005), se caracteriza por um corpo em formato cilíndrico, construído em PVC de cor branca, em cuja porção superior está situada uma tela protetora, projetada em forma convexa. A fonte de luz é constituída por uma lâmpada incandescente do tipo tubular, de baixo consumo, que emite radiação luminosa de alta intensidade. O posicionamento da lâmpada proporciona cobertura extensa e eficiente da área de captura, atraindo os insetos presentes nos arredores.

A fonte de energia, composta por quatro pilhas de 1,5 volts (tipo D), alimenta um micromotor de baixa rotação (1.400 rpm) que, por sua vez, aciona a hélice. A conformação estreitada das pás na área central da hélice, em relação às bordas, acionada à rotação adequada do motor, forma um sistema de exaustão de ar, capaz de succionar os insetos vivos e íntegros, aprisionando-os dentro de um saco coletor, que à noite destaca-se como um corpo luminoso. O corpo da máquina, na sua face interna, possui um parafuso central que serve de suporte para o assentamento do prato de proteção, o qual é feito com ilhós de aço cromado.

Nos braços da barra de suporte existem duas caixas para suporte das pilhas, montadas com uma calha de PVC, que funciona como isolante (PUGEDO *et al.*, 2005). Os insetos, atraídos pela luz, são aspirados pela movimentação da hélice e ficam retidos no saco coletor (Fig. 2).

2.3 – Metodologia de instalação e recolhimento das armadilhas: As armadilhas foram penduradas em árvores com sua parte mais baixa do corpo de PVC a aproximadamente



Figura 2: Armadilha luminosa CDC modificada (modelo HP) (Pugedo *et al.*, 2005).

1,50 m do solo (MARCONDES *et al.*, 2001, REBÊLEO, 2001), sendo instaladas às 18:00 h e recolhidas às 6:00 h do dia seguinte (Fig. 3). Cada armadilha recebeu uma substância como isca e um número que a identificava, de acordo com o composto avaliado. A forma de disposição das armadilhas foi definida conforme a metodologia abaixo (item 2.7.1) Durante os dias de captura foram medidas a temperatura e a umidade relativa do ar, utilizando-se de um termohigrômetro para que se pudessem inferir as influências desses fatores ambientais no número de flebotomíneos e das espécies coletadas. Suas médias, mínima e máxima foram medidas durante cada uma das noites de captura dos insetos.

2.4 - Cairomônios: Para os testes em campo, quatro compostos foram avaliados como candidatos a atraentes para flebotomíneos utilizando armadilhas luminosas. Três destes fazem parte de uma mistura já avaliada para culicídeos composta por ácido lático + ácido capróico + amônia (BOSCH *et al.*, 2000). Esta formulação denominada BG Mesh Lure® apresenta as substâncias em mangueiras de polietileno, com taxas de evaporação controlada, envoltas por uma malha porosa (Fig. 4).

O outro candidato a cairomônio utilizado como isca na atratividade dos flebotomíneos em campo foi o octenol (1-octen-3-ol) (98% de pureza e 0,83mg/ml de densidade, Aldrich Chemical Company, SIGMA-ALDRICH, Estocolmo).



Figura 3: Foto mostrando a armadilha luminosa instalada em uma árvore, no peridomicílio.



Figura 4: Formulação de cairomônios BG Mesh Lure® (ácido láctico, ácido capróico e amônia)

2.5 - Testes preliminares em laboratório para avaliação dos compostos em campo

2.5.1 – Preparação do liberadores feitos de polímeros (sistemas) testados para avaliação das taxas de evaporação do octenol

Em capela de exaustão o caimônio octenol foi distribuído nos polímeros de polietileno e silicone. Antes da distribuição os polímeros foram pesados um a um e após a inserção do líquido, foram pesados novamente. Com o auxílio de uma máquina seladora (EVEREST® - Ind. Ferreira Fragoso LTDA. 110 w) os liberadores foram vedados e mantidos em temperatura ambiente durante todo período de observação.

Para as mangueiras tubulares de polietileno foram feitas réplicas (duas repetições) e as mesmas foram pesadas a cada três horas durante cinco dias. Foram observadas as médias de evaporação das duas repetições e as taxas médias acumulativas foram plotadas em gráficos.

Nas mangueiras de polietileno achatadas e destas contendo em seu interior, mangueiras de silicone, a cada hora de observação, durante dias consecutivos, as mesmas foram pesadas a fim de se obter a taxa de liberação do atraente. As perdas médias diárias do composto nestes sistemas foram analisadas apenas em um liberador confeccionado para cada polímero, pela diferença em ter o peso inicial e final..

Durante as horas de observação das taxas de evaporação do octenol nas mangueiras de polietileno tubulares e nas mangueiras achatadas, foram realizadas pesagens em balança analítica (Scientech, mod SP 510 D) para verificação das taxas médias de evaporação, durante cinco dias para as primeiras e de 16 dias para as segundas, as quais foram medidas fazendo-se as diferenças entre os pesos iniciais e finais dos sistemas.

Foi observado ainda para todos os sistemas se a taxa de evaporação do octenol alcançava uma liberação constante durante os dias de medições.

Qualquer mudança na superfície dos polímeros ou no cheiro emanado pelo liberador foram observadas e anotadas durante as medições das taxas de evaporação.

2.5.2 - Avaliação da taxa de liberação de octenol em sistemas de polietileno e silicone

SILVA (2003) alcançou, em laboratório, taxas de evaporação de octenol nos valores de $0,69 \pm 0,54$; $16,68 \pm 0,54$ e $36,79 \pm 1,73$ mg/h através do sistema de liberação adaptado de VAN ESSEN *et al.* (1994).

Com o objetivo de alcançar taxas próximas àquelas obtidas por SILVA (2003) foram confeccionados liberadores de polímeros de silicone e polietileno (Fig.5). Seguindo a metodologia de VAN ESSEN *et al.* (1994) foram confeccionados também liberadores de frascos de vidro para determinar as taxas de evaporação do atraente sintético octenol. Baseado nestes trabalhos foram escolhidas taxas de 0,5; 5; 15 e 30mg/h para iscar-se as armadilhas luminosas em campo na atratividade de flebotomíneos.

2.5.2.1- Liberadores de polietileno e de silicone

A) Mangueiras de polietileno tubulares de 5 cm – Fig. 5 (B)

Para esses liberadores tubulares (5 cm X 0,3 cm de diâmetro X 1 mm) foram utilizados diferentes volumes de octenol inseridos em seu interior. Por não se conhecer taxas de evaporação do composto, nestes liberadores, foram escolhidas, aleatoriamente, estes volumes de octenol nas doses de 1 μ l, 10 μ l, 50 μ l e 100 μ l.

B) Mangueiras achatadas de polietileno transparentes de 10 cm – Fig. 5 (C)

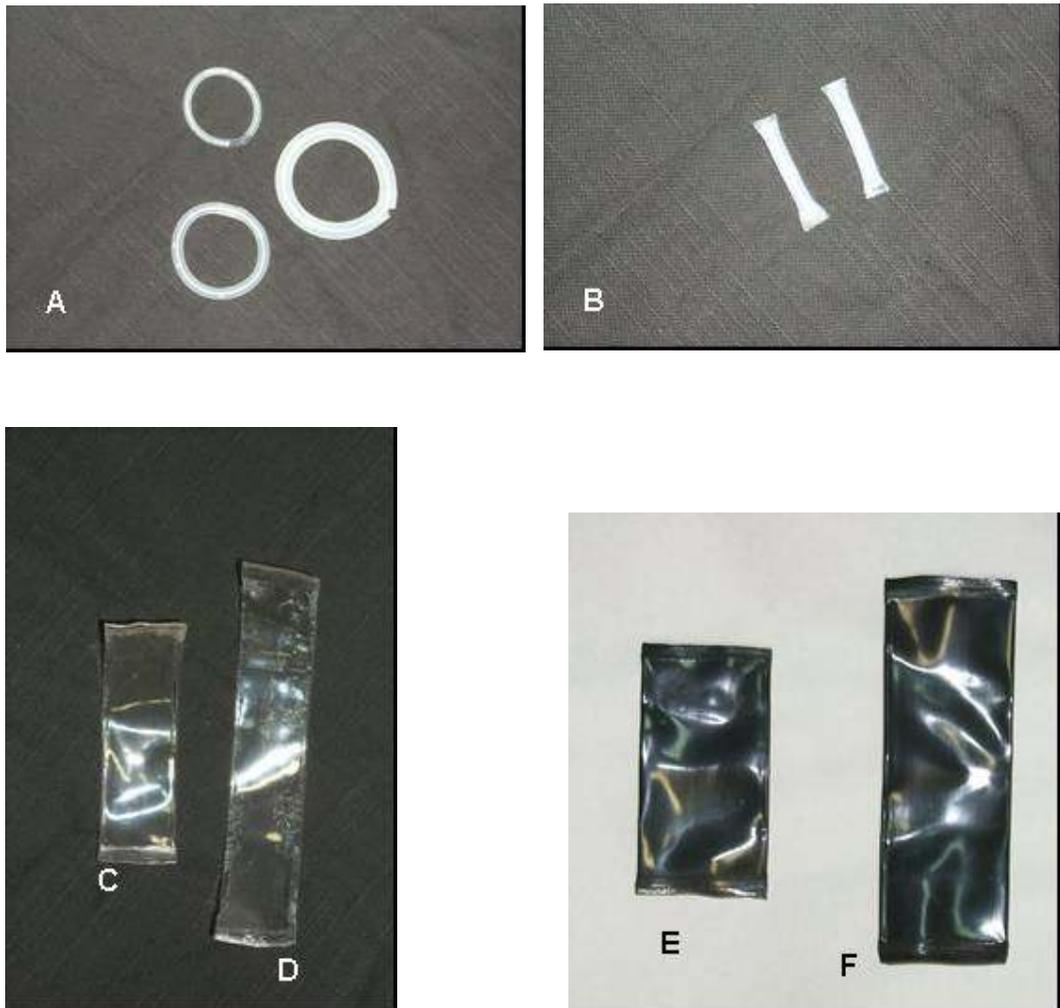


Figura 5: A – mangueiras de silicone; B – mangueiras tubulares de polietileno; C e D– mangueiras achatadas transparentes de polietileno, 10 e 15 cm; E e F– mangueiras achatadas pretas de polietileno, 10 e 15 cm.

Os liberadores confeccionados seguindo esse padrão eram de mangueiras achatadas transparentes (10 cm X 3 cm de X 0,5 mm) que tinham em seu interior volumes de 250µl, 300µl e 500µl de octenol. O aumento da área do liberador, do formado do material e dos volumes de octenol superiores àqueles das mangueiras tubulares teve como objetivo aumentar as taxas de evaporação. Como já citado para este teste de evaporação, foi realizada uma repetição por liberador e, conseqüentemente, por volume do composto.

C) Mangueira achatada de polietileno transparente 15 cm – Fig. 5 (D)

Para estes liberadores foram acrescentados em seu interior volumes de octenol de 250µl, 300µl e 500µl, como para as mangueiras de 10 cm (B). Através do aumento em 5cm no comprimento (15 cm X 3 cm X 0,5 mm), destas mangueiras foi possível avaliar, durante os 16 dias de observação através da diferença entre o peso inicial e final a cada hora, se o octenol evaporava em função da área do sistema.

D) Mangueira achatada de polietileno preta 10 cm – Fig. 5 (E)

Nestes testes foram utilizadas mangueiras de polietileno achatadas na cor preta (10 cm X 5 cm X 0,5 mm). Foi realizada apenas uma repetição, sendo a mesma preenchida com 500µl de octenol. Em comparação às mangueiras achatadas transparentes mudou-se a largura de 3 para 5 cm. Foi feita apenas uma repetição, observada através das diferenças de pesos durante 16 dias e visava-se observar se a cor do polímero influenciava (aumento ou diminuição) na taxa de evaporação do cairomônio.

E) Mangueira achatada de polietileno preta 15 cm – Fig. 5 (F)

Como descrito acima apenas um liberador foi confeccionado do mesmo material, com o mesmo volume do composto, variando-se apenas o comprimento do mesmo (15 cm X 5 cm X 0,5 mm). Fez-se a comparação entre as taxas de evaporação do octenol neste polímero quando comparado à mangueira de polietileno transparente (15cm) preenchida com 500µl e mangueira de polietileno preta (10cm), podendo-se observar assim além da influência da cor do material, comprimento e largura, respectivamente.

Utilizando-se material de polietileno transparente de 15 cm, dentro dos mesmos foram colocadas mangueiras de silicone (10cm X) e de 15 cm de comprimento 0,1 mm de diâmetro X 0,3 cm (Fig. A), ambas preenchidas com 250µl de octenol. Objetivou-se com este método manter a taxa de evaporação do octenol no interior do polímero constante.

2.5.2.2- Liberadores de vidro:

A liberação do octenol foi feita utilizando-se frascos vedados com uma tampa de borracha tendo um ou dois orifícios por onde passava um barbante (pavio), seguindo o sistema de liberação adaptado por VAN ESSEN *et al.* (1994) e modificado por SILVA (2003), a fim de se alcançar as taxas de evaporação do octenol propostas (Fig. 6). Outra forma de liberação foi obtida utilizando-se como capilares filtros de papel (Fig. 7). Para cada liberador testado foram realizadas três repetições para cada liberador confeccionado. Durante 5 dias consecutivos, a cada uma hora, os liberadores foram pesados em balança analítica para verificar as taxas médias de evaporação do octenol nos mesmos. As taxas de liberações do cairomônio foram classificadas em: (a) muito baixa; (b) baixa; (c) média e (d) alta, sendo que, a evaporação muito baixa (0,5mg/h) foi liberada por meio de um dispensador de octenol sobre patente da empresa AMBIENSIS® (Fig. 8).

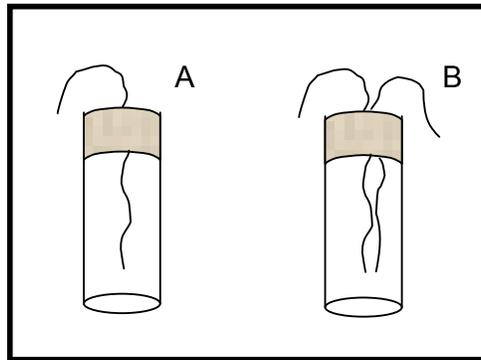


Figura 6: Sistema de liberação utilizado para octenol. Taxas de liberação: (A) média; (B) alta (adaptado por Van Essen *et al.* (1994) e modificado por Silva (2003)).

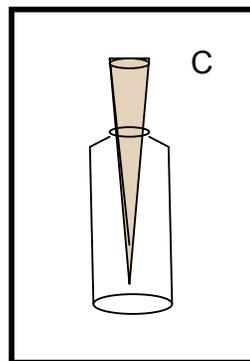


Figura 7: Modelo de liberador de vidro para liberação do octenol com taxa de evaporação baixa.



Figura 8: Sistema de liberação de octenol de 0,5 mg/h (AMBIENSIS®).

2.6 - Testes de fumaça visando-se conhecer a dispersão da pluma de odor, formada pelo BG *Mesh Lure*®, em dois tipos de liberadores iscados nas armadilhas

Para a formação e visualização da pluma foram colocados nos recipientes dois pedaços de algodão sendo um embebido com ácido clorídrico (HCl) e o outro com hidróxido de amônia (NaOH). A reação entre estas substâncias produz uma nuvem branca de fumaça possibilitando ao observador visualizar o direcionamento da mesma.

A formação da pluma de odor avaliada foi observada pra se saber como a formulação de cairomônios seria adaptada nas armadilhas luminosas. Foram então confeccionados dois tipos de suportes para acondicionamento do BG *Mesh Lure*® nos interiores dos recipientes:

(1) um pote de plástico com 7cm de altura e 11,5cm de diâmetro, denominado de liberador aberto (BG *Mesh Lure*® aberto) (Fig. 9);

(2) utilizando-se do mesmo pote plástico, com as mesmas medidas, adaptou-se a extremidade anterior de uma garrafa tipo *pet*, o qual foi denominado de liberador semi – aberto (BG *Mesh Lure*® semi-aberto). Tal adaptação conferiu ao recipiente mais 8,5 cm de altura, tendo agora para a liberação da substância um diâmetro de 2cm (Fig. 9).

Com a diminuição da abertura do pote, onde foi colocado o atraente, esperava-se diminuir a dispersão da pluma e direcioná-la de modo que esta circulasse sob o prato, não sendo a mesma succionada pelo ventilador. Estes potes foram avaliados em duas situações diferentes: próximos ao ventilador da armadilha HP e nas bordas do prato de proteção da armadilha. Avaliou-se também a pluma formada utilizando-se dois pontos laterais de liberação simultaneamente.

Foi filmada utilizando uma Filmadora Panasonic (Palmcorer – X 12) a formação da pluma de odor próxima à armadilha, em campo, utilizando-se dois recipientes de



Figura 9: Recipiente aberto (BG *Mesh Lure*[®] aberto); adaptação “pet” (BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto) e a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*[®] utilizada como isca nos liberadores.

liberação (BG *Mesh Lure*[®] aberto e BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto) os quais foram colocados em diferentes posições da armadilha. Após filmada a dispersão da fumaça produzida nestes liberadores pôde-se observar, através desta simulação, os seguintes pontos para os dois liberadores:

- a pluma se forma e é dispersa pelo vento em todas as direções;
- se a pluma é sugada para o interior da armadilha;
- entrando na armadilha, se atravessava a malha do saco coletor mantendo-se ao redor dele,
- se o liberador semi-aberto direcionada a pluma para o prato de proteção, e caso isso acontecesse, se ela circundava a parte basal do parto ou era sugada pelo ventilador.

2.7 - Experimentos de campo

2.7.1 - Dose resposta do octenol

A – Experimento 1: foram comparadas quatro taxas de evaporação do octenol, obtidas em laboratório (0,5, 5, 15 e 30 mg/h), como atraentes para flebotomíneos nas armadilhas tendo somente fonte de luz. Como grupo controle foi utilizada a armadilha tendo como única fonte de atratividade a luz. Os cinco tratamentos foram expostos seguindo delineamento dos Quadrados Latinos 5X5, com 5 repetições. Foram totalizadas cinco noites, com cinco repetições por taxa de evaporação do octenol/noite e, conseqüentemente, 25 armadilhas/noite (Quadro 1, 2, 3, 4 e 5). Duas áreas distintas foram escolhidas para a colocação das armadilhas, uma área de mata e outra de peridomicílio (quintais das residências).

Os liberadores foram colocados nas armadilhas por meio de suportes confeccionados com Durepox[®]. Estes foram dispostos lateralmente nas armadilhas como mostrados nas Fig. 10.

Quadros 1, 2, 3, 4 e 5: Disposição de delineamento do Quadrado Latino 5x5 das armadilhas luminosas controle (Contrl.) e iscadas com taxas de evaporação do octenol de 0,5 mg/h (T1), 5 mg/h (T2), 15 mg/h (T3) e 30 mg/h (T4) para captura de flebotomíneos durante o experimento 1.

Primeira Noite

T1	T2	T3	T4	Contr.
Contr.	T1	T2	T3	T4
T4	Contr.	T1	T2	T3
T3	T4	Contr.	T1	T2
T2	T3	T4	Contr.	T1

Segunda Noite

Contr.	T1	T2	T3	T4
T4	Contr.	T1	T2	T3
T3	T4	Contr.	T1	T2
T2	T3	T4	Contr.	T1
T1	T2	T3	T4	Contr.

Terceira Noite

T4	Contr.	T1	T2	T3
T3	T4	Contr.	T1	T2
T2	T3	T4	Contr.	T1
T1	T2	T3	T4	Contr.
Contr.	T1	T2	T3	T4

Quarta Noite

T3	T4	Contr.	T1	T2
T2	T3	T4	Contr.	T1
T1	T2	T3	T4	Contr.
Contr.	T1	T2	T3	T4
T4	Contr.	T1	T2	T3

Quinta Noite

T2	T3	T4	Contr.	T1
T1	T2	T3	T4	Contr.
Contr.	T1	T2	T3	T4
T4	Contr.	T1	T2	T3
T3	T4	Contr.	T1	T2

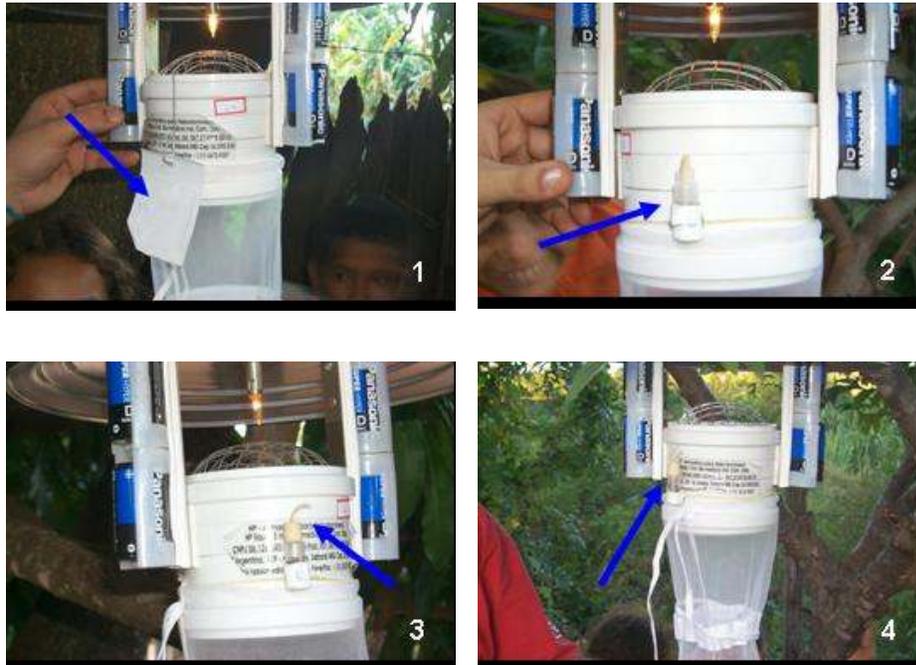


Figura 10: Disposição dos liberadores de octenol nas armadilhas luminosas CDC: 1) liberadores de 0,5 mg/h; 2) liberadores de vidro com papel de filtro de 5 mg/h; 3) liberadores de 15 mg/h com um pavio; 4) liberadores de 30 mg/h com dois pavios .

B – Experimento 2: neste experimento, a formulação comercial de cairomônios (BG *Mesh Lure*[®]) foi avaliada em diferentes liberadores (aberto e semi-aberto), sozinha (Fig. 11) e associada à taxa de octenol que apresentou maior captura de flebotomíneos em números absolutos. Todos esses tratamentos foram avaliados na armadilha luminosa HP e seguiram o mesmo delineamento experimental detalhado no experimento 1.

Como no experimento 1 as armadilhas foram instaladas em área de mata e peridomicílio. Durante a execução deste experimento, na terceira noite de captura as armadilhas instaladas em área de mata foram avariadas. As mesmas ou estavam sem as pilhas ou sem a fonte luminosa. Portanto só foi possível avaliar a resposta de flebotomíneos das armadilhas controle, das armadilhas BG *Mesh Lure*[®] e destas em associação com o octenol em área de mata, totalizando assim três repetições. As armadilhas foram iscadas da seguinte forma:

Tratamento 1: Liberador aberto com a formulação de cairomônios;

Tratamento 2: Liberador aberto com a formulação de cairomônios + melhor taxa de evaporação do octenol (5 mg/h – casas);

Tratamento 3: Liberador semi-aberto com a formulação de cairomônios;

Tratamento 4: Liberador semi-aberto com a formulação de cairomônios + melhor taxa de evaporação do octenol (5 mg/h – casas);

Tratamento Controle: sem atraentes.



Figura 11: Recipientes aberto e semi-aberto contendo a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*[®].

C - Experimento 3: cada substância do BG *Mesh Lure*[®], foi avaliada separadamente em armadilha HP com luz. (Fig. 12 e Fig. 13). Utilizou-se neste experimento o liberador de BG *Mesh Lure*[®] (aberto ou semi-aberto) que obteve maior captura no experimento 2 assim como se o atraente octenol (5mg/h) potencializava a captura de flebotomíneos pelo BG *Mesh Lure*[®] para os dois liberadores testados.

As armadilhas iscadas com os atraentes foram expostas seguindo delineamento detalhado no experimento 1 (Quadro 6). Todas as 25 armadilhas foram instaladas em peridomicílios, uma vez que detectado os problemas ocorridos no experimento precedente não optou-se por instalar as armadilhas em área de mata.

Quadro 6: Delineamento do Quadrado Latino das armadilhas luminosas controle e iscadas com ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*[®] para captura de flebotomíneos durante o Experimento 3.

Tratamento	Luz	Ácido láctico	Ácido capróico	Amônia	BG
1	X				
2	X	X			
3	X		X		
4	X			X	
5	X				X



Figura 12: Formulação de cairomônios com seus componentes separados para avaliação nos liberadores de pote aberto e semi-aberto.

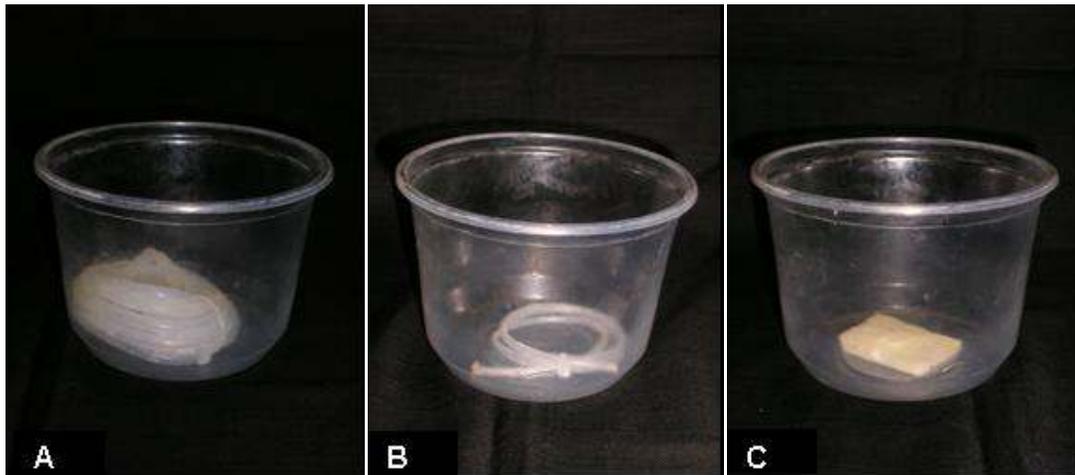


Figura 13: Componentes da formulação de cairomônios BG Mesh Lure® individualizados em liberadores abertos: A) mangueira contendo ácido láctico; B) mangueira contendo ácido capróico; C) “pastilha porosa” contendo amônia.

2.8 – Coleta e acondicionamento dos flebotomíneos

Os flebotomíneos capturados, pelas armadilhas em campo foram transferidos, através de coleta manual, utilizando pinças e lupa de mão para envelopes entomológicos (Fig. 14). Estes foram etiquetados com o número da armadilha noite da coleta e números de indivíduos capturados

Após as cinco noites de coleta os mesmos foram levados para o Laboratório de Culicídeos – ICB/UFMG para triagem utilizando estereomicroscópio e acondicionados em tubos de ensaio em álcool 70%. Os flebotomíneos antes de serem montados em lâmina foram preparados de acordo com as técnicas padronizadas no Laboratório de Leishmanioses do CPqRR/FIOCRUZ - BH. Para essa montagem foi feita a sexagem (separação por sexo) dos insetos, uma vez que a preparação de machos e fêmeas é diferente.

2.9 – Técnicas de preparação, montagem e identificação dos exemplares capturados:

A preparação dos flebotomíneos capturados pode ser vista no protocolo descrito no Quadro 7.

O material preparado foi montado utilizando-se Bálsamo do Canadá para os machos e líquido de Berlese para as fêmeas. A utilização do Bálsamo (meio oleoso) se justifica pela durabilidade e pelo fato de que a identificação dos machos ser feita externamente e, portanto a maior refração do meio não interfere na identificação das espécies. Enquanto o líquido de Berlese (meio aquoso), possui menor refração e, portanto possibilita a visualização das estruturas internas com nitidez, que é imprescindível para a identificação das fêmeas.



Figura 14: Triagem dos flebotomíneos em campo para acondicionamento em envelopes entomológicos.

Quadro 7: Protocolo para preparação e montagem de machos e fêmeas de flebotomíneos.

MACHOS		FÊMEAS	
Potassa 10%	24 horas	Potassa 10%	3 horas
Ácido acético 10%	20 minutos	Ácido acético 10%	20 minutos
Água destilada	15 minutos	Água destilada	15 minutos
Água destilada	15 minutos	Água destilada	15 minutos
Água destilada	15 minutos	Água destilada	15 minutos
Álcool 70%	15 minutos	Lactofenol	24 horas
Álcool 90%	15 minutos	-	
Álcool absoluto	15 minutos	-	
Creosoto de Faia	24 horas	-	

Os flebotomíneos capturados foram identificados através do uso de descrições específicas, chaves taxonômicas e comparações com exemplares de Coleção de Referência Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou / Fundação Instituto Oswaldo Cruz (LaLei – CPqRR/FIOCRUZ) em Belo Horizonte (MG). A classificação adotada foi proposta por YOUNG & DUNCAN (1994). Parte do material coletado não nos permitiu a identificação específica devido a não integridade do material, sendo então identificado apenas em nível genérico.

2.10 – Análise estatística

O número total de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, coletado pelas armadilhas nos três experimentos de campo em Brejo do Mutambal, não apresentou um padrão de distribuição normal, portanto foi utilizado o teste não-paramétrico de Kuskal-Wallis para comparação entre todas as armadilhas trabalhadas de cada experimento. No experimento 1, o número total de capturas de cada biota (área de mata e peridomicílio) foi comparado pelo do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

A Média de Williams foi utilizada para apresentação dos dados a fim de se uniformizar a grande variação entre as capturas das espécies mais representativas capturadas nas armadilhas luminosas no decorrer das noites trabalhadas de cada experimento. Este valor é o antilogaritmo (-1) da média obtida através da transformação dos números capturados em $\log(x+1)$ (Williams, 1937). Através da média de captura das espécies mais abundantes foi realizada análise estatística para se observar se havia diferença entre a captura de machos e fêmeas nas armadilhas. Todos os cálculos foram realizados no pacote estatístico MINITAB[®] Versão 14 for Windows.

3. RESULTADOS

3 – RESULTADOS

3.1 - Testes preliminares em laboratório para avaliação do composto octenol em campo.

5.1.1 - Avaliação do recipiente e da taxa de liberação de octenol:

A taxa acumulativa (mg/dia), a perda média (mg/h) e o tempo de evaporação constante (dias) dos sistemas confeccionados para se avaliar a evaporação do octenol em polímeros de polietileno e destes associados com polímeros de silicone, podem ser observadas na Tabela 1.

3.1.2 - Liberadores testados:

A) Mangueiras de polietileno tubulares de 5 cm

Foi observado, nestes polímeros, que a taxa de evaporação do octenol é diretamente proporcional ao volume do composto acrescentado, ou seja, quanto maior o volume, maior a taxa de evaporação por hora. Para os liberadores preenchidos com 0,001 ml de octenol a perda média obtida foi de 0,02 mg/h, sendo que a taxa acumulativa foi de 0,58 mg/dia, embora somente a partir do terceiro dia o composto começou a ser liberado deste sistema (Fig. 15). Quando foi aumentado o volume de octenol no mesmo polímero, para 0,01 ml, a perda média foi de 0,05 mg/h e a taxa acumulativa aumentou para 1,16 mg/dia. Diferentemente do liberador com menor volume a evaporação do composto foi observada a partir do segundo dia (Fig. 16). Com o volume de 0,05 ml a perda média de evaporação do octenol foi de 0,35 mg/h com uma taxa acumulativa de 8,42 mg/dia. Durante as nove horas iniciais o octenol não evaporou, para este volume, sendo que a partir deste horário a evaporação foi quantificada já no primeiro dia de observação (Fig. 17). Quando duplicado o volume de 0,05 para 0,1 ml, a perda média do composto passa para 0,77 mg/h com uma taxa acumulativa de 18,37 mg/dia (Fig. 18)

Tabela 1: Polímeros utilizados e suas taxas de evaporação do octenol.

Liberadores	Dimensões (Comprimento X largura X espessura)	Volume colocado no liberador (ml)	Taxa acumulativa (mg/dia)	Perda média de octenol (mg/h)	Tempo para evaporação constante (dias)
Mangueiras tubulares de polietileno	5cm X 0,5mm de espessura	0,001	0,58	0,02	N.O.
		0,01	1,16	0,05	N.O.
		0,05	8,42	0,35	N.O.
		0,1	18,37	0,77	N.O.
Mangueiras achatadas de polietileno (transparentes)	10cm X 3cm X 0,5mm	0,25	11,21	0,47	10
		0,3	12,18	0,51	10
		0,5	17,22	0,72	10
	15cm X 3cm X 0,5mm	0,25	11,72	0,49	10
		0,3	14,34	0,60	10
		0,5	21,6	0,90	10
Mangueiras achatadas de polietileno (pretas)	10cm X 5cm X 0,5mm	0,5	22,98	0,96	7
	15cm X 5cm X 0,5mm	0,5	23,98	1,00	7
Mangueiras tubulares de silicone*	10cm X 0,3cm X 0,1mm	0,25	10,68	0,45	N.A.
	15cm X 0,3cm X 0,1mm	0,25	10,56	0,44	N.A.

*: As mangueiras tubulares de silicone foram colocadas no interior das mangueiras achatadas pretas de 15cm

N.O.: Não Observado

N.A.: Não Alcançado

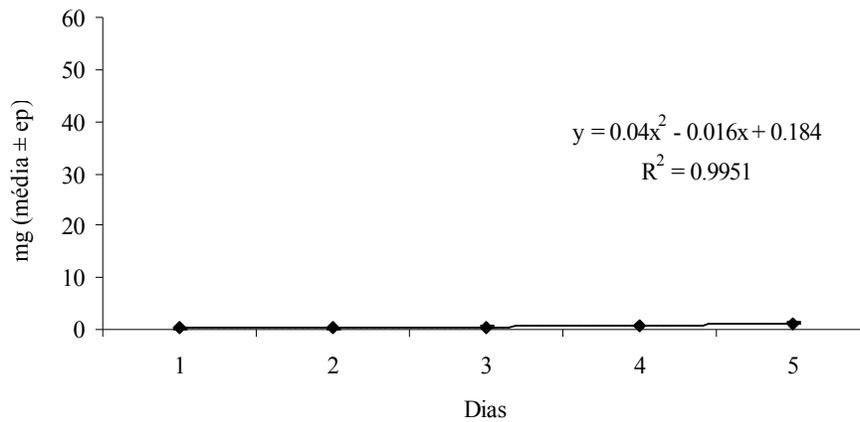


Figura 15: Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,001 ml de octenol no período de cinco dias.

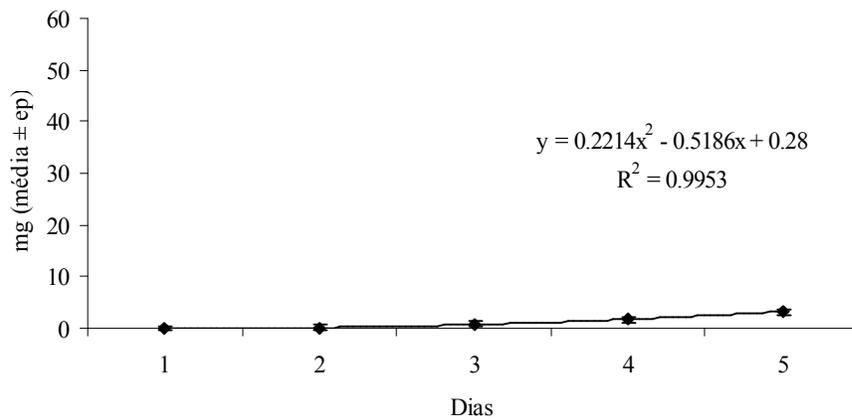


Figura 16: Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,01 ml de octenol no período de cinco dias.

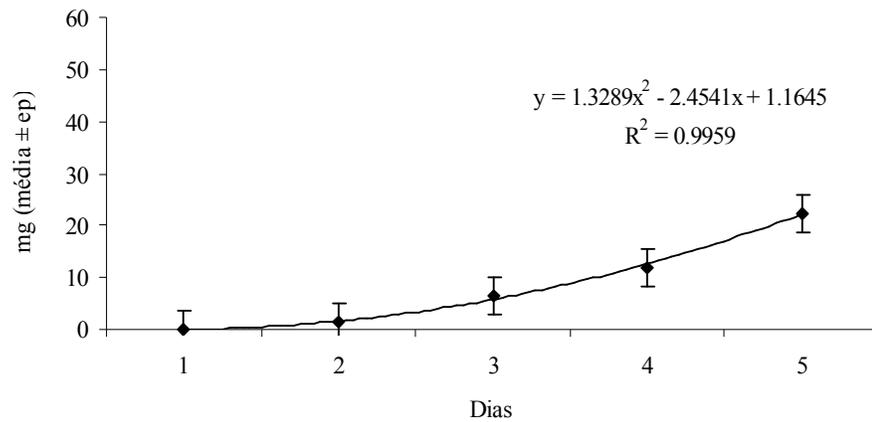


Figura 17: Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5 cm) preenchidas com 0,05 ml de octenol no período de cinco dias.

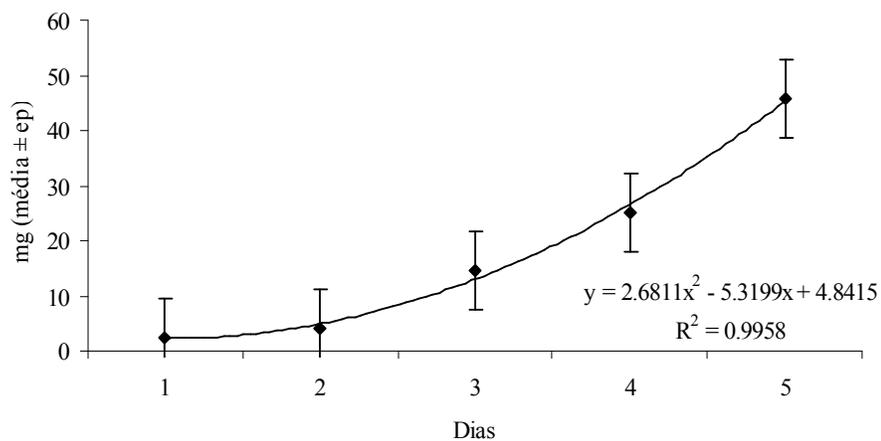


Figura 18: Taxa acumulativa de evaporação do octenol em liberadores de polietileno (5,0 cm) preenchidas com 0,1 ml de octenol no período de cinco dias.

Nas três horas iniciais a taxa de evaporação manteve-se constante (2,2 mg), como aconteceu nas nove horas iniciais do liberador com 0,5 ml, onde não foi observada evaporação do octenol. Comparando-se os sistemas com estes volumes de 0,05 e 0,1ml pôde ser observada uma duplicação também nas perdas média e nas taxas acumulativas do octenol (Fig. 19).

Não foi observada para, os liberadores de mangueiras tubulares, taxa constante de liberação nos sistemas em decorrência dos poucos dias de observação de taxa de evaporação.

Dentro do proposto para liberação do octenol (0,5, 5, 15 e 30 mg/h) somente a menor taxa foi alcançada para os liberadores tubulares com maior volume de octenol (0,1ml). Embora tenha se conseguido obter esta menor taxa de evaporação proposta (aproximadamente 0,5 mg/h), a evaporação do cairomônios deveria se manter constante, o que não aconteceu durante os dias de observação e nem em um mínimo de 12 horas, tempo em que as armadilhas permaneceriam instaladas em campo para captura dos flebotomíneos, com isso o sistema não foi usado nos experimentos

B) Mangueiras achatadas de polietileno transparentes de 10 cm

As perdas médias do octenol nas observações foram obtidas através da diferença entre os pesos iniciais e finais dos liberadores. Foi observado que, com o volume inicial de 0,25 ml de octenol, após dois dias o peso médio do liberador aumentou de 23,8 mg para 37,3 mg. A partir do quinto dia observou-se uma diminuição do peso médio dos liberadores sendo que, a perda média do atraente passou para 13,8 mg/dia, sendo ao final de 16 dias a taxa é de 0,2 mg. A perda total do atraente foi de 179,4 mg para os 16 dias de observação, sendo que este sistema liberou por dia 11,21 mg do atraente e em média 0,47 mg/h (Fig. 20).

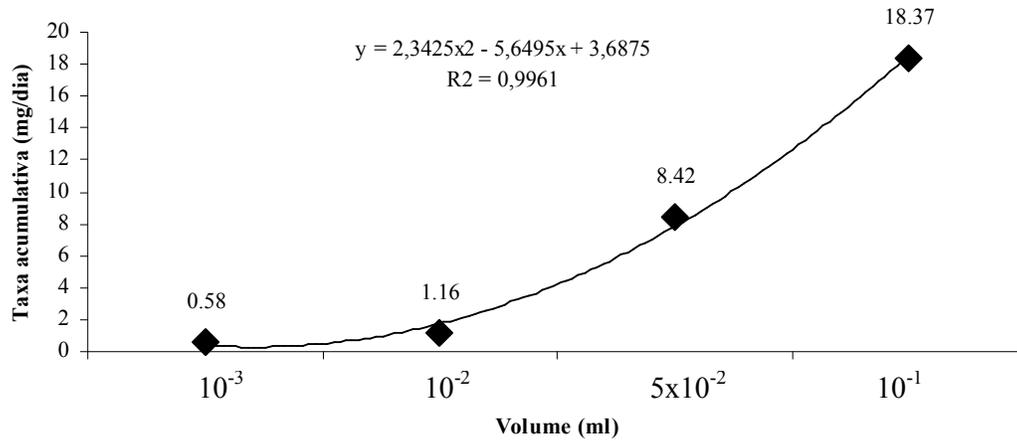


Figura 19: Taxa acumulativa de evaporação do octenol para os diferentes volumes acrescentados no interior das mangueiras de polietileno tubulares de 5 cm.

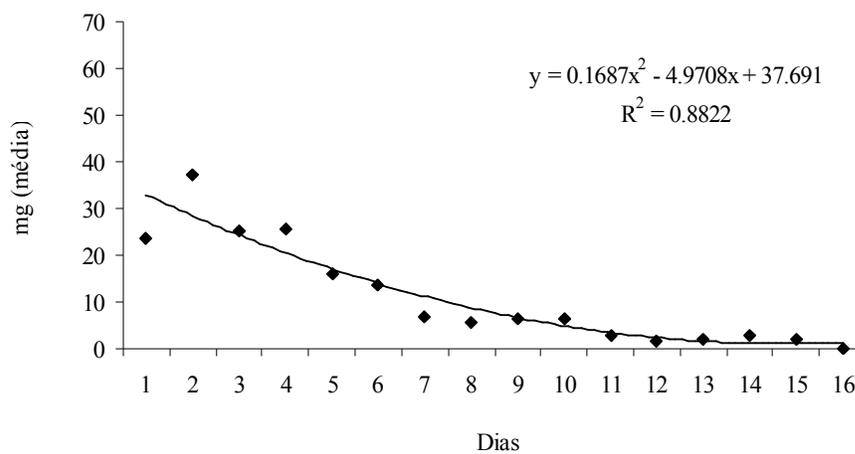


Figura 20: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 250µl de octenol (10 x 3 cm) no período de 16 dias.

Um comportamento similar de perda média de evaporação diária do atraente também foi observado para os outros liberadores que tinham em seu interior 300 μ l (Fig. 21) e 500 μ l (Fig. 22) do atraente, embora a evaporação seja de 12,18 mg/dia (0,51mg/h) e 17,22 mg/dia (0,72mg/h), respectivamente.

C) Mangueiras achatadas de polietileno transparentes de 15 cm

Como ocorreu nas mangueiras transparentes de 10cm, nas mangueiras de 15 cm, quanto maior o volume de octenol, maior a sua taxa de evaporação média (0,5ml > 0,3ml > 0,25ml). Contudo a semelhança entre a taxa de evaporação média do atraente nos dois sistemas permitiu demonstrar que esta variável é dependente do comprimento das mangueiras e não do volume do octenol acrescentado inicialmente. As taxas acumulativas e perdas médias foram de 11,7 mg/dia (0,49mg/h) (Fig. 23), de 14,34 mg/dia (0,60mg/h) (Fig. 24) e de 21,6 mg/dia (0,90mg/h) (Fig. 25) e o tempo para que se atingisse taxa de evaporação constante de atraente no sistema foi de sete dias. Como aconteceu em um sistema de liberação descrito em A (mangueiras tubulares com 0,1 ml de octenol), os liberadores confeccionados e descritos em B e C também permitiram o alcance das taxas de liberação propostas de 0,5 mg/h para se iscar as armadilhas em campo. Nota-se que a perda média do atraente para as mangueiras achatadas de 10 cm foi de $0,5 \pm 0,2$ mg/h e para as mangueiras achatadas de 15 cm foi de $0,6 \pm 0,3$ mg/h, dependendo do volume de octenol acrescentado nas mesmas.

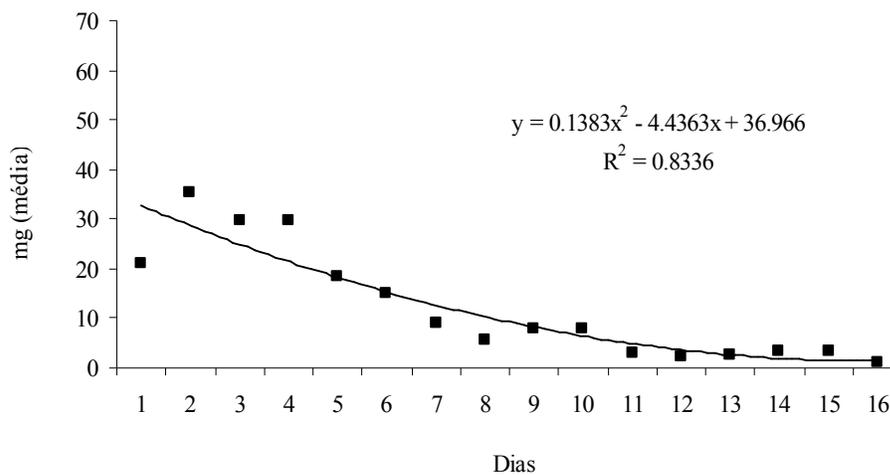


Figura 21: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 300µl de octenol (10 x 3 cm) no período de 16 dias.

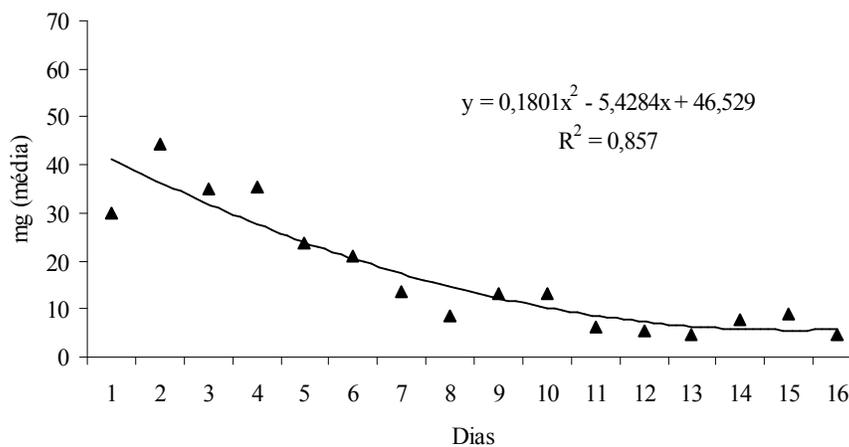


Figura 22: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 500µl de octenol (10 x 3 cm) no período de 16 dias.

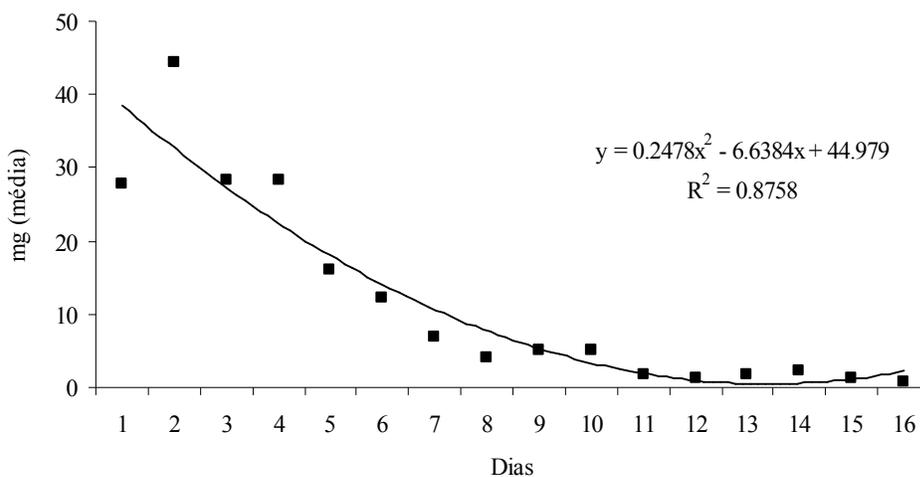


Figura 23: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 250µl de octenol (15 x 3 cm) no período de 16 dias.

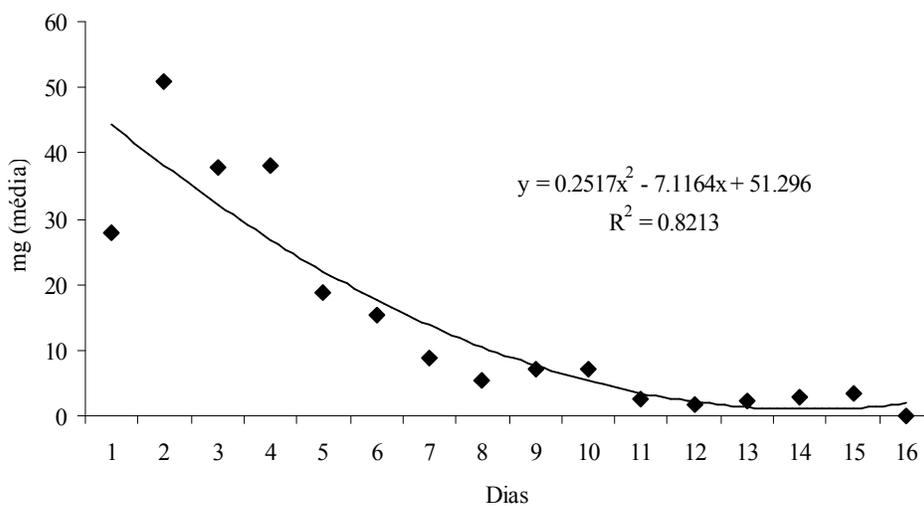


Figura 24: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 300µl de octenol (15 x 3 cm) no período de 16 dias.

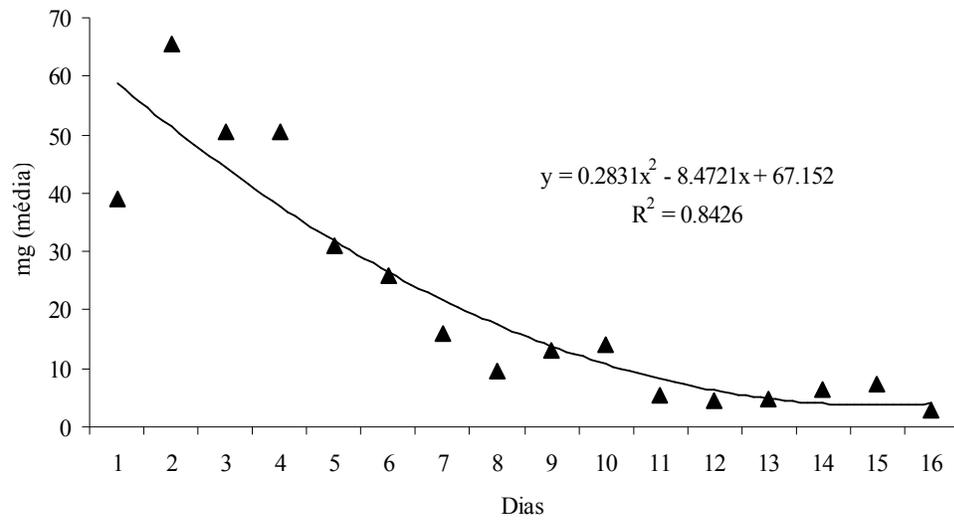


Figura 25: Perda média do octenol em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas e transparentes preenchidas com 500 μ l de octenol (15 x 3 cm) no período de 16 dias.

D) Mangueiras achatadas de polietileno pretas de 10 cm

Levando em conta a maior taxa obtida de acordo com o volume de octenol nos liberadores B e C, foram confeccionadas mangueiras de polietileno pretas a fim de se avaliar a interferência da cor do polímero, da largura e conseqüentemente da área de evaporação do octenol nas mesmas. Quando comparadas estas variáveis, observou-se que estes liberadores apresentaram uma evaporação de 22,98 mg/dia, taxa superior ao liberador B.

A taxa de evaporação média foi de 0,96 mg/dia semelhante às mangueiras achatadas transparentes preenchidas com 0,5 ml (0,9 mg/h), demonstrando que a cor apresentou pouca importância na taxa de evaporação. O sistema atingiu taxas constantes de evaporação após sete dias de observação (Fig. 26).

E) Mangueiras achatadas de polietileno pretas de 15 cm

Como descrito em D, o sistema também mantém uma constante de evaporação após sete dias. Com o aumento do comprimento da mangueira a perda média de evaporação foi de 23,9 mg/dia, com uma média de 1,0 mg/h (Fig. 27). Somente para este sistema foi observada uma perda total do cairomônio octenol ao final de 16 dias. Nesse período, aproximadamente após o décimo dia, ocorreu uma mudança no odor atraente.

F) Mangueiras de polietileno achatadas (pretas) de 15 cm + mangueiras de silicone (10 e 15 cm).

Como mostrados nas Figuras 28 e 29 foi medida a taxa de evaporação de mangueiras de polietileno de 15 cm tendo em seu interior, depois de vedadas mangueiras de silicone, de 10 e 15 cm com 0,25ml cada. Para a primeira (10 cm) foi obtida uma perda média de octenol de 0,45

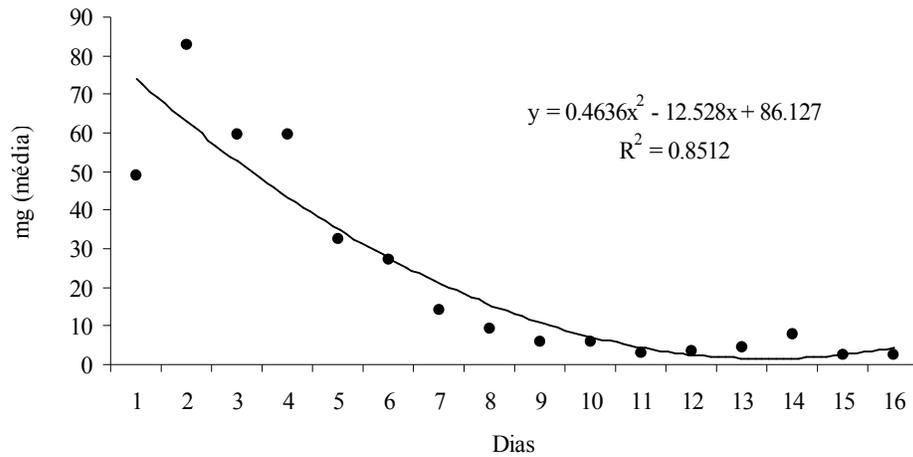


Figura 26: Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas pretas (10 x 5 cm) preenchidas com 500 μ l de octenol no período de 16 dias.

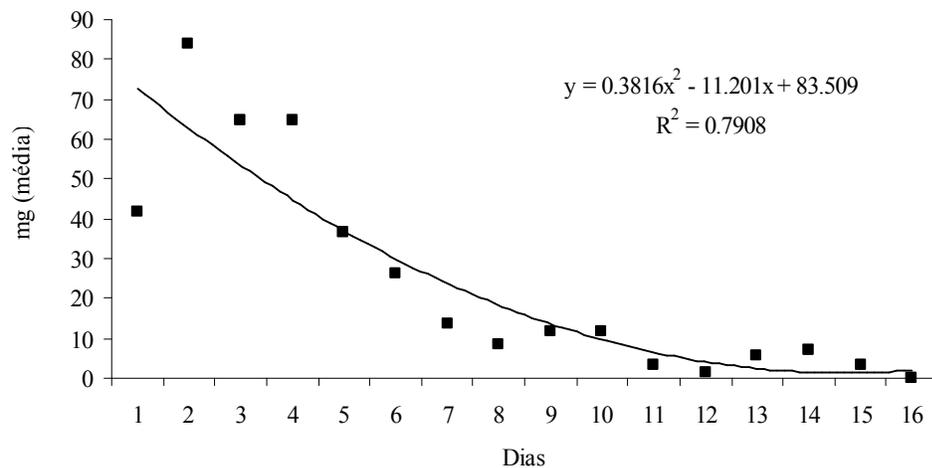


Figura 27: Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas pretas (15 x 5 cm) preenchidas com 500 μ l de octenol no período de 16 dias.

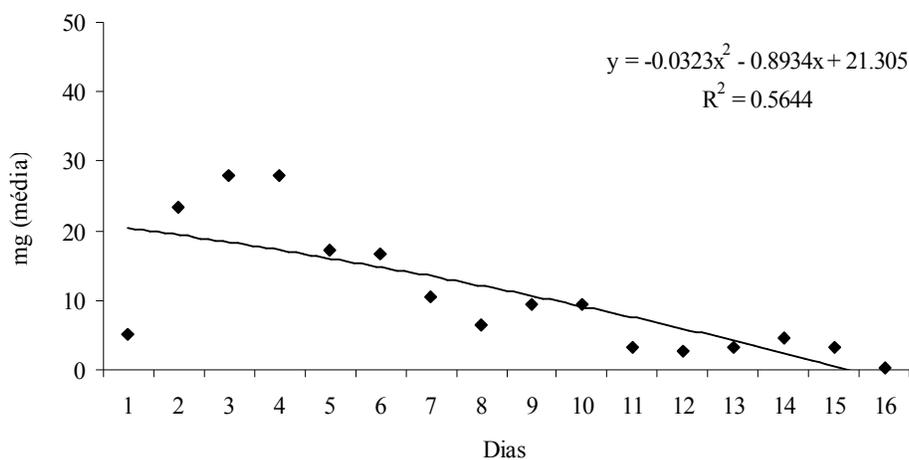


Figura 28: Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas transparentes contendo no interior mangueiras de silicone de 10 cm no período de 16 dias.

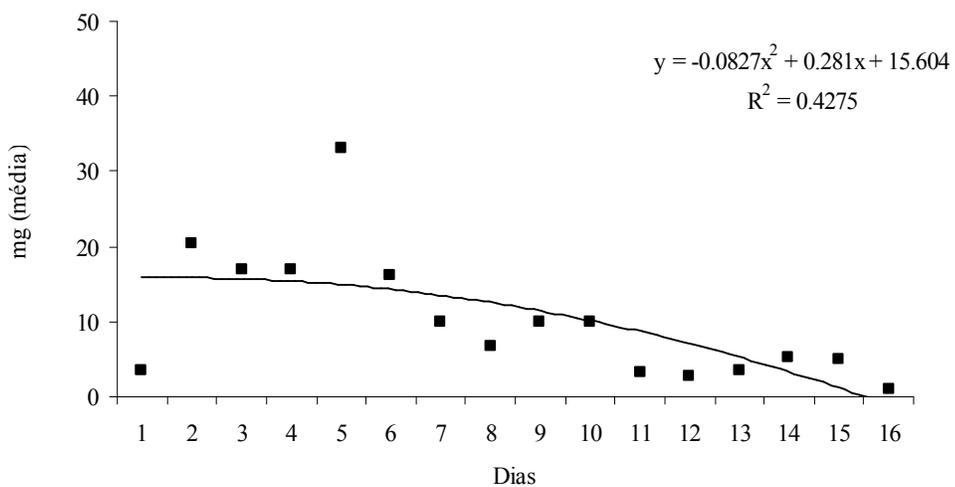


Figura 29: Perda média do octenol em função do tempo em liberadores de mangueiras de polietileno achatadas transparentes contendo no interior mangueiras de silicone de 15 cm no período de 16 dias.

mg/h e para a segunda (15 cm) 0,44 mg/h, sendo que as duas taxas medidas correspondem à metade daquela observada no liberador E.

3.1.3 - Liberadores de vidro:

a) liberador com papel de filtro: utilizando-se deste sistema obteve-se uma perda média de octenol de $4,6 \pm 0,3$ mg/h durante as 12 horas iniciais com uma temperatura média de $20 \pm 1,5^\circ\text{C}$ (Fig. 30). O octenol evaporava por capilaridade por meio de um retângulo confeccionado com papel de filtro (3,5 X 4 cm), estando 0,5 cm em contato com o ar. A taxa acumulativa de evaporação foi de 57,17 mg para as 12 horas iniciais (Fig. 31).

b) liberador com um pavio: para este sistema foi observada uma perda média de octenol de $13,03 \pm 1,8$ mg/h durante 12 horas, após as 24 horas iniciais com uma média de temperatura de $26 \pm 3^\circ\text{C}$ (Fig. 32). A taxa acumulativa foi de 263,13 mg após um dia de observação.(Fig. 33).

c) liberador com dois pavios: quando avaliada a evaporação do octenol com dois pavios a perda média de octenol foi de $22,7 \pm 3,3$ mg/h a uma temperatura média de $26 \pm 3^\circ\text{C}$ (Fig. 34). A taxa acumulativa foi de 457,93 mg/h após um dia de observação (Fig. 35).

Alguns liberadores, fabricados pela empresa AMBIENSIS[®], e testados obtiveram a taxa de evaporação de 0,5mg/h (Dr. Owen Jones, comunicação pessoal). Este liberador é um sachê que contém em seu interior o atraente envolto por um lado de papel poroso e por outro um papel laminado, o qual mantém esta taxa de evaporação constante. Durante cinco dias, a taxa de evaporação desse liberador foi avaliada à temperatura ambiente para confirmação da mesma. Portanto optou-se por iscar as armadilhas com este liberador. Embora não se tenha conseguido alcançar as maiores taxas de evaporação propostas no projeto os liberadores de vidro com papel de filtro, com um pavio e com dois pavios, sendo estas de $4,6 \pm 0,3$ mg/h,

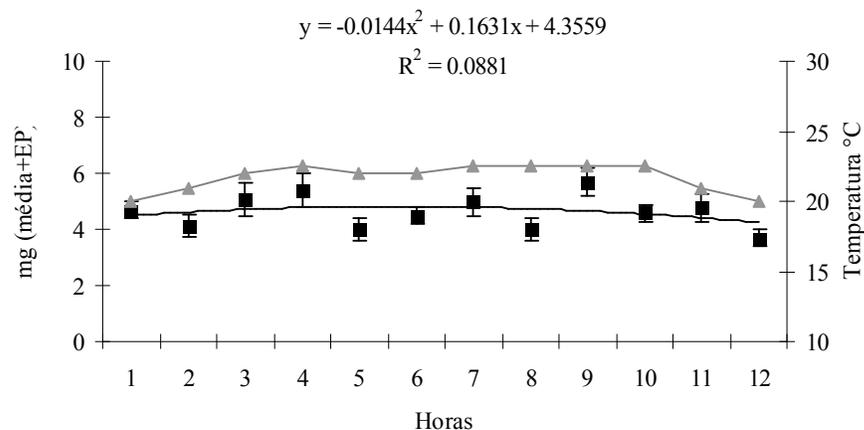


Figura 30: Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com papel de filtro (■ octenol; ▲ temperatura) no período 12 horas.

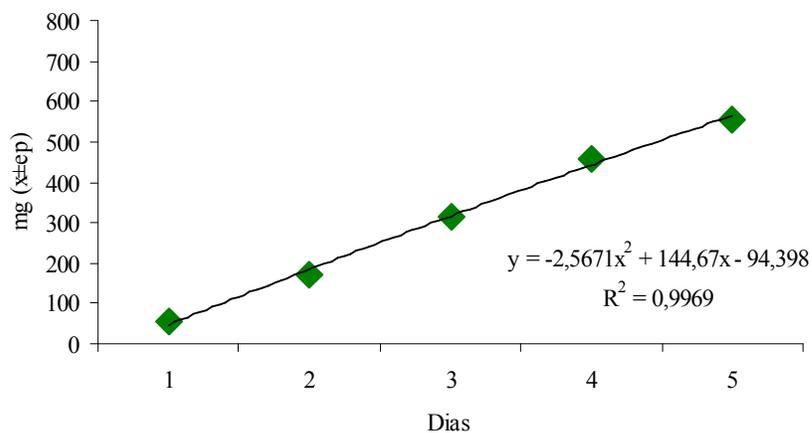


Figura 31: Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores confeccionados com papel de filtro no período de cinco dias.

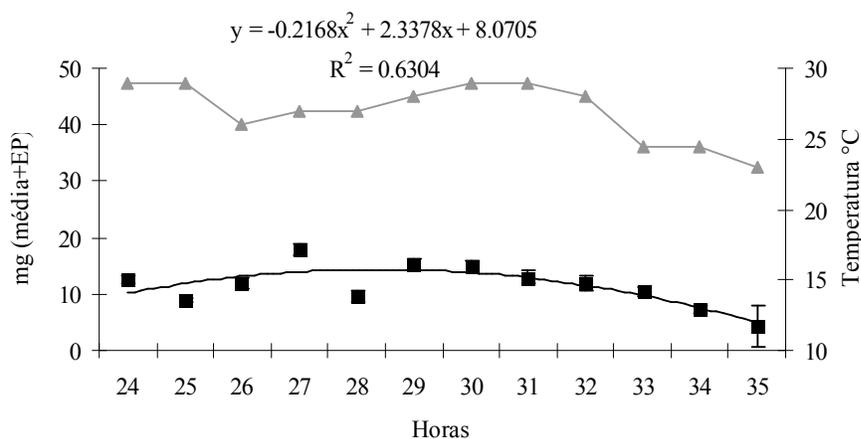


Figura 32: Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com um pavio (■ octenol; ▲ temperatura) no período 12 horas.

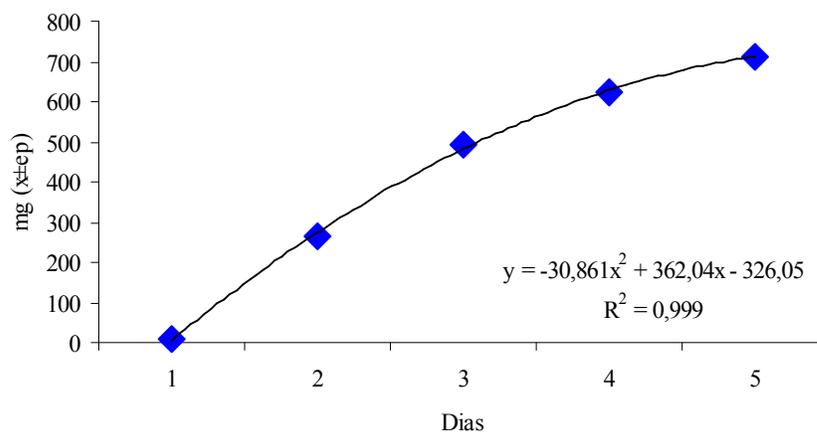


Figura 33: Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores com um pavio no período de cinco dias.

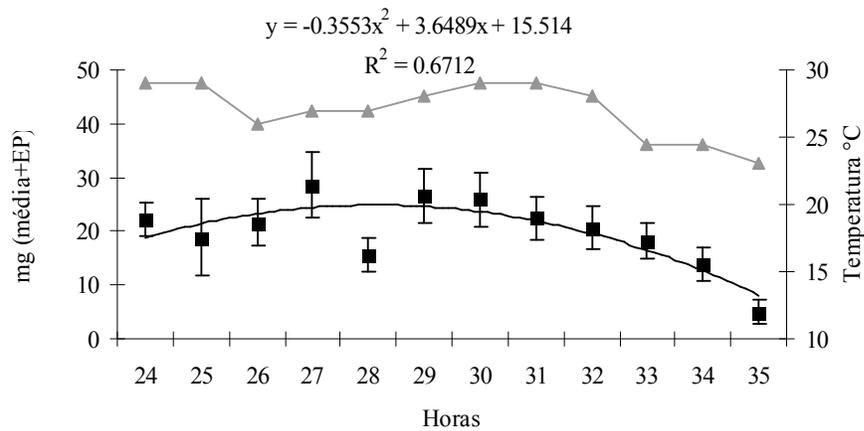


Figura 34: Perda média horária do octenol em função do tempo (h) e da temperatura (°C) em liberadores confeccionados com dois pavios (■ octenol; ▲ temperatura) no período 12 horas.

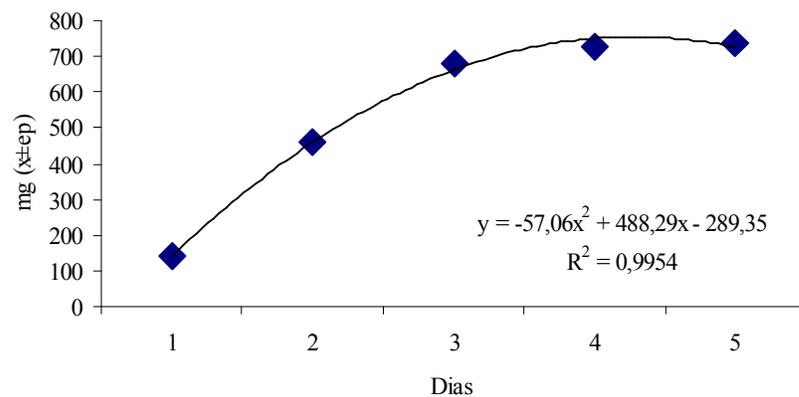


Figura 35: Taxa acumulativa do octenol em função do tempo (h) em liberadores com dois pavios no período de cinco dias.

13,03 ± 1,8 mg/h e 22,7±3,3 mg/h, respectivamente, foram as que mais se aproximaram daquelas que seriam usadas em campo (Tab. 2).

3.2 - Avaliação da dose resposta do octenol - Experimento 1:

Na Tabela 3 pode-se ver uma lista das 20 espécies do gênero *Lutzomyia* capturadas durante a realização dos três experimentos de campo.

As áreas trabalhadas foram divididas em cinco blocos sendo três em peridomicílio e dois em área de mata, pois apresentavam diferentes biotas nas quais capturou-se o total de 3889 flebotomíneos. Destes 2377 foram capturados em armadilhas instaladas em área de mata e 1512 em peridomicílio, sendo que 288 (11,83%) e 179 espécimes (12,11%) capturados foram identificados a nível de gênero, respectivamente nas duas biotas. As médias de temperatura e umidade relativa durante as cinco noites de captura foram 24±4°C e 71,6±13%, respectivamente.

Em todo o experimento foram encontradas 18 espécies do gênero *Lutzomyia*: *Lutzomyia capixaba* (0,41%), *L. cavernicola* (2%), *L. evandroi* (0,43%), *L. goiana* (0,56%), *L. intermedia* (36,8%), *L. ischinacantha* (2,4%), *L. lenti* (1,81%), *L. longipalpis* (17,79%), *L. longipennis* (0,3%), *L. minasensis* (1,23%), *L. peresi* (2,67%), *L. quinquefer* (9,44%), *L. renei* (19,34%), *L. sallesi* (3,97%), *L. serrana* (0,1%), *L. sordellii* (0,26%) e *L. termitophila* (0,2%). Foi encontrado ainda um exemplar macho de *L. migonei* (0,03%), única espécie capturada em área de mata que não estava presente em peridomicílio mostrando que a fauna associada às duas biotas foi muito semelhante. Houve diferença significativa no número total de

Tabela 2: Liberadores de vidro utilizados para se avaliar a taxa de evaporação de 1 ml de octenol em condições de laboratório.

Liberadores (frascos de vidro)	Dimensões dos pavios (comprimento X largura)	Taxa acumulativa (mg/12 horas)	Perda média de octenol (mg/h)
Papel de filtro	3,5cm X 4cm	54,17	4,6±0,3
com um pavio (barbante)	4cm X 0,1 mm ^a	263,13	13,03±1,8
com dois pavios (barbantes)	4cm X 0,1 mm ^a	457,93	22,7±3,3

a: valores referentes aos diâmetros dos pavios utilizados.

Resultados

Tabela 3: Espécies de flebotomíneos atraídas (+) ou não (-) pelas armadilhas luminosas CDC (modelo HP) controle e iscadas pelos atraentes sintéticos octenol, BG Mesh Lure® + octenol, BG Mesh Lure®, ácido láctico, ácido caprótico e amônia, durante os três experimentos realizados em Brejo do Mutambal, MG, em abril e maio de 2005.

	ESPECIES CAPTURADAS					ISCAS UTILIZADAS NAS CAPTURAS DAS ESPÉCIES				
	Controle	Octenol	BG Mesh Lure®	BG Mesh + octenol	BG Mesh Lure®	Ácido láctico	Ácido caprótico	Amônia		
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> (Lutz & Neiva, 1912)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) ischnacantha</i> Martins, Souza & Falcão, 1962	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) renei</i> (Martins, Falcão & Silva, 1957)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia (Lutzomyia) cavernicola</i> (Costa Lima, 1932)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia (Sciopenyia) sordellii</i> (Shannon & Del Ponte, (1927)	+	+	+	-	-	-	-	-		
<i>Lutzomyia (Mycropyomyia) minasensis</i> (Mangabeira, 1942) †	+	+	+	+	-	+	+	+		
<i>Lutzomyia (Psathyromyia) lutziana</i> (Costa Lima, 1932) *	+	-	-	-	-	-	-	-		
<i>Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia</i> (Lutz & Neiva, 1912)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia leniti</i> (Mangabeira, 1938)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia sallesi</i> (Galvão & Coutinho, 1939)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia evandroi</i> (Costa Lima & Antunes, 1936)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia termitophila</i> Martins, Falcão & Silva, 1964	+	+	+	-	-	-	-	-		
<i>Lutzomyia migonei</i> (França, 1920)	-	+	-	-	-	-	-	-		
<i>Lutzomyia capixaba</i> Dias, Falcão, Silva & Martins, 1987	+	+	+	+	-	-	-	-		
<i>Lutzomyia quinquefer</i> (Dyar, 1929)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia longipennis</i> (Barreto, 1946) *	+	+	+	-	-	+	-	-		
<i>Lutzomyia peresi</i> (Mangabeira, 1942)	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Lutzomyia goiana</i> Martins, Falcão & Silva, 1962 *	+	+	-	-	-	-	+	+		
<i>Lutzomyia brasiliensis</i> (Costa Lima, 1932)	+	-	+	-	+	+	-	-		
<i>Lutzomyia serrana</i> (Damasceno & Arouck, 1956)	+	-	-	-	-	-	-	-		

†: Para essa espécie foram capturados flebotomíneos ambos os sexos, embora as fêmeas ainda não tenham sido descritas na literatura.

*: Primeiro registro para a Região de Varzelândia, MG

flebotomíneos de gênero *Lutzomyia* spp. observada para as áreas trabalhadas (Mann-Whitney, $p= 0,000$), onde durante as cinco noites de experimento, na área de mata, foram capturados 2089 (61,12%) flebotomíneos (Fig. 36).

Durante as cinco noites de experimento o número de espécimes coletados foi de 799, 901, 911, 463 e 815 flebotomos (Fig. 37) e não foi observada diferença significativa do número total de flebotomíneos capturados entre as noites (Kruskal-Wallis, $p> 0,05$; $p= 0,252$), portanto não houve interferência das capturas realizadas, durante essas datas, na fauna local

As médias de respostas dos flebotomíneos frente às armadilhas luminosas iscadas com 0,5mg/h octenol (172,8) foi superior ao controle (154,4), enquanto as armadilhas iscadas com taxas de 5mg/h, a média do número de flebotomíneos capturados reduziu-se para 132,4. Porém a medida que se aumenta as taxas de evaporação para 15 e 30 mg/h uma resposta dose-dependente do octenol foi observada a partir de taxa de 5 mg/h (Fig. 38). A captura dos flebotomíneos não foi estatisticamente significativa quando comparadas às armadilhas sem atraentes (controle) e iscadas com as diferentes taxas de evaporação do octenol avaliadas como iscas (Kruskal-Wallis, $p> 0,05$; $p= 0,881$).

Em peridomicílio durante as cinco noites foi observada maior captura de flebotomíneos nas taxas de evaporação de 5 e 15 mg/h, sendo de 60,8 e 64,2 espécimes, respectivamente (Fig. 39). No entanto, as armadilhas controle capturaram um número médio maior que as armadilhas iscadas com octenol 0,5 e 30 mg/h. A média de flebotomos, capturadas em peridomicílio não variou significativamente entre as taxas de evaporação (Kruskal-Wallis, $p> 0,05$; $p= 0,753$).

Armadilhas iscadas com as taxas de 0,5 e 15 mg/h capturaram um número inferior de flebotomíneos do que as armadilhas sem atraentes (controle). Para as armadilhas iscadas com octenol instaladas em mata, na concentração de 5mg/h, capturaram um número maior de flebotomíneos que o controle. (Fig. 39).

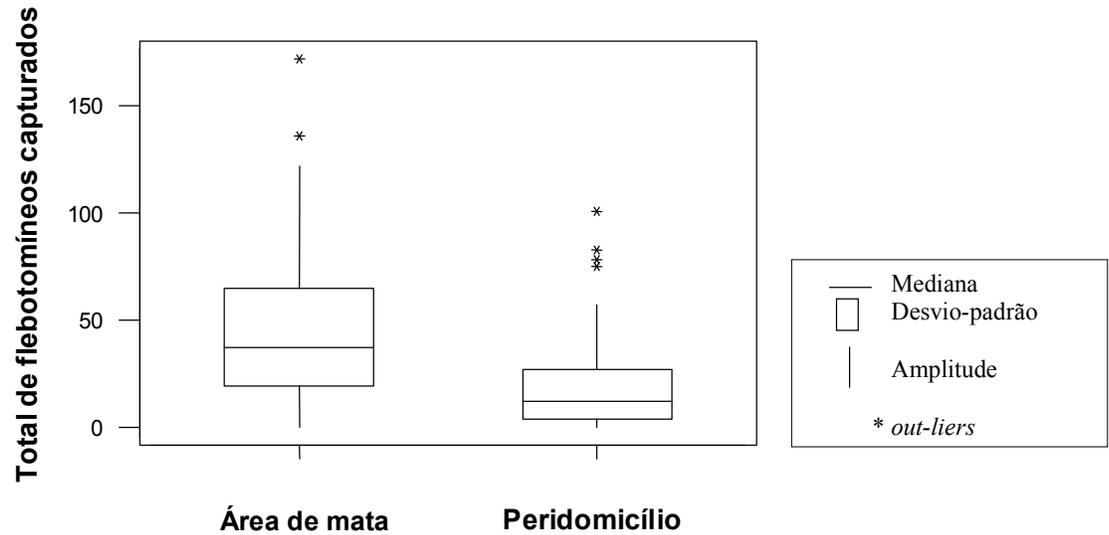


Figura 36: Abundância do total de flebotomíneos capturados em área de mata e peridomicílio (Abril 2005).

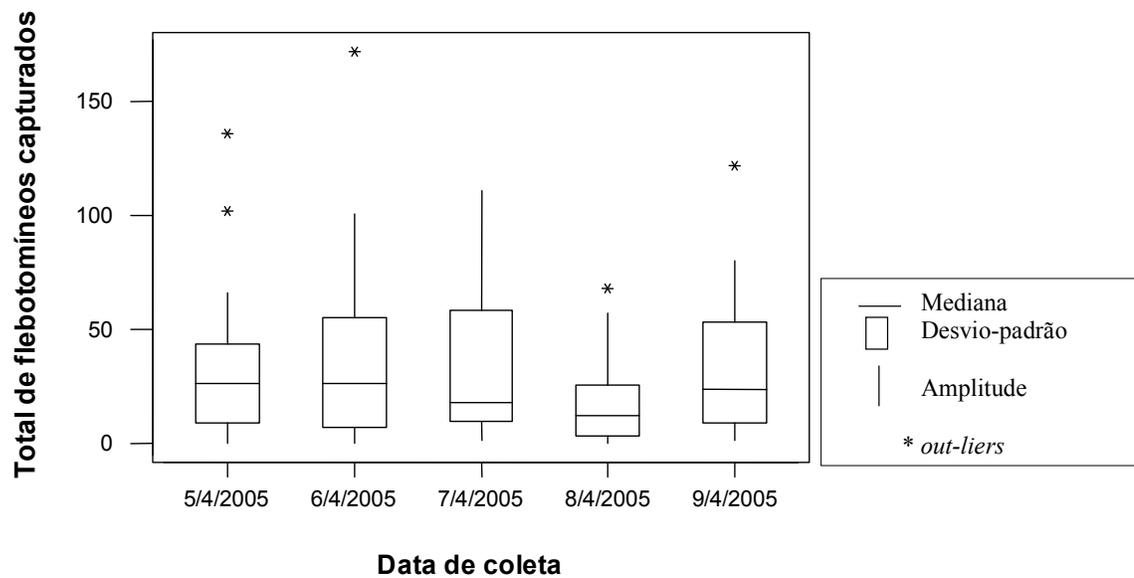


Figura 37: Abundância de flebotomíneos capturados em Brejo do Mutambal em cinco noites em área de mata e peridomicílio (Abril 2005)

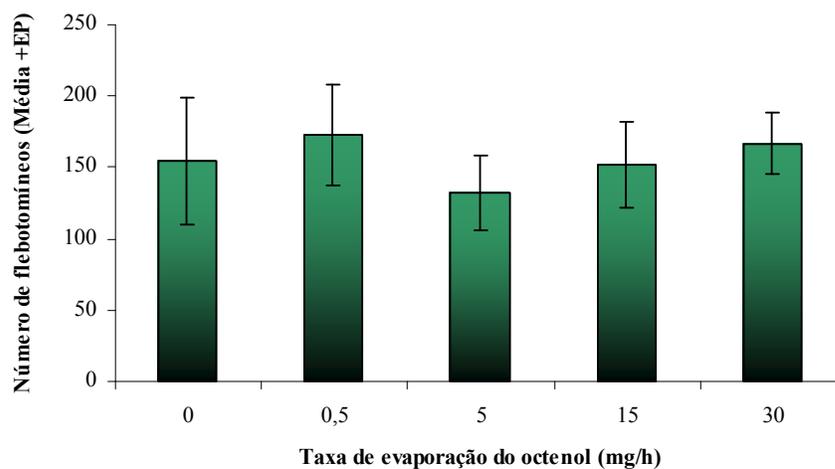


Figura 38: Média aritmética de captura de flebotomíneos (peridomicílio + área de mata) no Experimento 1 durante as cinco noites de captura em função das diferentes taxas de evaporação do octenol (0,5, 5, 15 e 30mg/h).

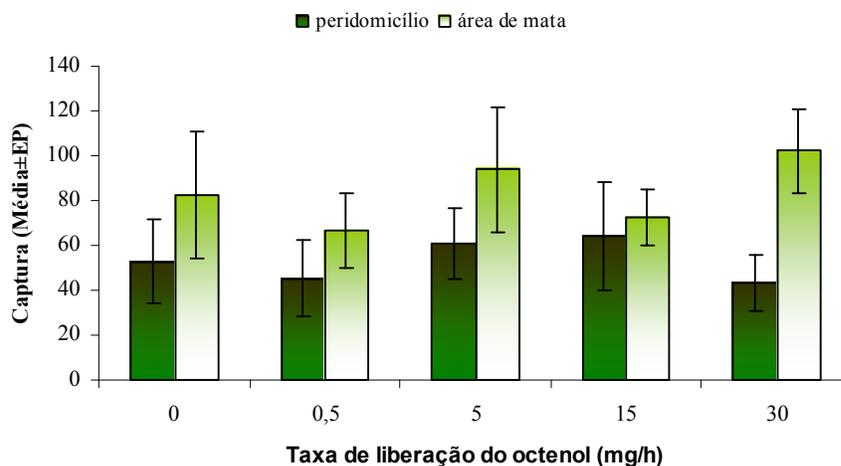


Figura 39: Média aritmética de captura de flebotomíneos em peridomicílio e área de mata durante as cinco noites de captura em função das diferentes taxas de evaporação do octenol (0,5, 5, 15 e 30mg/h).

A média de captura das armadilhas iscadas com a taxa de evaporação de 30mg/h foi semelhante àquela encontrada nas armadilhas iscadas com octenol 5mg/h, porém a diferença de captura entre as armadilhas não foi estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,576$) (Fig. 39).

Todas as análises realizadas citadas até aqui levaram em conta os flebotomíneos separados até o nível de gênero. Após a triagem, sexagem, montagem e identificação destes psicodídeos, pôde se observar as respostas das espécies capturadas nas armadilhas luminosas controle e iscadas com as taxas de evaporação do octenol de 0,5; 5; 15 e 30 mg/h (Tab. 4).

As espécies mais abundantes em Brejo do Mutambal durante as cinco noites de captura, em ordem decrescente, foram *L. intermedia*, *L. renei*, *L. longipalpis*, *L. quinquefer*, *L. sallesi*. Todas estas espécies tiveram mais exemplares de fêmeas capturadas, exceto a espécie *L. longipalpis*, onde em um total de 609 indivíduos 463 eram machos, ou seja, 76% do total.

3.2.1 - Comparação das taxas de evaporação do octenol e do local de coleta para as espécies mais frequentes no Experimento 1.

Para os flebotomíneos identificados até o nível de espécie, *L. intermedia* (36,81%), *L. renei* (19,34%), *L. longipalpis* (17,8%), *L. quinquefer* (9,44%) e *L. sallesi* (4%) foram as mais frequentes durante todo o experimento. A porcentagem de repostas de machos e fêmeas destas espécies, assim como do total coletado em armadilhas luminosas sem isca e iscadas com as diferentes taxas de evaporação do octenol podem ser observadas na Tabela 5.

As repostas das espécies mais abundantes às taxas de evaporação do octenol podem ser observadas na Figura 40 as repostas de machos e fêmeas destas espécies, ao atraente são mostradas na Figura 41.

Tabela 4: Espécies do gênero *Lutzomyia* spp. capturadas em Brejo do Mutambal em área de mata e peridomicílio em armadilhas luminosas CDC (modelo HP) iscadas com octenol entre os dias 05/04/2005 e 09/04/2005.

ESPÉCIES	TAXA DE LIBERAÇÃO DO OCTENOL										Total ♂+♀
	0 (mg/h)		0,5 (mg/h)		5 (mg/h)		15 (mg/h)		30 (mg/h)		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
<i>L. intermedia</i>	69	150	59	158	59	152	99	164	146	204	1260
<i>L. renei</i>	39	94	27	117	23	123	30	99	15	95	662
<i>L. longipalpis</i>	110	35	86	22	121	32	83	30	63	27	609
<i>L. quinquefer</i>	25	51	18	30	15	53	21	43	23	44	323
<i>L. sallesi</i>	4	20	6	24	5	13	6	28	5	25	136
<i>L. peresi</i>	1	10	0	15	0	25	2	16	0	21	90
<i>L. ischinacantha</i>	12	3	18	3	14	5	7	0	14	6	82
<i>L. cavernicola</i>	1	7	1	15	1	14	5	14	2	10	70
<i>L. lenti</i>	9	9	3	8	2	8	7	7	4	5	62
<i>L. minasensis</i>	2	2	0	7	0	14	2	8	0	7	42
<i>L. evandroi</i>	3	5	3	2	3	2	1	2	1	3	25
<i>L. goiana</i>	4	0	0	0	3	0	4	8	0	0	19
<i>L. capixaba</i>	0	1	0	3	0	2	0	4	0	4	14
<i>L. longipennis</i>	0	2	0	1	0	2	0	4	0	1	10
<i>L. sordellii</i>	2	1	0	1	0	1	2	0	1	1	9
<i>L. termitophila</i>	0	2	0	1	0	2	0	2	0	0	7
<i>L. serrana</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>L. migonei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Total geral	281	394	221	407	246	448	269	429	275	453	3423

Tabela 5: Total de captura e porcentagem das espécies *L. intermedia*, *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. quinquefer* e *L. sallesi* em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle e armadilhas associadas com taxas de evaporação do octenol (0,5; 5; 15 e 30 mg/) em área de mata e peridomicílio, entre os dias 05/04/2005 e 09/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG.

EVAPORAÇÃO DE OCTENOL Sexo (%)	ESPÉCIES					Total ♀♂ (%)
	<i>L. intermedia</i>	<i>L. longipalpis</i>	<i>L. quinquefer</i>	<i>L. renei</i>	<i>L. sallesi</i>	
0 mg/h						
♂	69 (31,5)	110 (75,9)	25 (32,9)	39 (29,3)	4 (16,7)	247 (37,3)
♀	150 (68,5)	35 (24,1)	51 (67,1)	94 (70,7)	20 (83,3)	350 (62,7)
♀♂	219 (31,4)	145 (20,8)	76 (10,9)	133 (19,1)	24 (3,4)	697 (100)
0,5 mg/h						
♂	59 (27,2)	86 (79,6)	18 (37,5)	27 (18,8)	6 (20,0)	136 (36,61)
♀	158 (72,8)	22 (20,4)	30 (62,5)	117 (81,3)	24 (80,0)	351 (63,39)
♀♂	217 (39,7)	108 (19,7)	48 (8,8)	144 (26,3)	30 (5,5)	547 (100)
5 mg/h						
♂	59 (28,0)	121 (79,1)	15 (22,1)	23 (15,8)	5 (27,8)	223 (34,5)
♀	152 (72,0)	32 (20,9)	53 (77,9)	123 (84,2)	13 (72,2)	373 (65,4)
♀♂	211(35,4)	153 (25,7)	68 (11,4)	146 (24,5)	18 (3,0)	596 (100)
15 mg/h						
♂	99 (37,6)	83 (73,5)	21 (32,8)	30 (33,3)	6 (17,6)	239 (36,96)
♀	164 (62,4)	30 (26,5)	43 (67,2)	99 (76,7)	28 (82,4)	364 (63,04)
♀♂	263 (43,6)	113 (18,7)	64 (10,6)	129 (21,4)	34 (5,6)	603 (100)
30 mg/h						
♂	146 (41,7)	63 (70,0)	23 (34,3)	15 (13,6)	5 (16,7)	252 (35,27)
♀	204 (58,3)	27 (30,0)	44 (65,7)	95 (86,4)	25 (83,3)	395 (64,73)
♀♂	350 (54,1)	90 (13,9)	67 (10,4)	110 (17,0)	30 (4,6)	647 (100)

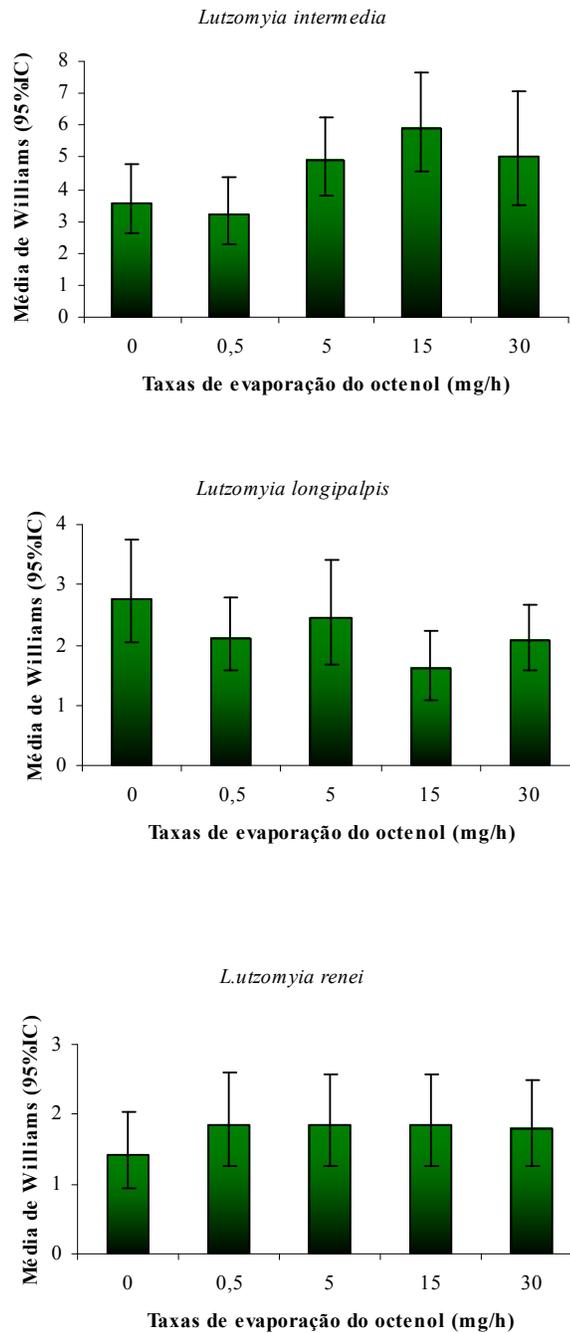


Figura 40: Média de Williams (95%IC) das espécies *Lutzomyia intermedia*, *L. longipalpis*, *L. renei*, capturadas em armadilhas luminosas iscadas com diferentes taxas de evaporação do octenol durante as cinco noites de capturas realizadas em Brejo do Mutambal, MG.

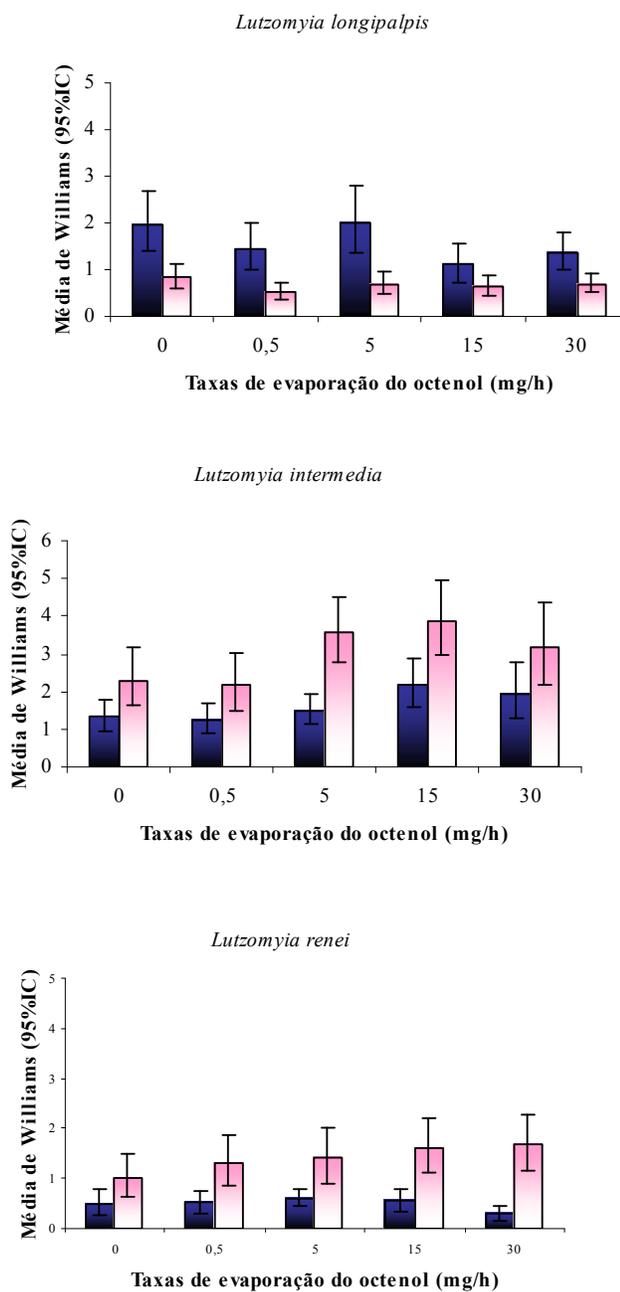


Figura 41: Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas da espécie *Lutzomyia intermedia*, *L. longipalpis*, *L. renei*, capturadas em armadilhas luminosas iscadas com diferentes taxas de evaporação do octenol durante as cinco noites do Experimento 1 realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas).

Lutzomyia intermedia

Embora durante a execução do experimento, 15 armadilhas estivessem instaladas em peridomicílio e 10 em área de mata, dos 1260 indivíduos capturados, 364 foram encontrados na primeira biota e 896 na segunda e a abundância desta espécie apresentou diferença significativa em ambas as áreas de coleta (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0001$).

As fêmeas foram capturadas em maior quantidade em todas as armadilhas que os machos. Quando avaliada a taxa de evaporação com melhor desempenho na captura da espécie, aquelas armadilhas com liberação de 15 e 30 mg/h permitiram um maior número que todas as outras taxas avaliadas e que o controle.

Não foi observada diferença estatística nas capturas de *L. intermedia* para taxas de evaporação do octenol em peridomicílio (Kruskal-Wallis, $p = 0,455$) e área de mata (Kruskal-Wallis, $p = 0,627$).

Uma resposta dose-dependente da concentração do octenol de 0,5 a 30 mg/h foi observada. As armadilhas iscadas com octenol nas taxas de evaporação 5, 15 e 30 mg/h permitiram uma maior captura da espécie quando comparadas ao controle porém na armadilha controle a captura foi semelhante àquela iscada com 0,5 mg/h. Para ambos os sexos obtiveram-se uma resposta dose-dependente entre os tratamentos 0,5; 5 e 15 mg/h, sendo que no tratamento 30 mg/h a captura média se reduziu. A captura de fêmeas foi maior que a de machos para todas as armadilhas iscadas com octenol (Fig. 41), inclusive para as armadilhas controle. Foi observada diferença estatística significativa entre a captura de machos e fêmeas de *L. intermedia* ao longo do experimento (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0033$), porém essa diferença não foi observada para machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,755$) e fêmeas frente às armadilhas controle e iscadas com taxas de octenol (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,383$).

Lutzomyia renei

A segunda espécie mais abundante e por se tratar de uma espécie silvestre, *L. renei*, foi escolhida para análise. Foram capturados 662 flebotomos dessa espécie, sendo que, 528, ou seja, 80% eram fêmeas, semelhante aos resultados para a espécie *L. intermedia*.

Não foi observada também diferença estatística significativa para *L. renei* nas diferentes biotas (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0382$), sendo a maior captura da espécie para área de mata. No entanto a captura das armadilhas não diferiu estatisticamente em peridomicílio (Kruskal-Wallis, $p = 0,888$) e área de mata (Kruskal-Wallis, $p = 0,838$). As taxas de 0,5 e 5 mg/h possibilitaram uma maior porcentagem de captura de *L. renei* que o controle e que as que tinham as maiores taxas de evaporação (15 e 30 mg/h), sendo o inverso do que aconteceu para *L. intermedia*, onde para esta espécie as maiores taxas de evaporação possibilitaram uma maior captura para as armadilhas (Tab. 5).

Todas as armadilhas tratadas com as concentrações de octenol capturaram uma média maior de *L. renei* do quando comparadas ao controle (Fig. 40).

Na Figura 41 observou-se uma menor resposta dos machos dessa espécie para controle e para as cinco taxas de evaporação do octenol. O aumento das fêmeas nas armadilhas é inversamente proporcional ao número de machos, onde essa diferença foi diferente estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0002$). Não houve diferença estatística significativa para machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,446$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,790$) de *L. renei* para as taxas de evaporação de octenol.

Lutzomyia longipalpis

Dos flebotomíneos coletados, 609 exemplares pertenciam a esta espécie, embora, diferentemente do que aconteceu para *L. intermedia* e *L. renei*, a maior porcentagem de captura ocorreu em peridomicílio, sendo equivalente a 71,3% do total. Esta diferença na

dispersão de *L. longipalpis*, para área de mata e peridomicílio, não apresentou diferença estatística significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,235$).

Das concentrações de octenol avaliadas, somente a de 5 mg/h permitiu captura superior a do controle, 153 e 145 indivíduos respectivamente. Aparentemente as taxas de 15 e 30 mg/h não foram eficientes no total de captura da espécie. O número de machos capturados nas armadilhas foi o dobro em relação às fêmeas, com maior número de registros (121 machos) e uma maior porcentagem de captura que as fêmeas (20,9%) para armadilhas iscadas com a taxa de evaporação de 5 mg/h.

As taxas de liberação do atraente iscadas nas armadilhas instaladas em área de mata e peridomicílio não diferiram estatisticamente entre si nem para as biotas (Kruskal-Wallis, $p = 0,627$, $p = 0,669$), respectivamente.

No geral as armadilhas controle capturaram uma média maior da espécie do que as que tinham como fonte de atração, além da luz, as diferentes taxas de evaporação do octenol (Fig. 38). O octenol não potencializou a captura de fêmeas da espécie *L. longipalpis* (Fig. 41). A média de captura de machos nas armadilhas diferiu significativamente da captura de fêmeas (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,002$), porém esta diferença não foi observada entre os machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,724$) e entre as fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,883$) de *L. longipalpis* frente às armadilhas iscadas durante as cinco noites de experimento.

Lutzomyia quinquefer

Dos 323 espécimes capturados 169 foram capturados em área de mata e 154 em peridomicílio, sendo que 76 estavam nas armadilhas controle e as fêmeas estavam presentes em maior quantidade em todas as armadilhas (68,4%). O número de machos presentes em cada armadilha não ultrapassou 30 indivíduos em nenhuma armadilha. Como ocorrido para *L. longipalpis* a captura desta espécie não apresentou diferença significativa para as duas biotas

trabalhadas (Mann-Whitney, $p > 0,005$; $p = 0,2076$), sendo que a mesma não foi observada em relação as taxas de evaporação do octenol em peridomicílio (Kruskal-Wallis, $p = 0,519$) e área de mata (Kruskal-Wallis, $p = 0,908$).

Lutzomyia sallesi

A captura foi semelhante para área de mata e peridomicílio (Mann-Whitney, $p > 0,005$; $p = 0,4502$) como aconteceu para *L. quinquefer*, embora *L. sallesi* tenha sido encontrada em maior quantidade em peridomicílio. As armadilhas iscadas com 15 e 30 mg/h de liberação do octenol capturaram mais flebotomíneos dessa espécie que as armadilhas controle, com maior resposta das fêmeas do que dos machos. Não foram observadas diferenças estatísticas em relação às diferentes taxas de evaporação do atraente em peridomicílio (Kruskal-Wallis, $p = 0,422$) e área de mata (Kruskal-Wallis, $p = 0,996$).

3.3 - Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios BG Mesh Lure[®] iscado na armadilha luminosa na ausência ou presença de octenol 5 mg/h - Experimento 2:

As 15 armadilhas foram instaladas em peridomicílio com o total de 871 flebotomíneos capturados durante as cinco noites de coleta. Durante a condução dos trabalhos, 47 (5,4%) indivíduos foram identificados somente ao nível de gênero *Lutzomyia* spp. pois esses insetos estavam danificados. A média de temperatura e umidade relativa do ar para as noites de captura foram de $24,3 \pm 4,1^\circ\text{C}$ e $67,4 \pm 22,4\%$, respectivamente.

A taxa de evaporação do octenol de 5mg/h colocada nas armadilhas juntamente com a formulação de cairomônios foi utilizada devido aos resultados obtidos para os flebotomíneos identificados até o nível de gênero no Experimento 1, em peridomicílio. As médias de captura

de flebotomíneos durante todo o Experimento 2 em relação aos tratamentos testados (Isca 1, Isca 2, Isca 3, Isca 4 e Isca 5) conforme a Tabela 6 foram de 31; 32,6; 35,8; 35,2 e 31,6, respectivamente (Fig. 42). Nestes cinco dias de experimento, as armadilhas controle capturaram um número menor de flebotomíneos (152), ou seja, 17,5% do total, quando comparada com todas as outras armadilhas testadas. A maior média de captura foi observada para a armadilha tratada com a Isca 3 (BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto). Para todas as noites pelo menos uma das armadilhas iscadas com os cairomônios foi superior ao controle e somente na segunda noite o número de fêmeas (92) foi inferior ao número de machos (96).

Não foi observada diferença estatística significativa entre o número total de flebotomíneos para as cinco iscas testadas (Kruskal- Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,694$). Todas essas análises foram realizadas levando-se em conta somente o gênero *Lutzomyia*.

3.3.1 - Comparação dos cairomônios iscados nas armadilhas luminosas para as espécies mais frequentes no Experimento 2.

Em todo o experimento foram capturadas 19 espécies do gênero *Lutzomyia*: *Lutzomyia brasiliensis* (0,1%), *Lutzomyia capixaba* (0,6%), *L. cavernicola* (1,45%), *L. evandroi* (0,6%), *L. goiana* (0,1%), *L. intermedia* (19,13%), *L. ischinacantha* (1,69%), *L. lenti* (2,06%), *L. longipalpis* (20,82%), *L. longipennis* (0,24%), *L. lutziana* (0,1%), *L. minasensis* (0,6%), *L. peresi* (1,33%), *L. quinquefer* (28,69%), *L. renei* (14,29%), *L. sallesi* (7,87%), *L. serrana* (0,1%), *L. sordellii* (0,1%) e *L. termitophila* (0,24%).

Dados referentes à captura das espécies nas diferentes armadilhas, bem como a possível interferência do cairomônio na captura de machos e fêmeas depois de identificados

Tabela 6: Iscas utilizadas nas armadilhas luminosas CDC (modelo HP) no experimento 2.

Isclas utilizadas nas armadilhas luminosas CDC
Iscla 1 – Controle (sem atraentes)
Iscla 2 - BG <i>Mesh Lure</i> [®] aberto
Iscla 3 - BG <i>Mesh Lure</i> [®] semi-aberto
Iscla 4 - BG <i>Mesh Lure</i> [®] aberto + octenol (5mg/h)
Iscla 5 - BG <i>Mesh Lure</i> [®] semi-aberto + octenol (5mg/h)

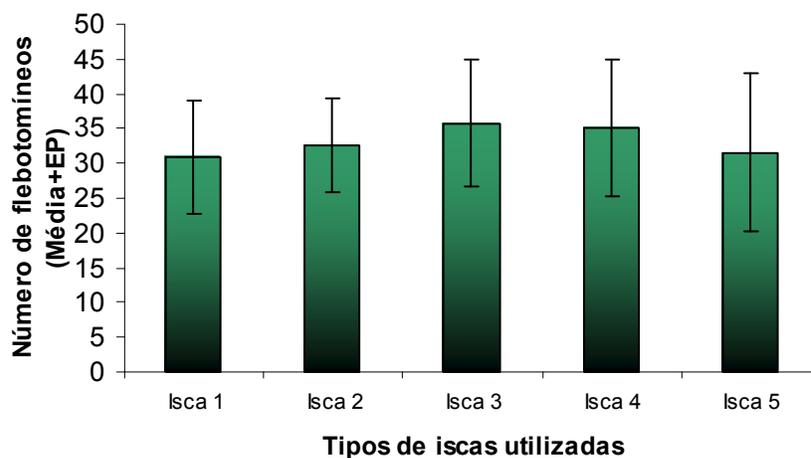


Figura 42: Média aritmética de captura de febotomíneos no Experimento 2 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas HP: controle (Iscla 1) e com as formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*[®] aberto (Iscla 2); Semi-aberto (Iscla 3); aberto com octenol (Iscla 4) e semi-aberto com octenol (Iscla 5).

foi analisada, principalmente para as três espécies mais abundantes: *L. quinquefer*, *L. intermedia* e *L. longipalpis* (Tab. 7). No total de flebotomíneos capturados e identificados em nível de gênero, foram observadas 452 fêmeas (55%). Como observado na Tabela 8 as maiores porcentagens de captura ocorreram para *L. quinquefer* (27,1%), seguida por *L. longipalpis* (19,7%) e *L. intermedia* (18%).

As respostas das espécies mais abundantes às iscas utilizadas nas armadilhas luminosas podem ser observadas na Figura 43 as respostas de machos e fêmeas destas espécies, a estas iscas são mostradas na Figura 44.

O maior número de flebotomíneos capturados das espécies *L. quinquefer* e *L. longipalpis* se deu para as armadilhas iscadas com o BG *Mesh Lure*[®] (aberto e semi-aberto), quando comparados ao controle e na ausência do cairomônio octenol, porém sem diferença significativa.

Outras duas espécies abundantes neste experimento foram *L. renei* e *L. sallesi*, as quais já haviam sido encontradas também em grande quantidade do experimento 1. As fêmeas foram capturas em maior quantidade que os machos em todas as armadilhas para as espécies *L. quinquefer*, *L. renei* e *L. sallesi*, porém para *L. longipalpis* e *L. intermedia* houve maior número de machos capturados.

Lutzomyia quinquefer

Armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] aberto (Isca 2) capturaram um número maior desta espécie (57), seguida por BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto (Isca 3) (50). As armadilhas onde se tinha como iscas a formulação de cairomônios associadas com octenol capturaram menos que o controle, embora não tenha havido diferença significativa na captura desta espécie, quando comparados os tratamentos com o controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,867$).

Tabela 7: Espécies do gênero *Lutzomyia* spp. capturadas em peridomicílio, na localidade de Brejo do Mutambal, em armadilhas luminosas CDC (modelo HP): controle (Isca 1) e com a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*® aberto (Isca 2); semi-aberto (Isca 3); aberto com octenol (Isca 4) e semi-aberto com octenol (Isca 5), entre os dias 18/04/2005 a 22/04/2005

Espécies	TIPOS DE ISCAS UTILIZADAS										Total
	Isca 1		Isca 2		Isca 3		Isca 4		Isca 5		
	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	Sexo	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂ + ♀
<i>L. quinquefer</i>	13	35	11	46	14	36	18	26	12	26	237
<i>L. longipalpis</i>	23	8	28	6	34	15	20	10	19	9	172
<i>L. intermedia</i>	14	7	20	15	18	15	22	11	32	4	158
<i>L. renei</i>	4	17	9	15	9	18	6	17	6	17	118
<i>L. sallesi</i>	2	7	3	9	0	10	4	15	1	14	65
<i>L. lenti</i>	1	2	3	4	0	1	3	1	2	0	17
<i>L. ischinacantha</i>	1	0	1	0	4	0	5	0	2	1	14
<i>L. cavernicola</i>	0	2	1	0	0	3	0	4	0	2	12
<i>L. peresi</i>	0	3	0	4	0	2	0	1	0	1	11
<i>L. evandroi</i>	2	0	1	0	0	1	1	0	0	0	5
<i>L. minasensis</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	5
<i>L. capixaba</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3
<i>L. longipenis</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2
<i>L. termitophila</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>L. lutziana</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>L. goiana</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>L. brasiliensis</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>L. serrana</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>L. sordeli</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Total geral	60	85	78	101	80	104	79	87	74	78	826

Tabela 8: Total de captura e porcentagem das espécies *L. quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia* em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle e com a formulação de cairomônios instaladas em peridomicílio, entre os dias 18/04/2005 e 22/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG.

TIPOS DE ISCAS UTILIZADAS Sexo (%)	ESPÉCIES			Total ♀♂ (%)
	<i>L. quinquefer</i>	<i>L. longipalpis</i>	<i>L. intermedia</i>	
Controle				
♂	13 (27,1)	23 (74,2)	14 (66,7)	50 (56)
♀	35 (72,9)	8 (25,8)	7 (33,3)	50 (44)
♀♂	48 (48)	31 (31)	21 (21)	100 (100)
BG Mesh Lure® aberto				
♂	11 (28)	28 (69,4)	20 (57,1)	59 (52,9)
♀	46 (80,7)	6 (17,6)	15 (42,9)	67 (47,1)
♀♂	57 (45,2)	34 (27)	35 (27,8)	126 (100)
BG Mesh Lure® semi-aberto				
♂	14 (28)	34 (69,4)	18 (54,5)	66 (50,6)
♀	36 (72)	15 (30,6)	15 (45,5)	66 (49,4)
♀♂	50 (37,9)	49 (37,1)	33 (25)	132 (100)
BG Mesh Lure® aberto + octenol 5mg/h				
♂	18 (40,9)	20 (66,7)	22 (66,7)	60 (58,1)
♀	26 (59,1)	10 (33,3)	11 (33,3)	47 (41,9)
♀♂	44 (41,1)	30 (28)	33 (30,8)	107 (100)
BG Mesh Lure® semi-aberto + octenol 5mg/h				
♂	12 (31,6)	19 (67,9)	32 (88,9)	63 (62,8)
♀	26 (68,4)	9 (32,1)	4 (11,1)	39 (37,2)
♀♂	38 (37,3)	28 (27,5)	36 (35,3)	102 (100)

As armadilhas controle capturaram uma média maior do que as armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] em presença da taxa de evaporação de 5mg/h. O número médio de fêmeas presentes nas armadilhas foi superior em todos os tratamentos quando comparados ao número médio de machos (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0051$).

Nas Iscas 1, 2 e 3 a média de captura de fêmeas foi maior que a de machos e a média de captura de machos foi maior nas armadilhas com a Isca 4 (Fig. 44). Entretanto a captura de machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,848$) e de fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,689$) não foi estatisticamente significativa para as cinco armadilhas trabalhadas durante as noites.

Lutzomyia longipalpis

A captura dessa espécie por armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] aberto e BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto capturaram uma média maior de flebotomíneos do que quando estas estavam associadas ao octenol, como observado para o total geral *L. quinquefer* (Fig. 43).

A porcentagem de machos dessa espécie capturadas para o controle foi maior do que as fêmeas capturadas, sendo de 74,2% e 25,8%, respectivamente. Contudo para o total de *L. longipalpis* encontrados a maior porcentagem de captura foi para a Isca 3 (27,4%) (Tab. 8). Armadilhas iscadas com o atraente BG *Mesh Lure*[®] capturaram mais exemplares para os liberadores abertos (Isca 2) e semi-abertos (Isca 3), embora não tenha sido observada diferença entre esses, e/ou quando comparados ao controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,913$). Assim como aconteceu para *L. quinquefer* as armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] na ausência do octenol, possibilitaram uma média maior de captura de *L. longipalpis* do que quando estas estavam associadas ao octenol (Fig. 44)

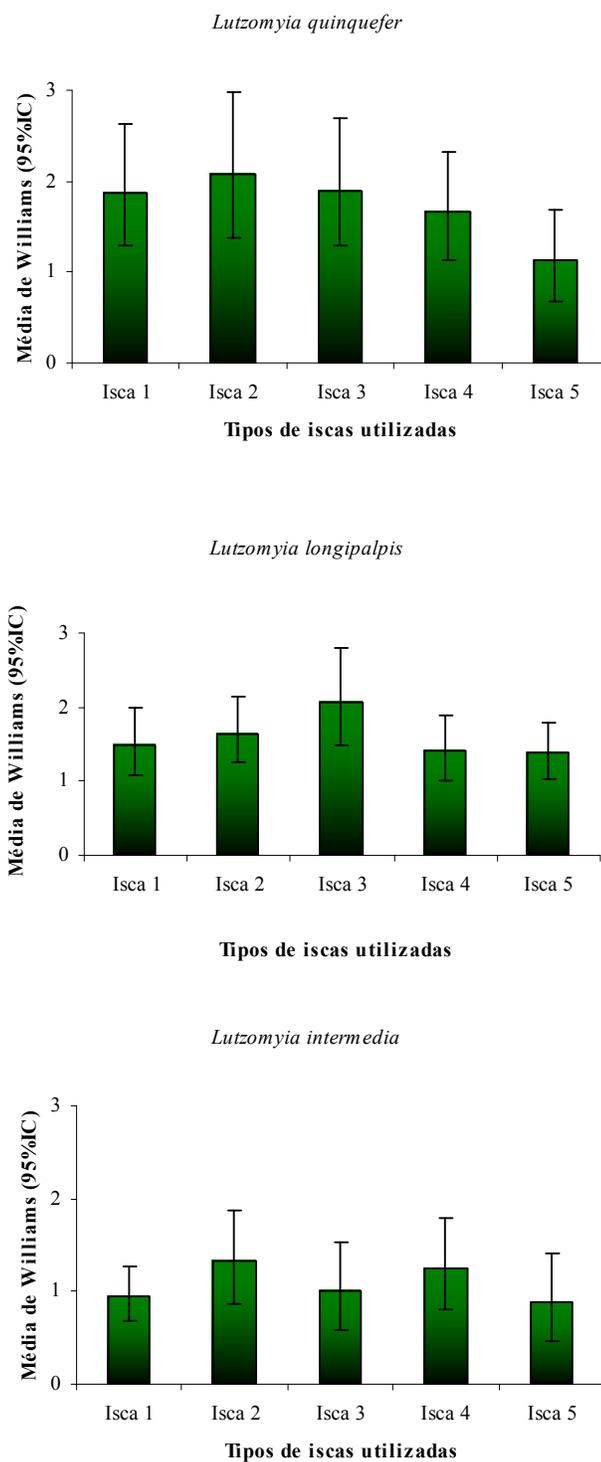


Figura 43: Média de Williams (95%IC) da espécie *Lutzomyia quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas controle (Isca 1), com a formulação de cairomônios BG Mesh Lure[®] (Isca 2 e 3) e desta associada com octenol 5 mg/h (Isca 4 e 5) durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG.

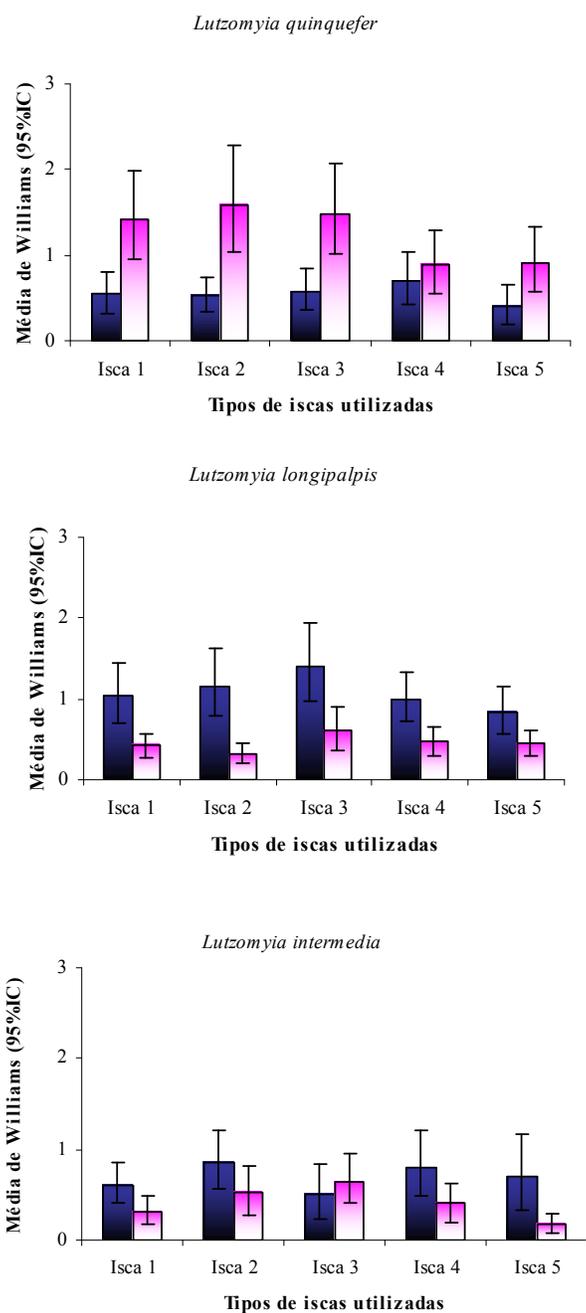


Figura 44: Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas das espécies *Lutzomyia quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas controle (Isca 1), com a formulação de cairomônios BG Mesh Lure® (Isca 2 e 3) e desta associada com octenol 5 mg/h (Isca 4 e 5) durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas).

A Isca 3 (BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto), comparada com a Isca 2 (BG *Mesh Lure*[®] aberto), capturou uma média maior de machos e fêmeas da espécie. A possível atração exercida por esses cairomônios iscados nas armadilhas, foi semelhante para as duas espécies, porém quando separados por sexo, uma maior média de captura ocorreu para os machos de *L. longipalpis* (Fig. 44), a qual apresentou diferença estatística significativa em relação às fêmeas (Mann-Whitney, $p < 0,05$; $p = 0,0007$), diferentemente com o que ocorreu com *L. quinquefer*, onde observou-se uma média de captura maior para fêmeas.

A maior resposta de machos quando comparada às fêmeas da espécie *L. longipalpis*, também foi observada no experimento 1, onde se utilizou como atraentes diferentes taxas de evaporação do octenol. Não foi observada diferença estatística significativa de machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,920$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,970$) de *L. longipalpis* para as iscas durante as noites de experimento.

Lutzomyia intermedia

Para a terceira espécie mais abundante, *L. intermedia*, pôde ser observado que, formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*[®], e a associação desta ao octenol (5mg/h), iscadas nas armadilhas capturaram mais indivíduos que o controle (Tab.7), embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$, $p = 0,872$).

A porcentagem de captura dos machos (67%) foi maior, quando comparada com a captura de fêmeas (33%), em todas as armadilhas, diferentemente do que aconteceu no experimento 1, embora essa diferença também não tenha se mostrado significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$; $p = 0,1397$).

Aplicando a medida de tendência central, média de Williams, pôde se observar que a mesma permite inferir sobre a captura desta espécie assim como para o sexo das mesmas. Uma possível interferência do anteparo “pet” foi observada onde as armadilhas com as Iscas 3

e 5 tiveram uma média de captura de menor de *L. intermedia* do que quando este estava ausente (Fig. 43), porém sem diferença significativa.

Uma resposta similar foi observada para os sexos de *L. intermedia* em relação a *L. longipalpis*, onde houve uma captura média maior para machos do que para fêmeas (Fig. 44). Somente para a Isca 3 a média de captura de fêmeas foi maior que a de machos. Não foi observada diferença estatística significativa para machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,756$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,565$) de *L. intermedia* para as armadilhas durante as noites de experimento.

3.4 - Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios BG Mesh Lure[®] e dos compostos que constituem a formulação, iscados na armadilha luminosa - Experimento 3:

As 25 armadilhas instaladas em peridomicílio capturaram 834 flebotomíneos ao longo de cinco noites de coleta. Não foi possível a identificação ao nível de espécies de 6,7%, ou seja, 55 dos flebotomíneos encontrados. A média de temperatura e umidade relativa do ar nas cinco noites de captura foram de $20,5 \pm 3,5^\circ\text{C}$ e $66,1 \pm 14,5\%$, respectivamente.

O número de flebotomíneos capturados foi menor que no segundo experimento (871), embora tenham sido usadas 25 armadilhas. Como foi observado no segundo experimento, a taxa de evaporação do octenol (5 mg/h) não aumentou a captura de flebotomíneos identificados somente até o nível de gênero, embora o mesmo não se possa dizer, para *L. intermedia* (Fig.48), onde o BG Mesh Lure[®] aberto associado ao octenol permitiu à armadilha uma maior captura desta espécie quando comparada com as outras armadilhas. Também pôde ser observado que a formulação de cairomônios BG Mesh Lure[®], colocada nas armadilhas que tinham o anteparo “pet” adaptado (BG Mesh Lure[®] semi-aberto), aparentemente não interfere

na captura destes dípteros. Portanto para a realização deste terceiro experimento, utilizou-se da formulação para insetos antropofílicos e dos compostos (ácido láctico, ácido capríico e amônia) que fazem parte da formulação BG *Mesh Lure*[®] em recipientes abertos e na ausência de octenol.

A Figura 45 mostra a média de captura de flebotomíneos durante todo o experimento 3 em relação aos diferentes atraentes testados como iscas: controle (34,6), ácido láctico (39), ácido capríico (28,8) e amônia (27,8) e BG *Mesh Lure*[®] (32). Não houve diferença estatística significativa para a captura do flebotomíneos nas armadilhas luminosas iscadas com os caimomônios e nem destas quando comparadas com o controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$, $p = 0,379$).

O total de flebotomíneos capturados na casa 10 durante as cinco noites de experimento, independentes dos tratamentos foram de 35, 7, 33, 101 e 177 indivíduos, respectivamente. Durante a execução do trabalho de campo, para a última noite de captura (06/05/2005), a armadilha controle estava instalada nesta casa em um tronco no centro do peridomicílio do local porém o sítio de instalação da armadilha foi removido pela proprietária da referida casa. De frente a este problema observado, a armadilha foi instalada em uma cerca de bambus, situada próxima a um puleiro (local de repouso de galinhas). Foi observado um número muito superior de flebotomíneos encontrados nas armadilhas que haviam sido instaladas na casa 10, não só na última noite, como na noite precedente também. Devido a estes problemas detectados, optou-se por retirar das análises todas as armadilhas instaladas no local durante as cinco noites de realização deste experimento (recomendação do Dr. Ivan B. M. Sampaio, Escola de Veterinária - UFMG comunicação pessoal).

A Figura 46 mostra a média de captura dos flebotomíneos após-exclusão da casa 10 durante a realização do experimento 3, totalizando 476 flebótomos, ou seja, 41,3% do total de

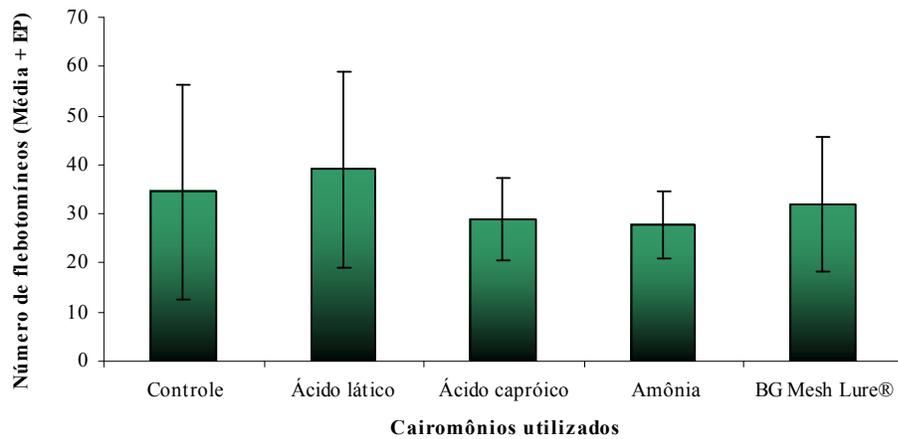


Figura 45: Média aritmética de flebotomíneos no Experimento 3 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas CDC iscadas com diferentes cairomônios (BG *Mesh Lure*®).

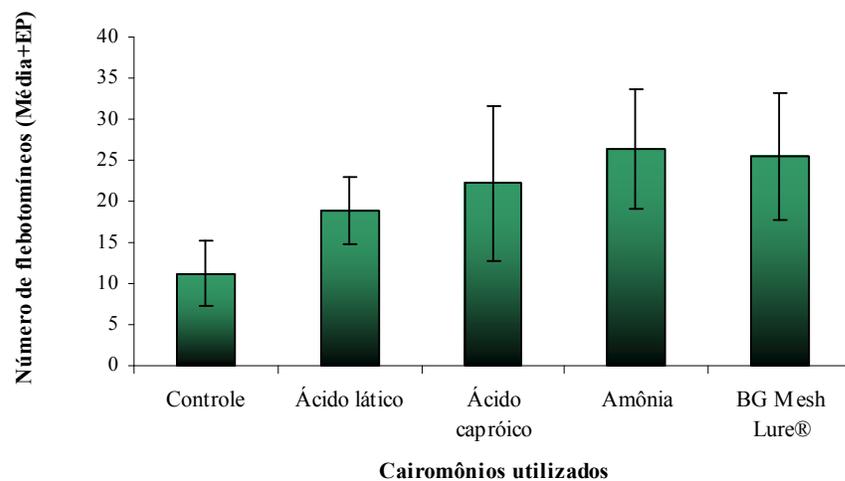


Figura 46: Média aritmética de captura de flebotomíneos no Experimento 3 durante as cinco noites de captura nas armadilhas luminosas CDC: controle, ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG *Mesh Lure*® (sem as armadilhas instaladas na casa 10 entre os dias 02/05/200 a 06/05/2005).

espécies identificadas foram capturadas nas armadilhas instaladas nesta casa. Desse modo as armadilhas sofreram uma alteração nas médias de captura das mesmas: controle (11,2), ácido láctico (18,8), ácido capróico (22,2) e amônia (26,4) e BG *Mesh Lure*[®] (25,4). Todas as armadilhas iscadas com os atraentes capturam uma média maior de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* spp quando comparadas com a armadilha controle. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre os caimomônios utilizados e destes com o controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$, $p = 0,297$).

3.4.1 - Comparação dos caimomônios iscados nas armadilhas luminosas para as espécies mais frequentes no Experimento 3.

Em todo o experimento foram encontradas 16 espécies de flebotomos do gênero *Lutzomyia*: *Lutzomyia brasiliensis* (0,37%), *L. cavernicola* (1,84%), *L. evandroi* (4,28%), *L. goiana* (0,24%), *L. intermedia* (6,4%), *L. ischinacantha* (6,61%), *L. lenti* (7,6%), *L. longipalpis* (37,21%), *L. longipennis* (0,12%), *L. minasensis* (0,24%), *L. peresi* (0,5%), *L. quinquefer* (4,65%), *L. renei* (24,6%), *L. sallesi* (5,02%), *L. sordellii* (0,24%) e *L. termitophila* (0,12%). Não foram capturadas três espécies registradas no segundo experimento, *L. capixaba*, *L. lutziana* e *L. serrana*.

As análises que serão realizadas a seguir foram feitas retirando-se todas as armadilhas instaladas na casa 10, devido ao problema já relatado. A Tabela 9 mostra as espécies mais abundantes durante a execução do experimento, sendo elas *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia*. A espécie *L. longipennis* não é mostrada na Tabela 9 porque esta espécie foi capturada somente na casa 10 (1 fêmea capturada na armadilha iscada com ácido capróico). Na Tabela 10 são mostradas as porcentagens de machos, fêmeas e do somatório dos sexos capturados por armadilha para aquelas espécies mais abundantes.

Tabela 9: Espécies do gênero *Lutzomyia* spp. capturadas em peridomicílio, na localidade de Brejo do Mutambal, em armadilhas luminosas CDC (modelo HP) entre os dias 02/05/2005 a 06/05/2005.

Espécies	CAIROMÔNIOS UTILIZADOS										Total
	Controle		Ácido láctico		Ácido capróico		Amônia		BG Mesh Lure®		
	Sexo		Sexo		Sexo		Sexo		Sexo		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
<i>L. longipalpis</i>	13	4	19	4	21	10	27	12	35	11	156
<i>L. renei</i>	5	5	7	16	11	25	8	22	4	13	116
<i>L. lenti</i>	3	2	5	7	1	4	6	3	9	3	43
<i>L. intermedia</i>	4	0	3	5	4	2	4	3	4	6	35
<i>L. sallesi</i>	4	3	0	5	2	3	1	6	0	4	28
<i>L. quinquefer</i>	1	4	2	1	2	5	4	2	5	4	30
<i>L. evandroi</i>	3	2	2	3	0	4	6	2	4	1	27
<i>L. ischinacantha</i>	3	0	4	0	5	1	6	3	2	0	24
<i>L. cavernicola</i>	0	0	1	0	0	2	0	1	0	1	5
<i>L. peresi</i>	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	4
<i>L. goiana</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
<i>L. minasensis</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2
<i>L. sordellii</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2
<i>L. brasiliensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>L. termitophila</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Total geral	36	20	44	42	47	59	62	58	63	45	476

Tabela 10: Total de captura e porcentagem das espécies *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia* em cinco noites utilizando armadilhas luminosas controle, com a formulação de cairomônios BG Mesh Lure® e com os compostos individualizados (ácido láctico, ácido capróico e amônia) instaladas em peridomicílio, entre os dias 02/05/2005 e 06/05/2005 em Brejo do Mutambal, MG.

CAIROMÔNIOS UTILIZADOS Sexo (%)	ESPÉCIES				Total ♀♂ (%)
	<i>L. longipalpis</i>	<i>L. renei</i>	<i>L. lenti</i>	<i>L. intermedia</i>	
Controle					
♂	13 (76,5)	5 (50,0)	3 (60,0)	4 (100,0)	25 (71,6)
♀	4 (23,5)	5 (50,0)	2 (40,0)	0 (00,0)	11 (28,4)
♀♂	17 (47,2)	10 (27,8)	(13,9)	4(11,1)	36 (100)
Ácido láctico					
♂	19 (82,6)	7 (30,4)	5 (41,7)	3 (37,5)	34 (48,1)
♀	4 (14,7)	16 (69,6)	7 (58,3)	5 (62,5)	32 (51,9)
♀♂	23 (35,8)	23 (34,8)	12 (18,2)	8 (12,1)	66 (100)
Ácido capróico					
♂	21 (67,7)	11 (30,6)	1 (25,0)	4 (57,1)	37 (45,1)
♀	10 (32,3)	25 (69,4)	4 (75,0)	2 (42,9)	41 (54,9)
♀♂	31 (39,7)	36 (46,2)	5 (5,1)	6 (9,0)	78 (100)
Amônia					
♂	27 (69,2)	8 (26,7)	6 (66,7)	4 (57,1)	45 (54,9)
♀	12 (30,8)	22 (73,3)	3 (33,3)	3 (42,9)	40 (45,1)
♀♂	39 (45,9)	30 (35,3)	9 (10,6)	7 (8,2)	85 (100)
BG Mesh Lure®					
♂	35 (76,1)	4 (23,5)	9 (75,0)	4 (40,0)	52 (53,7)
♀	11 (23,9)	13 (76,5)	3 (25,0)	6 (60,0)	33 (46,3)
♀♂	46 (59,0)	17 (21,8)	12 (15,4)	10 (12,8)	85 (100)

Antes da conversão dos dados brutos de capturas das espécies mais abundantes para a Média de Williams (LOG X+1), mas já desconsiderando as armadilhas instaladas na casa 10, foram realizadas a análise estatística para *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia*, para observar se havia diferença significativa destas para os diferentes tratamentos. Não houve diferença significativa para nenhuma dessas espécies de flebotomíneos (Kruskal-Wallis, *L. longipalpis*: p= 0,663; *L. renei*: p= 0,247; *L. lenti*: p= 0,531 e *L. intermedia*: p= 0,911).

Como aconteceu no experimento 1 e 2 para a espécie *L. longipalpis*, houve maior porcentagem de captura de machos em todas as armadilhas quando comparadas com a presença de fêmea. Para *L. renei* as fêmeas tiveram maior porcentagem de captura, sendo que para *L. intermedia* isso aconteceu somente para as armadilhas iscadas com BG Mesh Lure[®]. Pela primeira vez *L. lenti* representa uma das espécies mais abundantes com maior porcentagem de captura para machos, exceto nas armadilhas iscadas com ácido láctico na qual o número de fêmeas foi semelhante ao número de machos.

As respostas das espécies mais abundantes às iscas utilizadas nas armadilhas luminosas podem ser observadas na Figura 47. As respostas de machos e fêmeas destas espécies, a estas mesmas iscas, são mostradas na Figura 48.

Lutzomyia longipalpis

A média de respostas desta espécie pode ser observada na Figura 47. O número médio de machos capturados em todas as armadilhas foi significativamente superior ao de fêmeas (Mann-Whitney, p< 0,05; p= 0,0009). O número de *L. longipalpis* foi maior para os atraentes quando comparados ao controle. Dentre os cairomônios a formulação completa do BG Mesh Lure[®] teve uma captura superior quando comparada a todos os tratamentos (compostos individualizados) e que o controle.

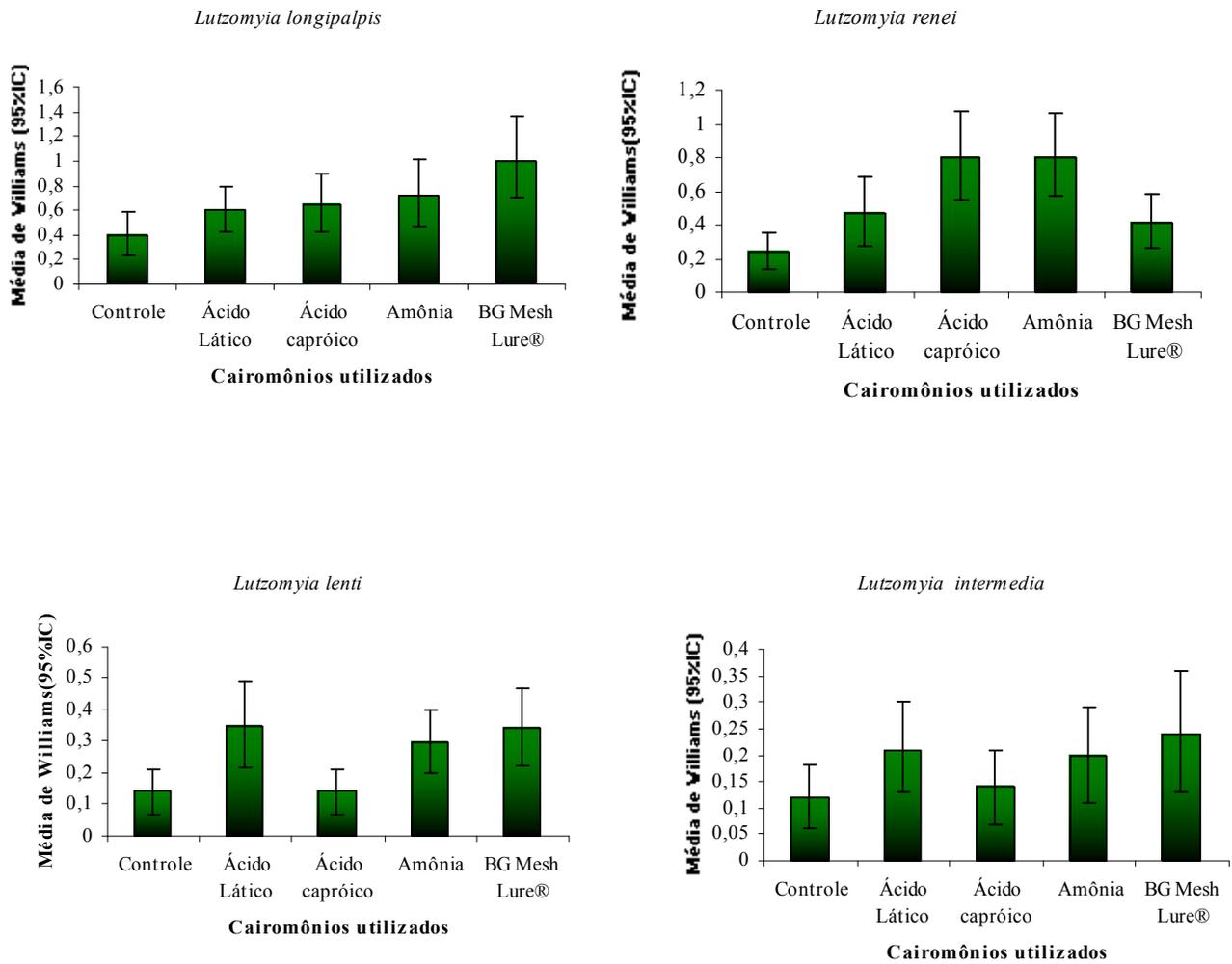


Figura 47: Média de Williams (95%IC) das espécies *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas CDC: controle e iscadas com ácido láctico, ácido capróico, amônia e BG Mesh Lure® durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG.

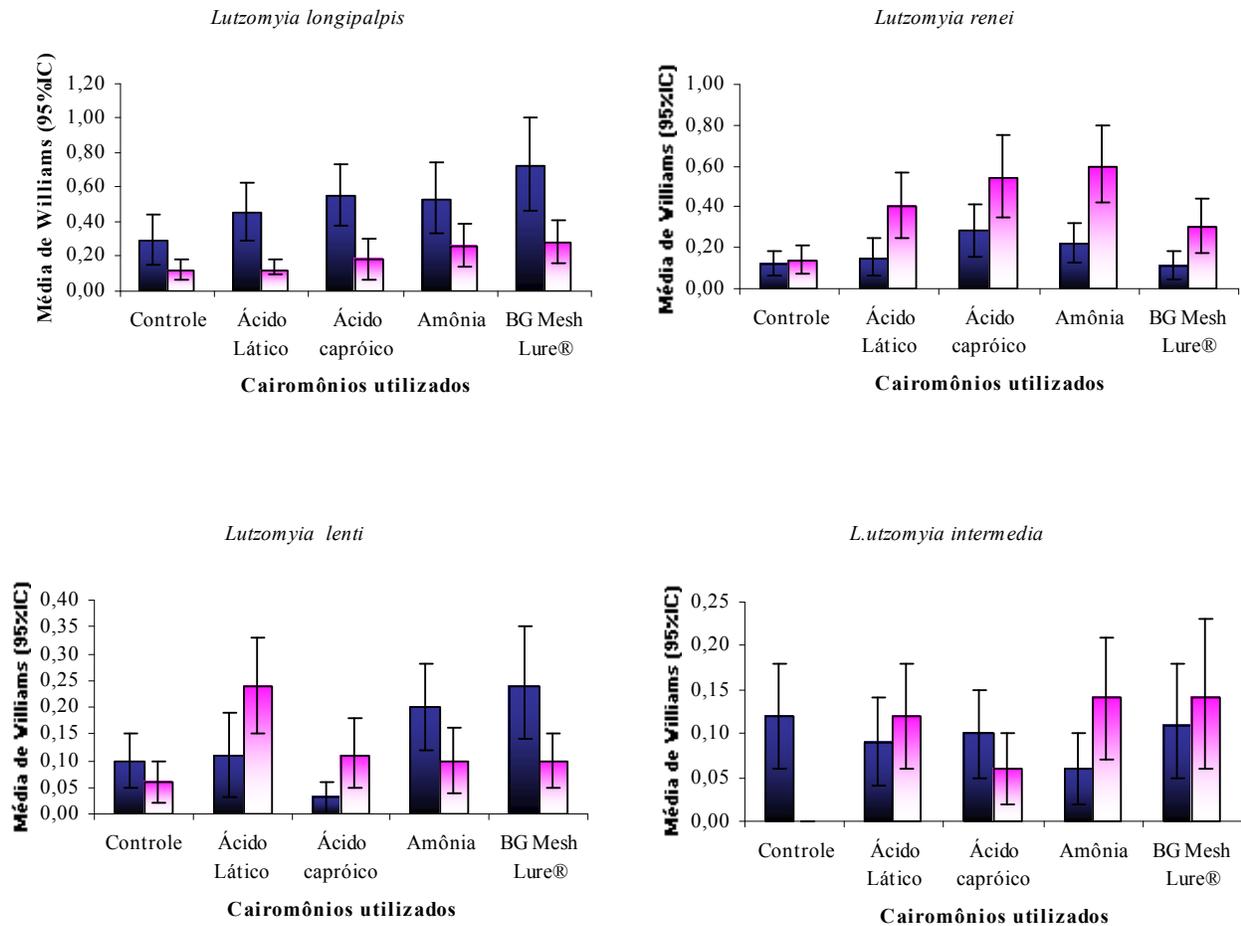


Figura 48: Média de Williams (95%IC) de machos e fêmeas das espécies *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. intermedia* capturadas em armadilhas luminosas CDC: controle e iscadas com ácido lático, ácido caprótico, amônia e BG Mesh Lure® durante as cinco noites de captura realizado em Brejo do Mutambal, MG (■ = machos; ■ = fêmeas).

Entretanto, o número médio de machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,512$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,737$) desta espécie capturados pelas armadilhas não diferiu estatisticamente entre si.

Lutzomyia renei

A presença de machos e fêmeas nas armadilhas controle foi similar, porém nas outras armadilhas o número de fêmeas foi superior ao número de machos, com uma maior resposta destas para a amônia. Machos responderam em maior quantidade ao ácido capróico (Fig. 48). Não houve diferença estatística significativa entre a captura dos sexos (Mann-Whitney, $p > 0,05$; $p = 0,0749$), porém essa diferença não foi observada para machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,642$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,157$) de *L. renei* quando comparadas as armadilhas entre si.

A maior média de captura de *L. renei* se deu para as armadilhas iscadas com ácido capróico e amônia. Assim como aconteceu para *L. longipalpis*, todas as armadilhas na presença dos atraentes apresentaram média de captura superior ao controle.

Lutzomyia lenti

Este é o primeiro momento em que esta espécie aparece como mais abundante, em relação às outras espécies, embora ainda em números reduzidos e a resposta desta espécie aos cairomônios pode ser observada na Figura 47.

A média total de capturas para as armadilhas controle foi inferior àquelas observadas para as que tinham como fonte de atração além da luz os atraentes. Excetua-se nesse caso as armadilhas iscadas com ácido capróico, onde essa média de captura foi semelhante ao controle. Nas armadilhas iscadas com ácido láctico e ácido capróico a média de captura de

fêmeas foi superior a de machos, no entanto o inverso aconteceu para as armadilhas iscadas com amônia e BG *Mesh Lure*[®]. Diferentemente do que aconteceu para as espécies *L. renei*, onde as capturas foram maiores em armadilhas iscadas com ácido capróico e amônia e *L. longipalpis*, quais foram mais capturadas em armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®], uma maior média de captura de *L. lenti* se deu para armadilhas iscadas com ácido láctico. Quando comparadas as médias de capturas de machos e fêmeas nas armadilhas não foi observada diferença estatística significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$; $p = 0,9522$) e nem mesmo entre a captura de machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,221$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,222$) entre os tratamentos.

Lutzomyia intermedia

As respostas desta espécie às armadilhas podem ser observadas na Figura 47. Após a exclusão da casa 10, não foi observada captura de fêmeas de *L. intermedia* nas armadilhas controle, sendo que a média de captura de machos no controle foi superior às observadas nas outras armadilhas. A maior média de capturas ocorreu em armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] onde a captura de fêmeas foi superior a de machos. A média de capturas de machos foi maior que a de fêmeas somente nas armadilhas iscadas com ácido capróico. Quando comparada a captura dos sexos da espécie, a mesma não foi estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$; $p = 0,7307$) e também essa diferença não foi observada para machos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,945$) e fêmeas (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$; $p = 0,314$) capturadas nas armadilhas quando comparadas entre si.

4. DISCUSSÃO

4.1 - Testes preliminares em laboratório para avaliação do composto octenol em campo.

4.1.1 – Avaliação das taxas de evaporação do octenol

Os resultados mostraram que o uso de polímeros de polietileno e silicone para liberação do octenol não foi muito eficiente no que se refere à constância de evaporação do composto octenol, a qual seria importante para o liberador de cairomônios nas armadilhas em campo. Nas mangueiras achatadas transparentes e pretas, embora esta constância de liberação tenha ocorrido ao sétimo dia para ambas, esta evaporação se manteve muito reduzida não atendendo as taxas propostas para o trabalho. Além disso, nos polímeros pretos, foi observado alteração no odor produzido pelos atraentes sintético, o que provavelmente foi devido a uma reação química entre o cairomônio (octenol) e o polímero do liberador.

Nos liberadores confeccionados de mangueiras de polietileno pretas de 10 e 15 cm, foi notada a interferência do tamanho e conseqüentemente da área do liberador na taxa de evaporação, ou seja, quando maior o comprimento maior a perda de atraente. Para estes sistemas a perda de octenol foi de aproximadamente 1 mg/h para ambos. Esse aumento na evaporação foi devido provavelmente a largura dos liberadores. O mesmo não se pôde inferir sobre a cor dos polímeros, uma vez os sistemas descritos na metodologia (2.5.2.1) e representados pelas letras B, C, D e E, foram observados a mesma temperatura (ambiente) e iguais condições de luminosidade e umidade. Porém supõe-se que os pigmentos misturados ao polímero possa ter interferido na taxa de evaporação do octenol.

Ainda foi observado que nas mangueiras pretas de polietileno a taxa de evaporação foi ligeiramente maior que as transparentes. Tubos ou cápsulas de polietileno e silicone são utilizados como liberadores de feromônios iscando-se armadilha para a captura de alguns insetos considerados praga na agricultura, como os lepidópteros *Cydia molesta* (L.),

Rhyacionia frustrana, *Adoxophyes orana* e alguns dípteros como *Rhagoletis pomonella* e *Hylemya antiqua* (WEATHERSTON, 1989 *apud* JUTSON & GORDON, 1989). É citado pelo Manual de Treinamento para Controle de Tsé-Tsé (FAO, 1992) que tubos de polietileno têm sido utilizados como liberadores de misturas secundárias de fenol e octenol, porém com o passar do tempo esse material torna-se enrijecido o que altera a evaporação dos compostos. Já sachês confeccionados com filmes de polietileno (125-175 μ m) são bons liberadores, pois se observa uma taxa razoavelmente constante de evaporação do octenol (FAO, 1992). Ainda segundo este Manual sachês de polietileno de 5 X 4cm proporcionam uma evaporação de 0,5mg/h do atraente dependendo da temperatura.

A estimativa feita entre a diferença dos pesos finais e iniciais de sistemas confeccionados para liberação de atraentes, podem ser mascaradas quando se trabalha com um composto higroscópico. Como foi referido por ZADA *et al.* (2002) a perda de peso de um sistema de liberação não determina a perda de um feromônio a ser testado, pois em adição a esta perda deve-se levar em conta a absorção de umidade e a agregação de poeira no material, o que provavelmente ocorreu nos valores de pesos médios de octenol em mangueiras de polietileno, nos três primeiros dias, mostrados nas Figuras 20 a 29.

A vantagem dos liberadores de vidro, por exemplo, para octenol, é o fato de se conseguir altas taxas de evaporação, o qual é difundido por um septo de borracha (FAO, 1992). Contudo o uso destes como liberadores de atraentes é uma alternativa experimental, porém pouco prática para aplicação em larga escala. No trabalho de VAN ESSEN (1994) liberadores de vidro de octenol sofreram influência de temperatura e velocidade do vento, os quais interferiram nas taxas de evaporação do composto. As taxas de liberação obtidas no presente trabalho confirmam os resultados encontrados pelo autor onde foi observado que em médias de temperaturas de 26 \pm 3 $^{\circ}$ C (Fig. 32 e 34) a taxa de evaporação do octenol é maior que em temperaturas de 20 \pm 1,5 $^{\circ}$ C (Fig. 28). Comparando-se as Figuras 33 e 35 os resultados

sugerem que também nos liberadores com taxas de evaporação maiores a influência da temperatura foi mais acentuada.

Na Tabela 2 são mostradas as taxas de evaporação do octenol obtidas em laboratório, e pode ser notado que mesmo com o intuito de atingir taxas de 5, 15 e 30 mg/h, as mesmas foram de $4,6 \pm 0,3$; $13,03 \pm 1,8$ e $22,7 \pm 3,3$ mg/h para os liberadores de vidro, as quais foram utilizadas como taxas de evaporação do cairomônio nas armadilhas luminosas. Como estas taxas foram obtidas somente durante 12 horas, os liberadores foram trocados a cada noite de experimento.

Um bom liberador deveria permitir uma perda de odor através de uma taxa constante tão longa quanto durasse o líquido ou sólido em seu interior. Além disso, deveria ser suficientemente eficaz para uso em campo por um longo período de tempo mesmo sobre condições adversas de temperatura, umidade e velocidade do vento (FAO, 1992).

A taxa de evaporação de octenol de 0,5 mg/h já foi usada para a captura de flebotomíneos (CAMERON *et al.*, 1991) e de moscas do gênero *Glossina* spp. (FAO, 1992).

4.2 - Inferências ecológicas para as espécies mais abundantes durante a condução dos três experimentos

Lutzomyia intermedia tem distribuição ampla nas cinco regiões brasileiras, podendo habitar florestas, áreas marginais, anexos de animais domésticos e paredes externas e internas do domicílio humano. Juntamente com *L. migonei* são consideradas as espécies mais adaptadas aos ambientes que sofreram intensa ação antrópica, ocorrendo pouco em ambiente silvestre, considerando-se os flebotomíneos transmissores de LTA. Pode-se dizer que *L. intermedia* é uma espécie com grande capacidade de adaptação aos ambientes modificados

pelo homem. Sua presença está associada ao cultivo de banana, e nas Regiões Sudeste e Sul sua captura em áreas florestais é praticamente nula (AGUIAR *et al.*, 1987).

A espécie de flebotomíneo *L. intermedia* foi capturada em maior abundância nos experimentos 1, 2 e 3, representando 36,8%, 18% e 6,4% do total de cada experimento, respectivamente. Embora, onde ocorra, *L. migonei* a mesma apresente altos índices de captura em área de LTA, foi encontrado apenas um indivíduo macho no experimento 1. SOUZA *et al.* (2002) estudando a sazonalidade de *L. intermedia* no Estado do Rio de Janeiro observaram que a maior densidade da espécie ocorre nos meses quentes do ano com temperaturas abaixo de 25°C, porém foi observado em Brejo do Mutambal, comparando-se os experimento 2 e 3 que, médias de temperaturas de 20,5±3,5 não possibilitaram uma captura de *L. intermedia* superior a médias de temperatura de 24,3±4,1°C, diferindo do encontrado pelos autores, embora as variações entre estas temperaturas não sejam elevadas.

O aumento da população de vetores da LTA tem como fatores favoráveis a umidade e as temperaturas elevadas, tendo implicação direta com risco de infecção numa determinada região. No Norte de Minas, especificamente em Brejo do Mutambal, o clima é quente e úmido, o relevo apresenta declives (boqueirões), fontes de alimento em peridomicílios (galinhas, porcos e cães) e outros parâmetros ecológicos (cavernas), fatores estes que determinam a distribuição e a possível ocorrência do ciclo da doença, na região, como já observado por LEMOS & LIMA (2005) na cidade de Uberlândia (MG). Estes autores realizaram capturas de flebotomíneos em áreas de transmissão de LTA, utilizando armadilhas de Shannon e CDC e observaram que entre as oito espécies de flebotomíneos, *L. intermedia* representou 99,9% do total o que foi devido a grande alteração do ambiente, como cultivo de bananeiras sendo o principal motivo para a abundância dessa espécie nas coletas.

Por Brejo do Mutambal se tratar de área endêmica de LTA e por ter sofrido ação do homem através de agricultura de subsistência e instalação indevida em criadouros naturais de

flebotomíneos, o presente trabalho corrobora, também, os outros autores (AGUIAR *et al.*, 1996; FERREIRA *et al.*, 2001; DIAS *et al.*, 2003; BARATA *et al.*, 2004) onde *L. intermedia* está sempre entre as mais capturadas.

AGUIAR *et al.* (1996) trabalhando com ecologia de flebotomíneos da Serra do Mar (RJ) demonstraram que esta espécie não ocorre em área de floresta, porém uma grande quantidade foi capturada, utilizando armadilhas luminosas (Modelo Falcão, de Disney e de Damasceno) em peridomicílio (78,9%) em comparação ao intradomicílio (21,1%). Houve uma diferença estatística significativa entre a captura de *L. intermedia* para área de mata e peridomicílio durante a execução do experimento 1, com predominância desta espécie na primeira biota. No trabalho realizado por MENESES *et al.* (2002) armadilhas luminosas CDC atuaram na captura de *L. intermedia* em área florestal, embora o número de indivíduos tenha sido menor que em outros habitats, incluindo interior de casas e áreas extradomiciliares. Estes resultados, segundo os autores, confirmam o hábito hematofágico eclético da espécie onde estão sempre associadas com humanos e mamíferos domésticos e silvestres. O número de flebotomíneos da espécie *L. intermedia* capturados em área de mata (área marginal) durante o experimento 1, em Brejo do Mutambal, confirma essa distribuição pois o contato indireto com o homem (ausência de casa e animais domésticos) possibilitou maior captura desta neste ecótopo. FERREIRA *et al.* (2001), observando a distribuição de flebotomíneos em diferentes altitudes em uma área endêmica de LTA do Espírito Santo, coletaram em armadilhas de Shannon, CDC e isca humana, 13.363 espécimes, sendo *L. intermedia* a espécie mais abundante (24,3% do total) onde a frequência desta diminui com o aumento da altitude, coincidindo com a distribuição dos casos de LTA. *Lutzomyia intermedia* foi a espécie mais abundante no principal foco de LTA do Espírito Santo e outros estados do sudeste brasileiro, provando as evidências do papel dessa espécie na transmissão de *L. braziliensis*.

Este trabalho confirma novamente que a espécie *L. intermedia* pode ser o vetor primário e em potencial da doença na região de Brejo do Mutambal, frente a outras espécies, *L. migonei* e *L. whitmani* já relatadas na região por DIAS *et al.* (2003), uma vez que *L. migonei* não foi abundante e *L. whitmani* não foi encontrada na condução dos experimentos.

Devido a este comportamento eclético de hematofagia e a capacidade de frequentar diferentes *habitats*, como foi observado no experimento 1, LIMA (1986) sugere que *L. intermedia* possui uma pré-adaptação a dois elementos essenciais na existência de uma espécie: o alimento e o ambiente no qual precisa circular para exercer suas funções vitais.

Outra espécie de grande importância médica e veterinária, por ser comprovadamente a transmissora de LV nas Américas (FORATTINI, 1973), encontrada em Brejo do Mutambal foi *L. longipalpis*, com 17,8%, 19,7% e 37,1% do total de flebotomíneos encontrados nos experimentos 1, 2 e 3, respectivamente.

Diferentemente do que aconteceu para a espécie *L. intermedia*, no experimento 1, *L. longipalpis* foi capturada em maior quantidade em peridomicílio. Segundo GRIMALDI *et al.* (1989) a densidade populacional de *L. longipalpis* varia muito de acordo com o nicho ecológico e com as estações do ano, como já mostrado por RESENDE *et al.* (2006) em Belo Horizonte (MG) e por REBÊLO (2001) em São Luís (MA), sendo esta última uma variável importante na transmissão da doença. Embora Brejo do Mutambal não seja área endêmica de LV, médias de temperatura de 28°C e de umidade de 70% foram registradas, o que provavelmente permitiu uma captura superior da espécie, como já foi demonstrado por REBÊLO (2001) onde a grande densidade deste flebotomíneo é maior em temperaturas e umidades semelhantes ou superiores às citadas.

XIMENES *et al.* (1999), demonstrando a densidade de flebotomíneos em abrigos de animais domésticos e silvestres no Estado do Rio Grande do Norte através de captura por aspiração e armadilhas luminosas CDC, observaram que *L. longipalpis* é uma espécie eclética

quanto à escolha de seus hospedeiros com uma certa preferência alimentar por cavalos, tatus (*Euphractus sexcintus*), galinhas e preás (*Galea spixii*), respectivamente.

Lutzomyia longipalpis alimenta-se em numerosas espécies de aves e mamíferos, incluindo o homem, cães e raposas, sendo as últimas reconhecidas fontes de infecção (DEANE, 1956 *apud* LAINSON & RANGEL, 2003). No ambiente peridomiciliar muitos focos de flebotomíneos são mantidos próximos a galinheiros, onde as aves tornam-se alvos de repastos sangüíneos consecutivos, mantendo-se aí o ciclo do inseto. A exclusão das repetições da casa de número 10 do terceiro experimento justifica-se por isto, uma vez que foram encontrados 109 indivíduos da espécie em uma única noite de coleta.

Dentre as espécies encontradas em maior abundância durante a realização dos experimentos destacaram-se, também, *L. quinquefer*, *L. renei*, *L. lenti* e *L. sallesi*. Estas quatro espécies foram encontradas nos três experimentos em maior ou menor quantidades.

Lutzomyia quinquefer é uma espécie encontrada comumente em troncos e raízes tubulares de árvores, fendas de rochas e também em anexos de animais domésticos (galinheiros, chiqueiros, currais) (AGUIAR & MEDEIROS, 2003), se tratando, embora não exclusivamente, de uma espécie silvestre. Entretanto não houve diferença estatística significativa para a captura desta espécie nas duas biotas (peridomicílio e área de mata) trabalhadas no experimento 1, mostrando que a mesma se distribui uniformemente em ambas. Na execução do experimento 2, onde as armadilhas estavam instaladas em peridomicílio, *L. quinquefer* representou uma porcentagem de captura de 27,1%, sendo esta superior a *L. longipalpis* (19,7%) e *L. intermedia* (18%), provando a capacidade desta espécie silvestre de freqüentar áreas peridomiciliares. Não há registros de transmissão de agentes etiológicos causadores de doenças em animais ou no homem por fêmeas de *L. quinquefer*.

GALATI *et al.* (1996) trabalhando com levantamento de fauna de flebotomíneos em área de LTA no Estado de Mato Grosso do Sul, em 16 coletas com isca humana, notaram a

presença de fêmeas dessa espécie, embora pouco representativa (0,2%). Estas foram dissecadas, porém nenhuma forma flagelada foi encontrada.

Segundo YOUNG & DUNCAN (1994) *L. quinquefer* pertence a grupos de flebotomíneos, que provavelmente alimentam-se de sangue frio (lagartos, serpentes e anuros), portanto a possível presença desta espécie nas iscas humanas parece acidental (GALATI *et al.*, 1996). Outros trabalhos com levantamento de fauna de flebotomíneos realizados no Brasil têm registrado a presença desta espécie. ANDRADE FILHO *et al.* (1997) utilizando armadilhas New Jersey capturaram um número significativo de *L. quinquefer*, estando a espécie menos representativa que *L. intermedia* e *L. whitmani*, incriminados como vetores primários de *L. braziliensis*. No Estado do Espírito Santo FERREIRA *et al.* (2001) demonstraram que *L. quinquefer* não se mostrou uma espécie abundante quando capturadas com armadilha luminosas do tipo CDC e Shannon, sendo que o mesmo pôde ser observado, em capturas por armadilhas CDC para esta espécie de flebotomíneo, em peridomicílio e intradomicílio, na área urbana de Belo Horizonte, MG (SOUZA *et al.*, 2004). BARATA *et al.* (2004) realizando captura de flebotomíneos utilizando armadilhas CDC em Porteirinha (MG), área considerada endêmica de LV, registraram a presença da espécie, embora em baixa quantidade quando comparada a *L. lenti*, *L. longipalpis*, *L. migonei*, *L. sallesi* e *L. intermedia*. Em Brejo do Mutambal *L. quinquefer* já foi registrada, estando a mesma menos representativa que *L. longipalpis*, *L. renei*, *L. intermedia*, *L. ischnacantha* (DIAS *et al.*, 2003). No experimento 2, *L. quinquefer* foi a espécie mais capturada quando comparada com *L. intermedia* e *L. longipalpis*, não corroborando os trabalhos anteriormente feitos com levantamento de fauna no Brasil, Minas Gerais ou no Norte de Minas.

Embora não tenha importância na veiculação de agentes etiológicos causadores de doenças em animais endotérmicos, vale ressaltar a grande quantidade de indivíduos de *L.*

quinquefer capturados nos experimentos 1 e 2, em uma porcentagem de 27,1% e 9,44%, respectivamente.

Lutzomyia renei é uma espécie encontrada comumente em fendas de rochas (AGUIAR & MEDEIROS, 2003), a qual é endêmica das regiões Centro-Oeste e Sudeste, com registros para Minas Gerais (DIAS *et al.*, 2003, BARATA *et al.*, 2004). Segundo MARTINS *et al.* (1957) está presente em grutas calcárias que é seu biótopo natural. A presença desta espécie em Brejo do Mutambal provavelmente é devido a grande formação rochosa que circunda o lugarejo. Em sua localidade tipo, a Gruta da Lapinha, Lagoa Santa (MG), esta espécie está presente durante todo ano, sendo observada uma redução durante o inverno. A atividade máxima destes insetos é registrada nas horas pós-crepusculares, decrescendo após as 22:00 horas. Pica avidamente o homem tanto em campo como em laboratório, alimentando-se também sobre cães e galinhas havendo, porém, uma predileção pela isca humana (SHERLOCK, 1957), embora não seja conhecido, até o presente momento, se esta espécie é um vetor natural de *Leishmania* spp.. Embora se trate de uma espécie com poucos estudos em campo e de poucos relatos na literatura, foi observado que assim como *L. intermedia*, no experimento 1, *L. renei* é mais abundante em área de mata que em peridomicílio. Este achado permite inferir que *L. renei* é uma espécie com capacidade de freqüentar diferentes nichos, eclética quanto ao repasto sangüíneo (oportunista) e encontra-se em processo de “domiciliação” assim como *L. intermedia*, embora mantenha hábitos silvestres como *L. quinquefer*.

A espécie *L. sallesi* esteve entre as mais abundantes somente no experimento 1, somando 4% do total. Possui registros para as cinco regiões do Brasil e pode ser encontrada sobre troncos de árvores, raízes tubulares e no interior de ocos de caules como *L. quinquefer*; em fendas de rochas e grutas como *L. renei*; e anexos de animais domésticos e paredes internas e externas de domicílio humano como *L. longipalpis* e *L. intermedia* (AGUIAR &

MEDEIROS, 2003), o que mostra a diversidade de habitats da espécie. *Lutzomyia sallesi* teve uma captura semelhante para área de mata e peridomicílio como aconteceu para *L. quinquefer*, embora aquela tenha sido encontrada em maior quantidade em peridomicílio. SOUZA *et al.* (2004) e RESENDE *et al.* (2006) já relataram a presença da espécie *L. sallesi* inclusive para áreas urbanas, como Belo Horizonte, porém não foi encontrada a espécie em área endêmica de LV em Minas Gerais (BARATA *et al.*, 2004), não podendo incriminá-la como mantenedoura do ciclo zoonótico da doença no estado. Capturas manuais realizadas por XIMENES *et al.* (1999) no Rio Grande do Norte em diferentes hospedeiros demonstraram que *L. sallesi* apresentou maiores índices de capturas sobre tatus da espécie *Euphractus sexcintus*, quando comparadas a galinhas e cavalos.

Assim como para *L. renei* os achados ecológicos deste trabalho se mostram importantes para *L. sallesi*. Pode-se dizer a ausência da espécie em área de LV não a incrimina como transmissor da doença. Entretanto onde existe relato de transmissão de LTA a espécie estava presente em área endêmica da enfermidade como já demonstrado por FERREIRA *et al.* (2001) e MENESES *et al.* (2002), em levantamentos de fauna realizados na região Sudeste e agora neste trabalho em Brejo do Mutambal.

Os registros para *L. lenti* se dão em tocas de animais silvestres, anexos de animais domésticos e paredes externas e internas do domicílio humano, sendo uma espécie com ampla distribuição, encontrada nas cinco regiões brasileiras. Esta espécie, assim como *L. intermedia*, *L. evandroi*, *L. migonei*, *L. peresi* e *L. longipalpis*, espécies estas presentes em Brejo do Mutambal, estão em o que pesquisadores da área chamam de “em processo de domiciliação” e, conseqüentemente, com maior adaptação aos ambientes alterados pelo homem. Assim, algumas dessas espécies vivem associadas ao homem e aos seus animais domésticos, porém, ao contrário do comportamento dos culicídeos, os flebotomíneos ainda não podem ser considerados totalmente “domiciliados” (AGUIAR & MEDEIROS, 2003).

Lutzomyia lenti teve uma porcentagem de captura, 7,6% do total, analisada somente no experimento 3, sendo esta maior que a captura de *L. intermedia* (6,4%). No experimento 1, onde as armadilhas estavam instaladas em área de mata e peridomicílio o número de capturas foi de 62 indivíduos. No experimento três, com armadilhas instaladas somente em peridomicílio esse número também foi de 62, o que pode confirmar o proposto por AGUIAR & MEDEIROS (2003).

GALATI *et al.* (1996) relatam que *L. lenti* é muito freqüente em chiqueiros, embora possa ser encontrada também em galinheiros e vegetação do tipo cerrado, realizando capturas com armadilhas CDC. Embora *L. lenti* pareça não ter nenhuma implicação na veiculação de parasitos para o homem, pois não foi assinalada em capturas com isca humana e a sua ocorrência em armadilhas de Shannon foi pouco expressiva. Os dados apresentados falam a favor de uma certa preferência por suínos e aves. Vale ressaltar que estes autores trabalharam em vegetação (cerrado) semelhante à encontrada no Norte de Minas, onde outros trabalhos também registraram a espécie (DIAS *et al.*, 2003, BARATA *et al.*, 2004), bem como os achados deste projeto em Brejo do Mutambal.

XIMENES *et al.* (1999) utilizando armadilhas CDC mostram que a preferência de habitat para *L. lenti* foi tocas de roedores e tatus em ambiente silvestre. No trabalho de ANDRADE FILHO *et al.* (2001), realizado em Terezina (PI) pôde ser observado que *L. lenti* e *L. longipalpis* se mostram como espécies ecléticas, sendo encontradas em casas, fendas de rochas e florestas.

4.3 - Experimento 1 - Avaliação da dose resposta do octenol, em campo, para a captura de flebotomíneos em dois ecótopos (mata e peridomicílio)

Trabalhos de campo com flebotomíneos de comportamento crepusculares ou noturnos, visando observar sua resposta visual, são pouco conhecidos embora se saiba que ambos os sexos sejam atraídos por luz artificial emitidas por armadilhas, como a CDC. (SUDIA & CHAMBERLAIN, 1962 *apud* MELLOR *et al.* 1996). A baixa condição luminosa e, conseqüentemente, a menor percepção da luz por estes insetos permite inferir que este estímulo tenha importância secundária para a localização do hospedeiro (GIBSON & TORR, 1999), em relação aos odores produzidos pelos mesmos. De modo geral, a captura com armadilhas luminosas é um método considerado razoável para se obter insetos que estejam voando ao acaso (MATTOS, 1981), ou seja, embora as armadilhas luminosas sejam ferramentas importantes para capturar-se flebotomíneos elas são pouco específicas e maior atratividade é exercida sobre as espécies fototrópicas (MAROLI *et al.*, 1997).

BEAVERS *et al.* (2004) sugerem que estudos avaliando a resposta de espécies de flebotomíneos, de importância médica no Velho e no Novo Mundo, à caïromônios deveriam ser investigadas. O composto octenol é relatado como importante caïromônio na localização do hospedeiro por espécies de dípteros zoofílicos, das famílias Muscidae, Tabanidae, Ceratopogonidae e Culicidae, não havendo evidência para a subfamília Phlebotominae (GIBSON & TORR, 1999), sendo que atualmente se sabe que o caïromônio é um constituinte do odor humano (BERNIER *et al.*, 2000)

De acordo com BERNIER *et al.* (2001) não é muito fácil reproduzir em campo as taxas de liberação de octenol obtidas em laboratório. Quando se obtém as taxas pretendidas deve-se levar ainda em conta o local de instalação destas em campo. Todas as armadilhas utilizadas neste trabalho, controle ou iscadas com octenol, foram instaladas em uma mesma altura (1,50m) e o mais afastas de criadouros de flebotomíneos, como galinheiros e chiqueiros.

Os resultados deste trabalho demonstraram que o gênero *Lutzomyia* em área de mata e em peridomicílio tiveram uma média de captura superior ao controle, para a taxa de evaporação de 5mg/h.

Para o Velho Mundo CAMERON *et al.* (1991) avaliaram em campo a resposta de flebotomíneos, no Sri Lanka, utilizando armadilhas iscadas com octenol (0,5 mg/h) em comparação com armadilhas sem iscas. A única espécie capturada e identificada foi *Phlebotomus argentipes* sendo que cada armadilha capturou o mesmo número de indivíduos. Em outro experimento, os autores demonstraram que sachês contendo octenol e fenol, atraíram maior número de flebotomíneos desta espécie (17 espécimes), do que quando as armadilhas CDC estavam iscadas somente com octenol (6 espécimes).

BEAVERS *et al.* (2004) avaliaram a resposta de flebotomíneos no Egito frente a armadilhas luminosas CDC iscadas com octenol liberado a 15 ± 3 e 99 ± 9 mg/h e demonstraram que fêmeas de *P. papatasi* são mais atraídas por armadilhas luminosas CDC iscadas com CO₂ quando comparadas com octenol sozinho em ambas as taxas. No entanto não foram observadas diferenças significativas quando as armadilhas iscadas com octenol foram comparadas ao controle. Quando iscadas com CO₂, o número de capturas foi significativamente maior do que o controle. Para machos da referida espécie também não foi observada diferença no número destes entre as armadilhas iscadas com octenol e o controle. Os autores demonstraram que o octenol é um cairomônio ineficiente como isca para a espécie *P. papatasi*, mas sugerem que estudos avaliando a resposta de espécies de flebotomíneos de importância médica no Velho e no Novo Mundo à cairomônios, deveriam ser investigadas.

No experimento 1, realizado em Brejo do Mutambal, dentre as espécies mais abundantes, *L. intermedia* foi uma das que apresentou mais fêmeas que machos, a exceção foi *L. longipalpis*, que ocorreu o contrário (Tab. 5), sendo essa diferença de captura por sexo significativa. Este resultado não está de acordo com o observado por MENESES *et al.* (2002)

e SOUZA *et al.* (2002) para a espécie capturada em área extradomicilar ou área silvestre no estado do Rio de Janeiro, assim como também relatado por outros autores realizando capturas em peridomicílio (AGUIAR *et al.*, 1996; SOUZA *et al.*, 2004; BARATA *et al.*, 2004; LEMOS & LIMA, 2005) onde o número de machos sempre foi maior que o número de fêmeas em armadilhas luminosas. Nas armadilhas iscadas com taxas crescentes de octenol o número de fêmeas apresentou uma clara tendência de aumento nas capturas, embora não se tenha detectado diferença estatística entre os tratamentos. Para a mosca tsé-tsé (*Glossina morsitans*) o número de capturas em campo praticamente dobra quando se acrescenta ao odor bovino 0,5 mg/h de octenol e declina quando são usadas taxas entre 50-500mg/h, demonstrando a importância das taxas de liberação dos atraentes (VALE & HALL, 1985). Observou-se no presente trabalho que houve uma média de resposta dose-dependente especialmente para fêmeas da espécie *L. intermedia* de 0,5 a 15 mg/h, porém, esta resposta não aumentou com o incremento da taxa de evaporação do atraente para 30 mg/h (Fig. 40).

Diferentemente do que foi observado para *L. intermedia* o octenol não interferiu no aumento da captura de *L. longipalpis*, pois a média desta espécie capturada na armadilha controle foi superior a todas as médias observadas para as armadilhas iscadas com o cairomônio (Fig. 40). Em campo foi observado que em concentrações menores de evaporação do octenol (0,5 e 5 mg/h) a média de captura foi maior para a espécie, quando comparadas às taxas maiores (15 e 30 mg/h). SANT'ANA *et al.* (2002) mostraram pela primeira vez que fêmeas de *L. longipalpis* podem detectar a presença de octenol em corrente de ar, onde foi observado que quanto maior a concentração do composto, maior foi a resposta eletrofisiológica. A resposta do octenol parece ser espécie-específica, atuando como atraente para algumas espécies e como repelentes para outras (KEMME *et al.*, 1993). Com isso quando observadas as respostas de fêmeas das espécies *L. intermedia* e *L. longipalpis*, aos cairomônios, pode-se inferir em uma possível atração da primeira em relação às taxas de

octenol, embora não se possa afirmar que o cairomônio tenha atuado como repelente para *L. longipalpis*. É importante ressaltar que, segundo GIBSON & TORR (1999) variações promovidas nas associações do octenol bem como da sua quantidade utilizada nas respostas olfativas de diferentes espécies de dípteros podem refletir o uso de taxas de evaporação inapropriadas do odor. Embora o octenol não tenha potencializado a captura da espécie *L. longipalpis*, o número de machos capturados superior ao número de fêmeas corrobora os trabalhos realizados por outros autores (AGUIAR *et al.*, 1996; XIMENES *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2004; BARATA *et al.*, 2004; RESENDE *et al.*, 2006). Nestes trabalhos realizados com o intuito de se conhecer faunas de espécies do gênero *Lutzomyia*, geralmente não são observados se existem diferenças entre as capturas de machos e fêmeas, porém para Brejo do Mutambal, entre as cinco armadilhas avaliadas na captura da espécie *L. longipalpis*, essa diferença foi estatisticamente significativa.

KELLY & DYE (1997) estudando dinâmica de agregação da espécie *L. longipalpis*, demonstraram que machos chegam mais cedo até a isca, provavelmente atraídos pelos odores dos hospedeiros. Mais tarde SPIEGEL *et al.* (2005) mostraram que o feromônio, (1s, 3S, 7R)-3-metil- α -himachaleno não só funciona como atrativo sexual para fêmeas, mas também induz resposta neurofisiológica em machos, importante para agregação desta espécie da população de Jacobina (BA). Sendo assim, embora não se saiba se os feromônios sexuais produzidos por populações do complexo *L. longipalpis* de Minas Gerais, funcionam como feromônios de agregação, como já demonstrados para populações da Bahia, supõe-se que a atratividade de machos por armadilhas luminosas (iscadas ou não) maiores que fêmeas, encontrada neste e em outros trabalhos, tenha importância na evolução co-específica das populações e na conseqüente dinâmica populacional das espécies. Isto porque nas espécies do complexo *L. longipalpis* machos formam “leks” próximos aos seus hospedeiros tanto em

campo quando em laboratório (KELLY & DYE, 1997; JONES, 1997), pelos quais as fêmeas são atraídas (KELLY & DYE, 1997; WARD & MORTON, 1991).

Até o presente momento, não há relato na literatura de captura das espécies *L. longipalpis* e *L. intermedia* em armadilhas luminosas iscadas com octenol, tratando-se assim do primeiro relato deste cairomônio na atratividade destas espécies. As informações a respeito de captura das espécies *L. renei*, *L. quinquefer* e *L. sallesi* em armadilhas iscadas com algum tipo de cairomônio sintético, são ainda mais escassas. Geralmente estas três espécies são relatadas em levantamentos de faunas, ou no caso de *L. renei* como modelo para se montar colônias em laboratórios.

Lutzomyia renei pertence ao subgênero *Lutzomyia*, assim como *L. longipalpis*. Por não ser uma espécie oportunista e apresentar um comportamento alimentar preferencial por outros animais que não o homem, supostamente mostrou uma resposta diferente na captura por armadilhas iscadas quando comparada ao seu grupo irmão. Esta pode ser observada na Figura 40, onde os atraentes permitiram maior captura da espécie quando comparados ao controle, porém sem diferença estatística significativa. No entanto, a média de fêmeas de *L. renei* capturadas foi significativamente maior que a média de machos (Fig. 41).

MENESES *et al.* (2002) através de capturas de flebotomíneos demonstraram que *L. quinquefer*, assim como *L. longipalpis* e *L. intermedia* foram capturadas em armadilhas CDC, Shannon e isca humana em área doméstica, extradomiciliar (agricultura) e área silvestre (remanescentes de Mata Atlântica), com maior captura para o primeiro ecótopo em armadilhas do tipo Shannon. No trabalho, os autores demonstraram que as capturas em armadilhas CDC foram maiores em galinheiros, embora se saiba que *L. quinquefer* se alimenta em animais de sangue frio (DEANE & DEANE, 1957 *apud* ANDRADE FILHO *et al.*, 1997). A atração para estes habitats, pode ser devido a produção de semioquímicos pelas aves (urina, respiração), sem que a mesma fizesse o repasto, em conjunto com a fonte

luminosa. Em todas as armadilhas iscadas com octenol a captura de *L. quinquefer* foi inferior a captura da espécie em armadilhas controle (Tab. 4), o que sugere que a luz exerce atração para estes flebôtomos, sem que haja efeito do cairomônio.

É possível que o octenol não tenha aumentado a captura de *L. quinquefer*, que tem hábito comum de freqüentar casas (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001) quando comparados com cavernas e florestas. Porém esta espécie foi encontrada em peridomicílio, provavelmente mais atraída pela luz do que pela presença de hospedeiros preferenciais e que o inverso tenha ocorrido em área de mata onde não se pode inferir sobre um possível efeito do octenol nestas capturas. No entanto, a sua abundância em área de mata pode ser devida à presença de répteis e anfíbios. Entretanto, fica o registro da presença da espécie nestas áreas marginais não corroborando com o que foi encontrado por ANDRADE FILHO *et al.* (2001), no estado do Piauí, mas confirmando os relatos de MENESES *et al.* (2002) e GALATI *et al.* (1996).

A quinta e última espécie mais abundante no experimento 1 foi *L. sallesi*, que pode ser encontrada nas cinco regiões do Brasil (AGUIAR & MEDEIROS, 2003) e portanto muito freqüente nos levantamentos de fauna (XIMENES *et al.*, 1999; FERREIRA *et al.*, 2001; MENESES *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2004; BARATA *et al.*, 2004; RESENDE *et al.* 2006). No trabalho de MENESES *et al.* (2002) foi coletada exclusivamente em área doméstica, como mostrado no experimento 1, onde ocorre principalmente em peridomicílio. Assim como aconteceu para *L. quinquefer*, as taxas de octenol, aparentemente, não foram efetivas na captura da espécie o que pôde ser devido ao fato de se alimentarem de animais de sangue frio.

De uma forma geral, poucas espécies de mosquitos respondem com grande intensidade ao octenol quando este é apresentado isoladamente (KLINE, 1994). No trabalho realizado por Silva (2003), a autora demonstrou que fêmeas de *A. aegypti* não apresentou respostas eletrofisiológicas às diferentes concentrações do octenol, bem como não houve um padrão de resposta às estas concentrações para este culicídeo em testes comportamentais de olfatometria

e ainda quando associado ao ácido lático ou acetona, em campo, não alterou a captura desta espécie de mosquito, sugerindo que o octenol não é atrativo para o *A. aegypti*. O mesmo já foi demonstrado para espécie do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo (CAMERON *et al.*, 1991; BEAVERS *et al.*, 2004) em campo. Sabendo a eficiência das armadilhas luminosas na captura de espécies de insetos noturnos o octenol não se mostrou como melhor isca na atratividade da maioria dos flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, pois se sabe que para que estes dípteros sejam atraídos por diferentes espécies de hospedeiros, devem responder a caimônios não específicos, como por exemplo, o CO₂. Isto explicaria porque, em muitas espécies de flebotomíneos, a taxa de atração parece aumentar com o tamanho do hospedeiro (QUINNELL *et al.*, 1992; CAMPBELL-LENDRUM *et al.*, 1999).

Foi observado que *L. quinquefer* e *L. sallesi* não apresentaram números médios de capturas para armadilhas iscadas com octenol como *L. renei*. Embora *L. renei* seja uma espécie silvestre, freqüentemente é encontrada sugando animais domésticos e o homem. A maior quantidade de machos em comparação às fêmeas nas armadilhas para *L. longipalpis*, pode ser devido ao fato destes produzirem feromônios responsáveis pela agregação. Isto porquê, de acordo com KELLY & DYE (1997), os feromônios de machos de flebotomíneos e os odores dos hospedeiros (caimônios) funcionam como atraentes para a realização do repasto sangüíneo pelas fêmeas e no conseqüente comportamento de côrte das espécies. A captura de *L. intermedia* é um achado importante uma vez que é uma espécie antropofílica, incriminada como transmissora de LTA.

4.4 – Experimento 2 - Avaliação da formulação de caimônios BG Mesh Lure® e desta associada com a taxa de evaporação do octenol (5 mg/h) na captura de flebotomíneos

Neste experimento foram registradas duas espécies de flebotomíneos que não haviam sido encontradas no experimento anterior: *L. lutziana* e *L. brasiliensis*. Como já demonstrado

por MENESES *et al.* (2002) a primeira espécie ocorreu em ambiente exclusivamente doméstico.

As 15 casas trabalhadas no primeiro experimento foram as mesmas do segundo, portanto o aparecimento das mesmas pode ser devido a uma maior variação na umidade relativa do ar ($67,4 \pm 22,4\%$), uma vez que a média de temperatura quando comparados os experimentos 1 e 2, foram as mesmas ($24 \pm 4^\circ\text{C}$). Dentre as espécies mais capturadas destacam-se *L. quinquefer*, *L. longipalpis* e *L. intermedia*, respectivamente, as quais também já haviam sido reportadas também como mais abundantes no experimento 1. Mais uma vez *L. quinquefer* foi capturada em grande quantidade em peridomicílio como já observado por MENESES *et al.* (2002).

Para a captura do mosquito *A. aegypti* uma nova armadilha denominada BG-Sentinel Trap™ (BGS-Trap) usa a formulação de cairomônios, cujos compostos fazem parte do odor humano (GEIER & EIRAS, 2002). No Brejo do Mutambal, para *L. intermedia*, pôde ser observado que a formulação de cairomônios BG Mesh Lure®, e a associação desta ao octenol (5mg/h), iscadas nas armadilhas capturaram mais indivíduos quando comparadas ao controle. A média de Williams, entretanto, aponta uma diminuição na captura das fêmeas quando o octenol foi associado à formulação. Esses dados são contraditórios com relação ao primeiro experimento.

A BGS-Trap e o atraente BG Mesh Lure® foram testados em campo e os resultados demonstraram que como já observado por BOSCH *et al.* (2000), em laboratório, que o atraente possibilitou uma captura maior de machos e fêmeas de *A. aegypti* quando comparados com outras armadilhas (KRÖCHEL *et al.*, 2006) em Belo Horizonte (MG) e com aspiradores de Nasci, no Estado do Rio de Janeiro (MACIEL-DE-FREITAS *no prelo*). Aparentemente o anteparo “pet”, com o objetivo de direcionar a pluma de odor formada pelo BG Mesh Lure® evidenciou a captura de *L. intermedia*, mais do que quando estava ausente.

Como foi observado o BG *Mesh Lure*[®] não promove uma maior captura da espécie *L. intermedia* e nem mesmo dos sexos da espécie quando comparados ao controle.

Segundo REBOLLAR-TELEZ *et al.* (1999), existe forte evidência que mosquitos usam uma combinação de cairomônios emitidos pelo hospedeiro para discriminar entre os indivíduos. Como relatado a formulação de compostos sintéticos (BG *Mesh Lure*[®]) do odor humano tem apresentado resultados promissores com *A. aegypti*, a qual é composta pelos ácidos láctico, capríco (ácido hexanóico) e por amônia (BOSCH *et al.*, 2000). Apesar disto os autores relatam não saber se flebotomíneos respondem aos semioquímicos como os culicídeos.

Foi demonstrado que *L. quinquefer* não apresenta capturas maiores para as armadilhas luminosas CDC (modelo HP) contendo octenol, quando comparadas às respostas as armadilhas controle. O experimento 2 mostrou que estas armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®] aberto capturou um número maior desta espécie (57), seguida por BG *Mesh Lure*[®] semi-aberto (50). As armadilhas onde se tinham como iscas a formulação de cairomônios associadas com octenol (5 mg/h) capturaram menos que o controle (Fig. 43). Portanto, como já observado no experimento 1, os resultado sugerem que o octenol é um composto inibidor ou repelente para *L. quinquefer*. GALATI *et al.* (1996) já haviam capturado *L. quinquefer* em iscas humanas, no entanto sugerem que a presença desta neste método de coleta seja acidental.

Provavelmente, BG *Mesh Lure*[®] associado a luz, exerça uma atração, principalmente para fêmeas *L. quinquefer*, as quais foram superiores a machos em todas as armadilhas (Fig. 44), com diferença significativa. Essa captura por sexo foi maior para fêmeas também na ausência de octenol. Novamente foi mostrando que a resposta de espécies relatadas como silvestres, mas com capacidade de freqüentar intra e peridomicílio, provavelmente não respondem ao octenol, como machos e fêmeas de espécies consideradas oportunistas. Mais

ainda, os dados apontam uma diminuição nas capturas de *L. quinquefer* quando octenol estava presente indicando, talvez, um efeito repelente para essa espécie. Nos achados de GALLATI *et al.* (1996) em iscas humanas e de MENESES *et al.* (2002) em galinheiros a presença de *L. quinquefer*, embora pouco notória, vem sendo registrada.

Será mesmo que somente a luz exerce atração da espécie? O que aconteceu para espécies hoje oportunistas e incriminadas como vetores de protozoários (*L. intermedia* e *L. longipalpis*), para espécies que se encontram em processo de adaptação a ambientes domésticos (*L. renei*) não poderia vir a ocorrer para *L. quinquefer*? Por um processo de adaptação e evolução esta espécie não poderia vir se alimentar de animais de “sangue quente”, devido ao fato de o homem destruir seu nicho, mudar seu hábito alimentar interferindo neste pequeno ecossistema? Enquanto quebrarmos o equilíbrio ambiental, interferindo nas teias alimentares destes insetos, não só obteremos respostas a estas perguntas como levaremos a adaptação de espécies vetoras de patógenos a mais desequilíbrios sociais e econômicos.

Assim como aconteceu para *L. quinquefer* as armadilhas iscadas com BG Mesh Lure[®] na ausência do octenol, possibilitaram uma média maior de captura de *L. longipalpis* do que quando estas estavam associadas ao octenol (Fig. 43). QUINNEL *et al.* (1992) em experimentos de campo na Ilha de Marajó, demonstraram que *L. longipalpis* são mais atraídas por iscas humanas que por cães e galinhas. Como citado, a possível atração exercida por esses cairomônios iscados nas armadilhas, foi semelhante para as duas espécies, porém quando separados por sexo, uma maior média de captura se deu para os machos de *L. longipalpis* (Fig. 44), a qual apresentou diferença significativa diferentemente do que ocorreu com *L. quinquefer*, onde observou-se uma média de captura maior para fêmeas.

Durante o metabolismo dos hospedeiros, grande número de substâncias químicas voláteis, como CO₂ e ácido lático são liberadas e, provavelmente, cada inseto hematófago tenha se especializado em detectar e utilizar algumas destas substâncias como informação para

a localização do hospedeiro específico (GIBSON & TORR, 1999; EIRAS, 2001). Embora o BG *Mesh Lure*[®] tenha em seus constituintes compostos de odor humano, diferentemente do observado por HAMILTON & RAMSOONDAR (1994), que demonstraram que fêmeas respondem mais significativamente à emissão de odor humano que os machos, a porcentagem de captura, por exemplo de *L. longipalpis* e *L. intermedia*, no experimento 2 foi maior para machos em todas as armadilhas (Tab. 8).

RANGEL & LAINSON, 2003 mostraram que evidências epidemiológicas acumuladas ao longo dos anos têm incriminado *L. intermedia* como transmissor do agente causal de LTA em áreas endêmicas no Sudeste do Brasil, sendo que o protozoário *L. braziliensis* é a principal espécie veiculada pelo inseto (PASSOS *et al.*, 1999). Como já citado anteriormente para os flebotomíneos, *L. intermedia* possui grande capacidade de “domiciliação” e de adaptação aos ambientes modificados pelo homem (AGUIAR *et al.*, 1987).

CAMPBELL-LENDRUM *et al.* (1999) sugerem que *L. intermedia* seja mais endofágica que *L. whitmani*, o que pode ser devido a uma atração maior pela luz, da primeira, em relação a segunda. Ainda segundo os autores a luz pode ser então um estímulo mais forte para que *L. intermedia*, em comparação com *L. whitmani*, entre no interior das residências e pratique hematofagia. MAROLI *et al.* (1997) relatam que armadilhas luminosas iscadas com atraentes para captura de flebotomíneos são importantes para estudos taxonômicos, coleta de material vivo, avaliar-se a densidade e distribuição de espécies e para se avaliar atividades de armadilhas controles. Para *L. intermedia* esse último tipo de investigação das armadilhas iscadas com os atraentes parece não ter funcionado. Como já relatado a espécie desenvolve um fototropismo positivo embora não se possa dizer o mesmo sobre sua quimiotaxia, pois ainda segundo MAROLI *et al.* (1997) as coletas em armadilhas luminosas iscadas com atraentes são seletivas quando uma espécie possui os dois tropismos. Segundo os resultados obtidos *L. intermedia* não mostrou-se uma espécie quimiotrópica ao BG *Mesh Lure*[®] no

experimento 2, podendo-se dizer que a presença da espécie nas armadilhas foi devido a presença de luz e não dos atraentes, BG *Mesh Lure*[®] e octenol.

4.5 - Experimento 3 - Avaliação da resposta de flebotomíneos à formulação de cairomônios *Mesh Lure*[®] e dos compostos que constituem a formulação, iscados na armadilha luminosa.

As discussões referentes a este experimento foram feitas desconsiderando-se as cinco repetições de armadilhas que foram instaladas na casa 10. A diminuição da densidade dos flebotomíneos, provavelmente, em decorrência da queda na temperatura dificultou a interpretação dos resultados para esse experimento.

Todas as armadilhas iscadas com ácido, ácido capróico e amônia capturaram as espécies, incriminadas como transmissoras de leishmaniose, *L. longipalpis* e *L. intermedia* (Tab. 1). É sabido que estes cairomônios produzem plumas de odores que são emitidos pelo suor humano e como já mostrado em laboratório por BOSCH *et al.* (2000), que o sinergismo entre as substâncias promovem atração do mosquito *A. aegypti*, a qual já foi confirmada em campo (KRÖCHEL *et al.*, 2006; MACIEL-DE-FREITAS *no prelo*).

Para as espécies tidas como silvestres (*L. capixaba* e *L. lutziana*) e semidomésticas (*L. termithophila* e *L. serrana*) (BARRETO, 1943 *apud* AGUIAR & MEDEIROS, 2003) não houve registros das mesmas nas armadilhas iscadas com os ácidos láctico e capróico e nem com amônia. A ausência destas espécies nas armadilhas iscadas com estes atraentes pode ser devido ao fato de que estas não se alimentam de sangue humano, ou seja, por possuírem um baixo grau de antropofilia.

Durante a condução dos experimentos 1 e 2 *L. lenti* não aparece como espécie mais abundante, portanto no terceiro experimento a mesma é registrada em maior quantidade que

L. intermedia e *L. quinquefer*, espécies, até então, as quais eram capturadas em maiores quantidades que *L. lenti*. O que aconteceu, entretanto foi uma diminuição na densidade das outras espécies, o que fez com que *L. lenti* se destacasse durante as capturas. GALATI *et al.* (1996) demonstraram uma preferência de *L. lenti* por suínos e aves, ao passo que, AGUIAR & MEDEIROS (2003) citam que *L. lenti* é uma espécie que está em um processo mais adiantado de “domiciliação”.

Lutzomyia longipalpis e *L. lenti* presentes em capturas no Estado do Piauí têm se mostrado ecléticas quanto aos ecótopos de captura (casas, cavernas e florestas) (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001). Dois fatores, todavia, influenciam a “domiciliação” desses insetos: (a) modificações do *habitat* pela ação antrópica; (b) o poder adaptativo das espécies ao novo ambiente. Isso promove o desaparecimento de algumas espécies de flebotomíneos enquanto outras vão se adaptando às novas circunstâncias, como áreas cultivadas (AGUIAR & MEDEIROS, 2003).

Dentre as iscas utilizadas, a formulação de cairomônios BG *Mesh Lure*[®] para *L. longipalpis*, teve uma captura superior não só ao controle, como aos compostos individualizados que fazem parte desta formulação (Fig. 47), embora sem diferença estatística. Embora o CO₂ seja o principal cairomônio liberado pelos vertebrados e utilizado pela maioria dos insetos hematófagos vetores para a localização do hospedeiro (EIRAS, 2001) estudos de laboratório, demonstraram que o suor humano é atrativo para *L. longipalpis* sem a presença de CO₂ (HAMILTON & RAMSOONDAR, 1994; REBOLLAR-TELLEZ *et al.*, 1999). Essa resposta, na ausência de CO₂, foi observada nos experimentos em Brejo do Mutambal como mostradas nas capturas da espécie *L. longipalpis* nas armadilhas iscadas com os cairomônios, principalmente com o BG *Mesh Lure*[®]. Entretanto, a participação de CO₂ na atratividade proveniente de hospedeiros somente foi, recentemente, quantificada em um estudo com seres humanos e espécies de flebotomíneos Neo-Tropicais. PINTO *et al.* (2001)

avaliaram, em situação de campo, a atratividade de um ser humano para *Lutzomyia whitmani* e *Lutzomyia intermedia* comparada com a sua taxa equivalente de CO₂ liberada artificialmente e observaram que, aproximadamente, 45% da atração exercida por todos os odores liberados pelo ser humano foi atribuída ao CO₂.

O ácido láctico é um importante caimônio na atratividade de dípteros hematófagos (PINTO, 2000; EIRAS & JEPSON, 1991; STEIB *et al.*, 2001) e tem seu efeito aumentado quando em combinação com a amônia (GEIER *et al.*, 1999). Estes dois últimos compostos, juntamente com o ácido capróico, fazem parte da formulação de caimônios a qual apresentou eficiência na captura de *A. aegypti* em armadilhas (KRÖCHEL *et al.*, 2006; MACIEL-DE-FREITAS *no prelo*), e o mesmo foi observado, para as médias de capturas de machos e fêmeas de *L. longipalpis*, em campo, através das armadilhas luminosas iscadas com a formulação, com diferença estatística significativa de captura entre os sexos.

Assim como aconteceu para *L. longipalpis*, todas as armadilhas contendo os componentes individualizados do BG *Mesh Lure*[®], apresentaram média de captura superior ao controle para *L. renei* (Fig. 47), porém com uma média de captura maior para armadilhas iscadas com ácido capróico. Isso sugere que embora *L. renei* não seja uma espécie atraída pelo BG *Mesh Lure*[®] como *L. longipalpis*, a mesma responde aos outros caimônios, que provavelmente são importantes na localização do hospedeiro.

Diferentemente do que aconteceu para fêmeas de *L. renei*, onde as médias de capturas foram maiores em armadilhas iscadas com ácido capróico e amônia e para as fêmeas de *L. longipalpis*, a qual foi mais capturada em armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*[®], uma maior média de captura fêmeas de *L. lenti* se deu para armadilhas iscadas com ácido láctico (Fig.47). Em comparação, experimentos de campo na região Norte do Estado do Paraná demonstraram que o ácido láctico apresentou uma certa atratividade para a espécie antropofílica *L. whitmani*. O composto liberado isoladamente capturava mais machos e fêmeas da espécie quando

comparado ao controle (PINTO 2001). Armadilhas iscadas com ácido lático em ambientes naturais não são eficientes na captura de mosquitos, porém tornam-se atrativas com a adição de CO₂, podendo haver um sinergismo entre os dois cairomônios (KLINE *et al.*, 1990).

Mesmo com a ressalva que as capturas de fêmeas de *L. intermedia* foram baixas no experimento 3, nota-se que a média de capturas de fêmeas de *L. intermedia* nas armadilhas iscadas com qualquer um dos atraentes foi superior ao controle onde as mesmas não foram notificadas, após exclusão da casa 10.

Sem dúvida alguma a luz parece ser um fator importante na atração de flebotomíneos de modo geral (com exceção de algumas espécies). O raio de atração da luz em lugares com pouca luminosidade, como foi o local escolhido para as coletas, deve ser maior que o das plumas de odor e, principalmente, menos sujeito às variações climáticas que ocorrem ao longo das noites. Porém, a adição de substâncias químicas às armadilhas parece aumentar as capturas de algumas espécies e essa é uma área que exige mais esforços no sentido de identificar quais seriam essas substâncias.

No presente trabalho foi pela primeira vez observada a resposta de espécies de flebotomíneos a diferentes cairomônios em condições de campo. Dentre eles, o octenol, que embora aparentemente não potencialize a resposta do gênero *Lutzomyia*, como observada para outros flebotomíneos no Velho Mundo, quando iscado em armadilhas luminosas CDC (modelo HP) foi maior para *L. intermedia*, em uma resposta dose dependente, de forma que taxas de liberação do atraente de 15 mg/h seriam, aparentemente, ideais para a captura de fêmeas desta espécie.

Embora saiba-se que CO₂ é o principal cairomônio volátil liberado pelos vertebrados e utilizado pela maioria dos insetos hematófagos vetores para a localização dos hospedeiros (EIRAS, 2001), não é um composto de fácil utilização em campo, onde o manuseio e o custo elevado do sistema com cilindros de liberação dificultam o seu uso em larga escala. Outro

fator limitante na utilização do gás é a sua falta de especificidade, visto que a grande maioria, por exemplo, a maioria dos mosquitos hematófagos é atraída por este composto (EIRAS, 2001), assim como algumas espécies de flebotomíneos (CHANIOTS, 1983; CAMERON *et al.*; 1991; PINTO *et al.*, 2001; BEAVERS *et al.*; 2004). Frente a estes problemas, o BG *Mesh Lure*® surge como um possível cairomônio com maior capacidade atrativa para flebotomíneos, com maior ou menor grau de antropofilia, quando comparado à armadilhas que tenham como fonte de atração somente a luz. Tal resposta foi observada durante os experimentos 1 para *L. quinquefer* e *L. longipalpis* e no experimento 2 para *L. renei*, *L. lenti*, *L. intermedia* e *L. longipalpis*, sendo as duas últimas, encontradas em Brejo do Mutambal, alvos principais de programas de monitoramento e/ou controle. Embora esses estudos para flebotomíneos realizados por programas de saúde se voltem para aquelas espécies incriminadas como transmissores de doenças para animais domésticos e para o homem, conhecer e inferir sobre respostas de espécies não antropofílicas a cairomônios é fundamental para se entender todo o processo de “domiciliação” já discutidos para estes flebotomíneos. O ácido láctico se mostrou mais atrativos para a espécie *L. lenti*, embora *L. longipalpis*, *L. intermedia* e *L. renei* apresentassem médias de capturas maiores para este cairomônio, quando comparadas ao controle. Já o ácido capróico e amônia, para os quais não existem relatos na literatura na captura de qualquer gênero ou espécie de psicodídeo, foram mais eficientes nas médias de captura de *L. renei*, respectivamente.

Essas diferentes respostas das espécies do gênero *Lutzomyia* aos cairomônios utilizados neste trabalho, permitem inferir que hoje, cada flebotomíneo atua de forma diferente na localização de seus hospedeiros preferenciais. O homem alterando seus ecossistemas, conseqüentemente, interferindo no equilíbrio da teia alimentar destes dípteros, provavelmente promove uma adaptação evolutiva das espécies, permitindo a estas um comportamento eclético no que concerne a alimentação, capacidade de freqüentar diferentes

biotas e funcionarem como veículos de agentes patogênicos a criações domésticas e para si mesmo.

Os trabalhos que visam o conhecimento de fauna de um determinado local e diversidade da mesma, as preferências alimentares de flebotomíneos por diferentes espécies de hospedeiros, taxas de infecção de protozoários em determinadas espécies e a produção de semioquímicos de atração intraespecífica e agora, neste trabalho, de atração interespecífica são primordiais para que um dia, em conjunto, o monitoramento de flebotomíneos se torne efetivo e o controle dos mesmos algo possível.

4.6 – Contribuição para a diversidade da fauna de flebotomíneos de Brejo do Mutambal, município de Varzelândia, MG.

O presente trabalho foi realizado durante três semanas alternadas, em cinco noites consecutivas cada uma delas. Com isso para o experimento 1 foi observado que não houve interferência das noites de coleta na fauna local para as áreas trabalhadas (mata e peridomicílio), sendo que para o segundo e terceiro experimentos o mesmo também não ocorreu. Isso mostra que desde a primeira noite até a última de captura dos flebotomíneos de cada experimento não se alterou a fauna local quantitativamente.

Embora não fosse o objetivo deste trabalho conhecer a fauna flebotomínica de Brejo do Mutambal, MG, uma vez que a mesma já havia sido estudada por DIAS *et al.* (2003), através da captura e posterior identificação das espécies foram encontradas três primeiros registros para a região de Varzelândia (MG): *L. lutziana*, *L. longipennis* e *L. goiana*. Entretanto *Brumptomyia avellari* (Costa Lima, 1932), *L. shannoni* (Dyar, 1929) e *L. trinidadensis* (Newstead, 1922), foram espécies encontradas por estes autores que não houve registro durante a condução dos experimentos 1, 2 ou 3 na avaliação dos cairomônios iscados

nas armadilhas luminosas. Nenhum desses novos registros é endêmico da Região Sudeste, sendo que provavelmente os mesmos, por exemplo, não foram ainda encontrados na Região Sul devido ao baixo número de investigações feitas nesta como sugerido por AGUIAR & MEDEIROS (2003). As pesquisas sobre fauna de flebotomíneos sempre estiveram relacionadas ao diagnóstico de algumas enfermidades ou pela identificação dos seus vetores em determinadas regiões na transmissão de agentes patogênicos. Deve-se considerar que, em condições naturais, esses insetos distribuem-se em comunidades estáveis equilibradas com as variáveis dos ecossistemas como um todo.

L. lutziana, *L. longipennis* e *L. goiana* não estão envolvidas na transmissão de agentes patogênicos para animais domésticos ou para o homem, mas supõe-se que o surgimento de muitas epidemias esteja diretamente ligado a problemas de ecologia humana, causado pela introdução, acidental ou planejada, do homem em regiões onde os transmissores de doenças ainda são desconhecidos, como ocorre na região trabalhada de Varzelândia (MG). Tal situação foi comprovada nestes estudos os quais mostraram que a diversidade de fauna associada a peridomicílio, embora menor que aquela encontrada em área de mata é semelhante, ou seja, todas as espécies que foram capturadas na primeira biota foram encontradas também na segunda.

A presença destas três espécies nas armadilhas luminosas não esteve relacionada com os atraentes octenol (0,5; 5; 15 e 30 mg/h) ou com a formulação de cairomônios BG Mesh Lure® ou com seus compostos individualizados, uma vez que ambas foram capturadas , também, pelas armadilhas controle (somente luz). Alguns trabalhos já registram tais espécies para os estados de Minas Gerais (ANDRADE FILHO *et al.*, 1997; SOUZA *et al.*, 2004), Rio de Janeiro (SOUZA *et al.*, 2002; MENESES *et al.*, 2002), Piauí (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001) e Mato Grosso do Sul (GALATI *et al.*, 1996), utilizando-se de capturas em armadilhas luminosas CDC sem iscas. De acordo com tais trabalhos e como mostrado nas capturas em

Brejo do Mutambal observa-se que são espécies pouco abundantes, quando comparadas a *L. intermedia*, *L. longipalpis* ou *L. quinquefer*.

5 . CONCLUSÕES

5 – Conclusões

1 - Polímeros de polietileno e silicone, para liberação do octenol, não foram muito eficiente, pois, como observado, alguns não mantiveram taxas de evaporação constante de octenol, a qual seria importante para o liberador de cairomônios nas das armadilhas em campo. Para os liberadores de polietileno da cor preta ainda foi notada alteração no odor produzido pelo atraente;

2 - Os liberadores de vidro, com papel de filtro e com um e dois pavios (barbantes) permitiram taxas constantes de evaporação do composto octenol, utilizadas em campo, durante pelo menos as 12 horas de captura dos flebotomíneos.;

3 - O octenol, que embora aparentemente não potencializa a resposta do gênero *Lutzomyia*, quando iscado em armadilhas luminosas CDC (modelo HP), porém foi eficiente para *L. intermedia*, em uma resposta dose dependente, de forma que taxas de liberação do atraente de 15 mg/h seriam, aparentemente, ideais para a captura de fêmeas desta espécie;

4 - O BG *Mesh Lure*® mostrou-se como um possível cairomônio com maior capacidade atrativa para flebotomíneos, para espécies com maior (*L. longipalpis* e *L. intermedia*) ou menor grau de antropofilia (*L. lenti* e *L. renei*) encontradas em Brejo do Mutambal, quando comparado à armadilhas que tenham como fonte de atração somente a luz.;

5 – Das espécies mais abundantes do experimento 2, somente *L. intermedia* respondeu ao atraente BG *Mesh Lure*® associada a taxa de 5mg/h de octenol em comparação ao controle;

6 – *L. longipalpis* e *L. intermedia* apresentaram maiores média de captura para armadilhas iscadas com BG *Mesh Lure*®, no experimento 3, quando comparadas as médias de capturas de armadilhas controle e todas as outras armadilhas iscadas com ácido láctico, ácido capróico e amônia;

7 – O ácido láctico se mostrou mais atrativo para a espécie *L. lenti*, embora *L. longipalpis*, *L. intermedia* e *L. renei* apresentassem médias de capturas maiores para este cairomônio, quando comparadas ao controle;

8 - O ácido capróico e amônia, para os quais não existem relatos na literatura na captura de qualquer gênero ou espécie de psicodídeo, foram mais eficientes nas médias de captura da espécie *L. renei*, com maior captura desta espécie para o ácido capróico;

9 – Armadilhas luminosas contendo amônia capturam mais flebotomíneos das espécies *L. longipalpis*; *L. intermedia* e *L. lenti* que armadilhas iscadas com ácido capróico;

10 – Das espécies encontradas neste trabalho, *L. lutziana*, *L. longipennis* e *L. goiana*, foram pela primeira vez observadas no município de Varzelândia, Minas Gerais.

6 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACREE, F.J.; TURNER, R.B.; GOUCK, H.K.; BEZORA, M. & SMITH, N. L-Lactic acid: a mosquito attractant isolated from humans. *Science*, Washington, v. 161, p. 1346-1347, 1968.
- ADLER, S. & THEODOR, O. Transmission of disease agents by Phlebotominae sand flies. *Ann. Rev. Entomol.*, Stanford, v. 2, p. 203-226, 1957.
- AGUIAR, G.M. & MEDEIROS, W.M. Distribuição Regional e Habitats das Espécies de Flebotomíneos do Brasil. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R. (Eds.) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003. cap. 3, p. 207-256.
- AGUIAR, G.M.; MEDEIROS, W.M.; MARCO, T.S.; SANTOS, S.C; & GAMBARDELLA, S. Ecologia de flebotomíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I – A fauna flebotomínica e prevalência pelo local e tipo de captura. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 195-206, 1996.
- ALEXANDER, B.; USMA, M.C.; CADENA, H.; QUESADA, B.L.; SOLARTE, Y.; ROA, W. & TRAVI, B.L. Evaluation of deltamethrin-impregnated bednets and curtains against phlebotominae sandflies in Valle del Cauca, Colombia. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 9, p. 279-283, 1995.
- ANDRADE FILHO, J.D.; CARNEIRO, A.P.S.; LIMA, M.L.N.; SANTIAGO, R.M.; GAMA, M.A.; SANTOS, C.A.; FALCÃO, A.L. & BRAZIL, R.P. Flebotomíneos de Timóteo, estado de Minas Gerai, Brasil (Diptera: Psychodidae). *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 767-770, 1997.
- ANDRADE FILHO, J.D.; SILVA, A.C.L. & FALCÃO, A.L. Phlebotominae sand flies in state of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, n. 8, p. 1085-1087, 2001.
- AZEVEDO, A.C.R.; MONTEIRO, F.A.; CABELLO, P.H.; SOUZA, N.A.; ROSA-FREITAS, M.G. & RANGEL, E.F. Studies on population of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 305-322, 2000.
- AZEVEDO, A.C.R.; SOUZA, N.A.; MENEZES, C.R.V.; COSTA, A.C.; COSTA, S.M.; LIMA, J.B. & RANGEL, E.F. Ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae:Phlebotominae) in North of State of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 4, p. 459-464, 2002.

- BARATA, R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; FORTES-DIAS, C.L.; COSTA, R.T.; SILVA, J.C.; VIEIRA, E.P.; PRATA, A.; MICHALSKY, E.M. & DIAS, E.S. Phlebotomines sand flies in Porteirinha, an endemic area of American visceral leishmaniasis in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol.99(5):481-487, 2004.
- BEAVERS, G.Y.; HANAFI, A.H. & DYKSTRA, E.A. Evaluation of 1-octen-3-ol and carbon dioxide as attractants for *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Southern Egypt. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 20, n. 2, p. 130-133, 2004.
- BERNIER, U.R.; BOOTH, M.M. & YOST, R.A. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 1. Thermal desorption of attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) from handled glass beads. *Anal. Chem.*, Washington, v. 71, p. 1-7, 1999.
- BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; BARNARD, D.R.; SCHRECK, C.E. & YOST, R.A. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Anal. Chem.*, Washington, v. 70, p. 747-756, 2000.
- BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; SCHRECK, C.E.; BARNARD, D.R. & YOST, R.A. Chemical analysis of human skin emanations: comparison of volatiles from human that differ in attraction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 18, p. 186-195, 2000.
- BONGIORNO, G.; HABLUETZEL, A.; KHOURY, C. & MAROLI, M. Host preferences of phlebotominae sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Trop.*, Basel, v. 88, p. 109-116, 2003.
- BROWN, A.W.A.; EISNER, T. & WHITTAKER, R.H. Allomones and kairomones: Transpecific chemical messengers. *Bioscience*, Washington, v. 20, p. 21-22, 1970.
- BOSCH, J.O.; GEIER, M. & BECKH, J. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. *Chem. Senses*, Oxford, v. 25, p. 223-230, 2000.
- CAMERON, M.M.; AMERASINGHE, F.P. & LANE, R.P. The field response of Sri Lankan sandflies e mosquitoes to synthetic cattle-derived attractants. *Parassitologia*, Roma, v. 33, Suppl. 1, p. 119-126, 1991.
- CAMPBELL-LENDRUM, D.H.; PINTO, M.C. & DAVIES, C.R. *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) more endofagic than *Lutzomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939)

- because it is more attracted to light? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 94, p. 21-22, 1999.
- CAMPBELL-LENDRUM, D.H.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; READY, P.D. & DAVIES, C.R. Host and/or site loyalty of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Brazil. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 13, p. 209-211, 1999.
- CAMPBELL-LENDRUM, D.H.; PINTO, M.C.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; SOUZA, A.A.; READY, P.D. & DAVIES, C.R. Experimental comparison of anthropophily between geographically dispersed populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae). *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 13, p. 299-309, 1999.
- CHANIOTIS, B.N. Improved trapping of phlebotominae sandflies in light traps supplement with dry ice in a Neotropical rainforest. *J. Med. Entomol.*, Lanham, v. 20, p. 222-223, 1983.
- CORK, A. & PARCK, K.C. Identification of electrophysiologically-active compounds for the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, in human sweat extracts. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 10, p. 269-276, 1996.
- DAVIES, C.R.; LANE, R.R.; VILLASECA, P.; PYKE, S.; CAMPOS, P. & LLANOS-CUENTAS, E.A. The relation between CDC light-trap and human-bait catches of endophagic sandflies (Diptera: Psychodidae) in the peruvian Andes. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 9, p. 241-248, 1995.
- DEANE, L.M. Leishmaniose Visceral no Brasil. Serviço Nacional de Educação Sanitária: Rio de Janeiro. 162p., 1956. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R. (Eds.) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003. cap. 3, p. 291-336.
- DAVIS, E.E. & BOWEN, M.F. Sensory Physiological basis for attraction in mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 10, p. 316-325, 1994.
- DIAS, E.S.; FRANÇA-SILVA, J.C.; COSTA, R.T.; MAYRINK, W; NASCIMENTO, E.; SILVA, J.C; PAULA, E.V.; MACHADO-COELHO, G.L.L.; PRATA, A.; GONÇALVES, C.M.; COSTA, D.C.; MONTEIRO, E.M.; BARATA, R.A. Flebotomíneos capturados no Brejo do Mutambal (município de Varzelândia, MG), área endêmica de Leishmaniose Tegumentar Americana. In: *XIX Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas/ VII Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses*. Uberaba: Anais da XIX Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas/ VII Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses, 24 a 26 de outubro, 2003. p. 69-69.

- DOUGHERTY, M.J.; GUERIN, P.M.; WARD, R.D.; HAMILTON, J.G.C. Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotominae when exposed to canid host odour kairomones. *Physiol. Entomol.*, Oxford, v. 24, p. 251-262, 1999.
- DOUGHERTY, M.J.; HAMILTON, J.G.C. & WARD, R.D. Isolation of oviposition pheromone from the eggs of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 8, p. 119-124, 1994.
- EIRAS, A.E. Mediadores químicos entre hospedeiros e insetos de doenças médico-veterinárias. In: VILELA, E.F. & DELLA-LÚCIA, T.M.C. (Eds.), *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. Ribeirão Preto: Editora Holos. 2001. cap. 12, p. 99-112.
- EIRAS, A.E. & MAFRA-NETTO, A. Olfatometria aplicada ao estudo do comportamento dos insetos. In: VILELA, E.F. & DELLA-LÚCIA, T.M.C. (Eds.), *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. Ribeirão Preto: Editora Holos. 2001. cap 3, p. 27-40.
- EIRAS, A.E.; JEPSON, P.C. Host location by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): a Wind tunnel study of chemical cues. *Bull. Entomol. Res.*, Farnham Royal, v. 81, p. 151-160, 1991.
- EIRAS, A.E. & JEPSON, P.C. The behavioural responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to carbon dioxide plumes. In: NIEMEYER, H.M. (Ed.) *Techniques in Plant-Insect Interactions and Biopesticides*. Santiago: Proceedings of an IFS Workshop in Chemical Ecology. 1996. p. 185-189.
- FALLING RAIN GENOMICS, INC. [http://www.fallingrain.com/world/BR/15/Brejo do Mutambal.html](http://www.fallingrain.com/world/BR/15/Brejo%20do%20Mutambal.html), Acesso em: 20/02/2006
- FELICIANGELI, M.D. Ecology of sandflies (Diptera: Psychodidae) in a restricted focus of cutaneous leishmaniasis in Northern Venezuela. III – Seasonal fluctuation. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 82, p. 167-176, 1987.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United States. Odour Attractants. In: POLOCK, J.N. (Ed.) *Training Manual for TseTse Control Personnel*. Rome: Food and Agriculture Organization, cap. 2, p. 13-17, 1992.
- FERREIRA, A.L.; SESSA, P.A.; VAREJÃO, J.B.M. & FALQUETO, A. Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) at different altitudes in a endemic region of american

- cutaneous leishmaniasis in the state of Espírito Santo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, p. 7061-1067, 2001.
- FELICIANGELI, M.D. Natural breeding places of Phlebotominae sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 18, p. 71-80, 2004.
- FORATTINI, O. *Entomologia Médica. Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose*. São Paulo: Editora Edgar Blucher Ltda. e Editora da Universidade de São Paulo. 1973. 658 p.
- FRYAUFF, G. & MODI, G. Predictive estimation of sandfly biting density at a focus of cutaneous leishmaniasis in the north Sinai desert, Egypt. *Parassitologia*, Roma, v. 33, Suppl. 1, p. 235-252, 1991.
- GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; DORVAL, A.E.C.; OSHIRO, E.T.; CRISTALDO, G.; ESPÍNDOLA, M.A.; ROCHA, H.C. & GARCIA, W.B. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v. 30, p. 115-128, 1996.
- GÁLLEGO, M. Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: las leishmaniosis. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, Paris, v. 23, p. 661-676, 2004.
- GEIER, M. & EIRAS, A. E. Composition for Attracting blood sucking arthropods. 2002. *Patente: Privilégio e Inovação*. n. 60/386.582, 06 de jul. de 2002 (Depósito).
- GEIER, M.; BOSH, O.J. & BOECKH, J. Ammonia as an attractive of host odour for the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Chem. Senses*, Oxford, v. 24, p. 647-653, 1999.
- GIBSON, G. & TORR, S.J. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 13, p. 2-23, 1999.
- GRIMALDI, G; TESH, R.B. & PRATT, D.M. A review of geographical distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Mclean, v. 41, p. 687-725, 1989.
- HAMILTON, J.G.C; DAWSON, G.W. & PICKETT, J.A. 3-methyl- α -himachalene: proposed structure for novel homosesquiterpene sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, Brazil. *J. Chem. Ecol.*, New York, v. 22, n. 12, p. 2331-2340, 1996a.

- HAMILTON, J.G.C.; DAWSON G.W. & PICKETT, J.A. 9-methylgermacrene-B: proposed structure for novel homosesquiterpene sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Lapinha, Brazil *J. Chem. Ecol.*, New York, v. 22, p. 1477-1491, 1996b.
- HAMILTON, J.G.C. & RAMSOONDAR, T.M. C. Attraction of *Lutzomyia longipalpis* to human skin odours. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 8, p. 375-380, 1994.
- HAMILTON, J.G.C.; BRAZIL, R.P., CAMPBELL-LENDRUM, D.; DAVIES, C.R.; KELLY, D.W.; PESSOA, F.A.C. & QUEIROZ, R.G. Distribution of pupative male sex pheromones among *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae). *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, London, v. 96, n. 1, p. 83-92, 2002.
- HALL, D.R.; BEEVOR, P.S.; CORK, A.; NESBITT, B.F. & VALE, G.A. A potent olfactory stimulant and attractant for tsetse isolated from cattle odours. *Insect Sci. Appl.*, Elmsford, v. 5, p. 335-339, 1984.
- JONES, T.M. & HAMILTON, J.G.C. A role pheromones in mate choice in a lekking sandfly. *Anim. Behav.*, London, v. 56, p. 891-898, 1998.
- KARLSON, P. & LÜSHER M. "Pheromones": a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, London, v. 183, p. 55-56, 1959.
- KELLY, D.W. & DYE, C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim. Behav.*, London, v. 53, p. 721-731, 1997.
- KEMME, J.A.; VAN ESSEN, P.H.A.; RITCHIE, A.S. & KAY, B.H. Response of mosquitoes to carbon dioxide and 1-octen-3-ol in southeast Queensland, Australia. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 9, p. 431-435, 1993.
- KLINE, D.L. Olfactory attractants for mosquito surveillance and control: 1-octen-3-ol. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 10, p. 80-287, 1994.
- KLINE, D.L.; TAKKEN, W.; WOOD, J.R. & CARLSON, D.A. Field studies on the potential of butanone, carbon dioxide, honey extracts, 1-octen-3-ol, L-lactic acid and phenols as attractant and control. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 4, p. 383-391, 1990.

- KNUDSEN, A.B.; LEWIS, D.J.; TESH, R.B.; RUDNICK, A. JEFFREY, J. & SINGH, I. Phlebotominae sand flies (Diptera: Psychodidae) from a primary hill forest in West Malaysia. *J. Med. Entomol.*, Lanham, v.15: 286-291, 1979.
- KRÖKEL, U; ROSE, A.; EIRAS, A. & GEIER, M. New tools for surveillance of adult *Aedes aegypti*: comparison of trap catches with human landing collection in an urban environment. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, no prelo 2006.
- LAINSON, R. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the american leishmaniasis. In: SERVICE, M.W. (Ed.) *Demography of vector-borne diseases*. Boca Raton, Florida: CRC Press 1989 p. 85-106.
- LAINSON, R & RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* e a Eco-Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) no Brasil. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R. (Eds.) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003. cap. 6, p. 311-336.
- LANE, R.P. & WARD, R.D. The morphology and possible function of abdominal patches in males of two forms of the Leishmaniasis vector of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Phlebotominae). *Cah. Orstom. Ser. Entomol. Med. Parasitol.*, Bondy, v. 22, p. 245-249, 1984.
- LANZARO, G.C.; OSTROVSCA, K; HERRERO, M.V.; LAWYER, P.G. & WARBURG, A. *Lutzomyia longipalpis* is a species complex: genetic divergence and interespecific hybrid sterility among three populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Mclean, v. 48, p. 839-847, 1993.
- LEMOS, J.C. & LIMA, S.C. Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos em área de transmissão no Município de Uberlândia, MG. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 22-26, 2005.
- LEWIS, D.J. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Entomol.*, London, v. 45, p. 121-209, 1982.
- LIMA, L.C. Ruralização da *Lutzomyia intermedia*, um provável caso de pré-adaptação. *Rev. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, v. 1, p. 102-104, 1986.
- LIMA, R.L. & DELLA-LUCIA, T.M.C. Biodinâmica de feromônios. In: VILELA, E.F. & DELLA-LÚCIA, T.M.C. (Eds.), *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. Ribeirão Preto: Editora Holos. 2001. cap. 2, p. 13-26.

LISBOA, F.A. <http://www.januar.com.br>, Acesso em: 20/02/2006

MACIEL-DE-FREITAS, R.; EIRAS, A.E. & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, no prelo

MAIBACH, H.I.; SKINNER, W.A.; STRAUSS, W.G. & AHAN, A.A. Factors that attract and repel mosquitoes in human skin. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v. 58, p. 629-642, 1966.

MAROLI, M.; FELICIANGELI, M.D. & ARIAS, J. Métodos de captura, conservación y montaje de los flebotomos (Diptera: Psychodidae). OPS/OMS/HCP/HCT/95/97, Washington. 1997, 72 p.

MARTINS A.V.; FALCÃO, A.L. & SILVA, J.E. Estudos sobre flebotomos do Estado de Minas Gerais: *Phlebotomus renei* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Rev. Bras. Malar. Doenças Trop.*, Brasília, v. 9, p. 321-325, 1957.

MATTOS E.A. *Bionomia dos flebotomíneos de Perobas, Município de Viana (ES), área endêmica de leishmaniose tegumentar americana*. 1981. 137 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1981.

MATHEWS, R. W. & MATHEWS, J. R. (Ed.) *Insect behavior*. Malabar: Robert E. Krieger Publishing Company. 1988. 507 p.

MELLOR, H.E. & HAMILTON, J.G.C. Navigation of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) under dusk or starlight conditions. *Bull. Entomol. Res.*, Farnham Royal, v. 93, p. 315-322, 2003.

MELLOR, H.E.; HAMILTON, J.G.C. & ANDERSON, M. Spectral sensitivity in the eyes of male and female *Lutzomyia longipalpis* sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 10, p. 371-374, 1996.

MENESES, C.R.V.; AZEVEDO, A.C.R.; COSTA, S.M.; COSTA, W.A.; RANGEL, E.F. Ecology of American cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J. Vector Ecol.*, Santa Ana, v. 27, n. 2, p. 207-214, 2002.

MOLYNEAUX, D.H. & ASHFORD, R.W. *The biology of Trypanosoma and Leishmania, parasites of man and domestic animals*. London: Taylor & Francis. 1983. 294 p.

- MONTOYA-LERMA, J. Autogeny in the tropical sand fly *Lutzomyia lichyi* (Diptera: Psychodidae) from Colombia. *J. Med. Entomol.*, Lanham, v. 29, p. 698-699, 1992.
- MONTOYA-LERMA, J. & LANE, R.P. Factors affecting host preference of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. *Bull. Entomol. Res.*, Farnham Royal, v. 86, p. 43-40, 1996.
- MORENO, J.; RUBIO-PALIIS, Y.; PÉREZ, E.; SANCHES, V. & PÁEZ, E. Evaluación de tres métodos de captura de anofelinos en um área endêmica Del malaria Del estado Bolívar, Venezuela. *Entomotropica*, Maracay, v. 17, n. 2, p. 157-165, 2002.
- MORTON, I.E. & WARD, R.D. Response of female sandflies (*Lutzomyia longipalpis*) to pheromone-baited sticky traps in the laboratory. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, London, v. 84, p. 49-51, 1990.
- NIGAM, Y. & WARD, R D. The effects of male sandfly pheromone and host factors as attractants for female *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Physiol. Entomol.*, Oxford, v. 16, p. 305-312, 1991.
- NORLUND, D.A. Semiochemicals: A review of the terminology. In: NORLUND, D. A.; JONES, R. L. & JOE LEWIS, W. (Ed.) *Semiochemicals heir role in pest control*. New York: John Wiley & Sons. 1984. cap. 2, p. 13-28.
- O'SHEA, B.; REBOLLAR-TELLEZ, E.; WARD, R.D.; HAMILTON, J.G.C.; NAIEM, D.E. & POLWART, A. Enhanced sandfly attraction to *Leishmania*-infected hosts. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, London, v. 96, p. 117-118, 2002.
- PASSOS, V.M.A.; FERNADES. O.; LACERDA, P.A.F.; VOLPINI, A.C.; GONTIJO, C.M.F.; DEGRAVE, W. & ROMANHA, A.J. *Leishmania (Viannia) braziliensis* is the predominant species infecting patients with American cutaneous leishmaniasis in state of Minas Gerais, southeast Brazil. *Acta Trop.*, Basel, v. 72, p. 251-258, 1999.
- PINTO, M.C. *Atratividade de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) pelos odores humanos, gás carbônico e ácido láctico, Paraná, Brasil*. 2001. 95 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2001.
- PINTO, M.C.; CAMPBELL-LENDRUM, D.H.; LOZOVEI, A.L., TEODORO, U.; & DAVIES, C.R. Phlebotominae sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 15, p. 132-139, 2001.

- PUGEDO, H.; BARATA, R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C. & DIAS, E.S. HP: um modelo apropriado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 70-72, 2005.
- QUINNELL, R.J.; DYE, C. & SHAW, J. J. Host preferences of the phlebotominae sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 6, p. 195-200, 1992.
- RANGEL, E. F. & LAINSON, R. 2003. Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R. (Eds.) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003. p. 367.
- REBÊLO, J.M.M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Díptera: Psychodidae: Phlebotominae) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, 221-227, 2001.
- REBOLLAR-TELLEZ, E.A.; HAMILTON, J.G.C.& WARD, R.D. Responses of female *Lutzomyia longipalpis* to host odour kairomones from human skin. *Physiol. Entomol.*, Oxford, v. 24, p. 220-226, 1999.
- RESENDE, C.C.; CAMARGO, M.C.V.; VIEIRA, J.R.M.; NOBI, R.C.A.; PORTO, N.M.N.; OLIVEIRA, C.D.L.; PESSANHA, J.E.; CUNHA, M.C.M. & BRANDÃO, S.T. Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* in Belo Horizonte, state of Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Rio de Janeiro, v. 39, p. 51-55, 2006.
- SANT'ANA, A.L; EIRAS, A.E. & CAVALCANTE, R.R. Electroantennographic responses of the *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) to 1-octen-3-ol. *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 31, n. 1, p. 13-17, 2002.
- SANTOS-DE-MARCO, T.; GAIA, M.C.M. & BRAZIL, R.P. Influence of the lunar cycle on the activity of phlebotominae sand flies (Diptera: Psychodidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, Fresno, v. 18, n. 2, p. 114-118, 2002.
- SANTOS DA SILVA, O. & GRÜNEWALD, J. Natural haematophagy of males *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae). *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 13, p. 465-466, 1999.
- SHERLOCK, I.A. Sobre o *Phlebotomus renei* Martins, Falcão & Silva, 1956 (Diptera: Psychodidae). *Rev. Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 17, p. 547-556, 1957.

- SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.F.; PACHECO, R.S.; FIÚZA, V.O.P. & BRAZIL, R.P. Visceral Leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, n. 3, p. 285-291, 2001.
- SILVA, D.F.; EIRAS, A.E. & VASCONCELOS, S.D. Use of attractants for surveying dipteran populations in a Rainforest area in Northeastern Brazil. In: *XXI International Congress of Entomology*. Foz do Iguaçu: Anais do XXI International Congress of Entomology, 20-26 de agosto de 2000. p. 946-946.
- SOARES, R.P.P. & TURCO, S.J. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) a review. *An. Acad. Bras. Cienc.*, Rio de Janeiro, v. 75, n. 3, p. 303-330, 2003.
- SOUZA, C.M.; PESSANHA, J.E.; BARATA, R.A.; MONTEIRO, E.M.; COSTA, D.C. & DIAS, E.S. 2004. Study on phlebotominae sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna in Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 99, n. 8, p. 795-803.
- SOUZA, N.A.; ANDRADE-COELHO, C.A.; VILELA, M.L.; PEIXOTO, A.A. & RANGEL, E.F. Seasonality of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in área of cutaneous leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 3, p. 759-765, 2002.
- SPIEGEL, C.N.; JEANBOURQUIN, P.; GUERIN, P.M.; HOOPER, A.M.; CLAUDE, S.; TABACCHI, R.; SANO, S. & MORI, K. (1S, 3S, &R)-3-methyl- α -himachalene from the male sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) induces neurophysiological responses and attracts both males and females. *J. Insect Physiol.*, Oxford, v. 12, p. 1-10, 2005.
- STEIB, B.M.; GEIER, M. & BECKH, J. The effect of lactic acid on odour-related host preference of yellow fever mosquitoes. *Chem. Senses*, Oxford, v. 26, p. 523-528, 2001.
- SUDIA, W.A.; CHAMBERLAIN, R.W. Battery-operated light trap: an improved model. *Mosq. News*, Aliso Viejo, v. 22, n. 2, p. 126-129, 1962.
- TRAVI, B.L.; MONTOYA, J.; SOLARTE, Y.; LOZANO, L. & JARAMILHA, C. Leishmaniasis in Colombia. I. Studies on the phlebotominae fauna associated with endemic foci in the Pacific Coast region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, Mclean, v. 39, p. 261-266, 1998.

- WHEELER, A.S.; FELICIANGELI, M.D.; WARD, R.D. & MAINGON, R.D.C. Comparison of stick-traps and CDC-light traps for sampling phlebotomine sandflies entering houses in Venezuela. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 10, p. 295-298, 1996.
- VALE, G.A. & HALL, D.R. The use of 1-octen-3-ol, acetone and carbon dioxide in the attraction of tsetse flies *Glossina* spp. (Diptera: Glossinidae), to ox odour. *Bull. Entomol. Res.*, Farnham Royal, v. 75, p. 29-217, 1985.
- VAN ESSEN, P.H.A.; KEMME, J.A.; RITCHIE, S.A.; KAY, B.H. Differential responses of *Aedes* and *Culex* mosquitoes to octenol or light in combination with carbon dioxide in Queensland, Australia. *Med. Vet. Entomol.*, Oxford, v. 8, p. 63-67, 1994.
- SILVA I.M. *Avaliação de componentes sintéticos do odor humano como atraentes para Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) em laboratório e campo*. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
- VILELA, E.F.; DELLA-LUCIA, T.M.C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: VILELA, E.F. & DELLA-LÚCIA, T.M.C. (Ed.), *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2001. cap. 1, p. 9-12.
- VILELA, M.L.; RANGEL, E.F. & LAINSON, R. Métodos de coleta e preservação de flebotomíneos. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R. (Ed.) *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 2003. cap. 8, p. 353-367.
- WARD, R.D; MORTON, I.E.; BRAZIL, R.P.; TRUMPER, S. & FALCÃO, A.L. Preliminary laboratory and field trials of a heated pheromone trap for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 85, p. 445-452, 1990.
- WARD, R.D. & MORTON, I.E. Pheromones in mate choice and sexual isolation between siblings of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Parassitologia*, Roma, v. 33, p. 527-533, 1991.
- WEATHERSTON, I. Alternative Dispensers for Trapping and Disruption. In: JUTSUM, A.R. & GORDON, R.F.S. (Ed) *Insect Pheromones in Plant protection*. New York: John Wiley & Sons. 1989. cap. 10, p. 249-275.
- WILLIAMS, C.B. The use of logarithms in the interpretation of certain entomological problems. *Ann. Appl. Biol.*, Warwick, v. 24, p. 404-414, 1937.

- XIMENES, M.F.F.M.; SOUZA, M.F. & CASTELLÓN, E.G. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of Visceral. Leishmaniasis in State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 94, n. 4, p. 427-432, 1999.
- YOUNG, D.G. & DUNCAN, M.A. *Guide to the Identification and Geographic Distribution of Lutzomyia sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)*. Gainesville: Associated Publishers – American Entomological Institute. 1994. 419 p.
- ZADA, A.; SOROKER, V.; HAREL, M.; NAKACHE, J. & DUNKELGLUM, E. Quantitative GC analysis of secondary alcohol pheromones: determination of release rate of red palm weevil, *Rhychophorus ferrugineus*, pheromone from lures. *J. Chem. Ecol.*, New York, v. 28, p. 2299-2306, 2002.