

# Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por T*rypanosoma cruzi* em uma área rural do estado do Rio de Janeiro

Luciana Galdino Portugal

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

#### P853

Portugal, Luciana Galdino

Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por Trypanosoma cruzi em uma área rural do Estado do Rio de Janeiro / Luciana Galdino Portugal. – Rio de Janeiro, 2009.

xiv, 109 f.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-graduação em Biologia Parasitária, 2009.

Bibliografia: f. 69-81

1. Ecologia parasitária. 2. Reservatórios. 3. Trypanosoma cruzi. I. Título.

CDD 574 524 9



# **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

# Pós-Graduação em Biologia Parasitária

Luciana	Gal	dino	P	or	tug	al
---------	-----	------	---	----	-----	----

Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por T*rypanosoma* cruzi em uma área rural do estado do Rio de Janeiro

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Parasitária

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio D'Andrea

.

RIO DE JANEIRO 2009



# **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Pós-Graduação em Biologia Parasitária

# **Luciana Galdino Portugal**

Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por T*rypanosoma cruzi* em uma área rural do estado do Rio de Janeiro

ORIENTADOR: Paulo Sérgio D'Andrea

#### **EXAMINADORES:**

Dr. Adauto José Gonçalves de Araújo. ENSP – Fiocruz (Efetivo)

Dra. Ana Maria Jansen-Franken. IOC – Fiocruz (Efetivo)

Dra. Helena de Godoy Bergallo. CB – UERJ (Efetivo)

Dr. Darcílio Fernandes Baptista. IOC – Fiocruz (Suplente)

Dra. Marli Maria Lima. IOC - FIOCRUZ (Suplente)

#### Agradecimentos

A minha família: Luiz, Marina, Viviane e Victor, pelo apoio.

À Dra. Rosana Gentile, minha primeira orientadora, a quem sou imensamente grata pela oportunidade de trabalho, pela orientação e pelo incentivo na minha carreira científica.

Ao Dr. Paulo Sérgio D'Andrea por ter aceitado a orientação deste estudo e pela grande contribuição a este trabalho com sua experiência profissional.

À Dra. Ana Jansen pela orientação nas análises parasitológicas e disponibilização das dependências do Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos, material e colaboradores para a realização deste estudo.

Ao Dr. Heitor Herrera pelo diagnóstico e identificação de *T. cruzi* em *Galictis* cf. *cuja* em Sumidouro, que originou este trabalho.

À Dra. Cibele Bonvicino, pelo apoio indispensável na taxonomia das espécies.

Ao Dr. Cláudio Juan Bidau pela ajuda nas análises estatísticas do trabalho.

Ao Dr. Arnaldo Maldonado pelas contribuições nos projetos de Sumidouro.

Ao Wandique, Neto e Simone, pela cooperação e companhia nos trabalhos de campo.

Ao Marcos, Carlos e a Samanta pelo meu aprendizado na parte de diagnóstico parasitológico e sorológico do *Trypanosoma cruzi*.

Ao Vanderson, que sempre me auxiliou na parte parasitológica, ecológica, zoológica, taxonômica, prática, teórica etc. E Danúbia, pelo auxílio técnico na reta final. E claro, pela amizade.

A todos os atuais integrantes do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios. E principalmente a toda antiga família LBCE: André Roque, Bernardo, Cris, Danúbia, Joice, Joyce, Marconny, Michele, Rosana, Simone e Vanderson, pela amizade e pelos agradáveis momentos dentro e fora do laboratório.

A todos do Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos, IOC – FIOCRUZ, pelo auxilio.

A todos do Laboratório de Diagnóstico, Ensino e Pesquisa, pelo apoio e compreensão.

Às AMIGAS da faculdade: Amanda, Carol, Cris, Mariana, Mary, Milla, Si e a mascote Fernanda, pelo apoio, torcida, auxilio, enfim, pela amizade.

Ao Silmar Serafim, secretário de Meio Ambiente e Agricultura do Município de

Sumidouro por nos oferecer apoio logístico para o trabalho de campo e por sempre apoiar o nosso trabalho e à prefeitura Municipal de Sumidouro pelo apoio ao trabalho.

À população local de Sumidouro e aos proprietários de terras do Encanto e Pamparrão, por terem permitido a realização do trabalho de campo em suas propriedades.

Ao Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, pela bolsa de concedida.

Ao IOC (FIOCRUZ), PAPES III (FIOCRUZ) e CNPq (Edital Universal) pelo financiamento do projeto.

# **Índice Geral**

1. Introdução	01
1.1. Tríade Parasitária: Hospedeiros, Parasitos e o Meio	01
1.2. O parasito <i>Trypanosoma cruzi</i>	06
1.3. Os mamíferos hospedeiros deste estudo	09
1.4. Contexto do estudo	13
2. Objetivos	14
2.1. Objetivo Geral	14
2.2. Objetivos Específicos	14
3. Material e Métodos	15
3.1. Área de estudo	15
3.2. Métodos de coleta	18
3.2.1. Coleta de dados populacionais dos pequenos mamíferos	18
3.2.2. Coleta de dados do habitat	20
3.2.3. Coleta de amostras parasitológicas e sorológicas	23
3.3. Métodos laboratoriais	24
3.3.1. Diagnóstico Parasitológico	24
3.3.2. Diagnóstico Sorológico	25
3.4. Métodos de análise dos dados	26
3.4.1. Análise da dinâmica populacional dos pequenos mamíferos	26
3.4.1.1. Marsupiais	26
3.4.1.2. Roedores	27
3.4.2. Análise do habitat	28
3.4.3. Análise da infecção natural do Trypanosoma cruzi nos	
pequenos mamíferos	29
4. Resultados	31
4.1. Dinâmica Populacional	32
4.1.1. Didelphis aurita	32
4.1.2. Philander frenatus	35
4.1.3. Nectomys squamipes	37
4.1.4. Akodon cursor	39

4.1.5. Oligoryzomys nigripes	40
4.2. Habitat	41
4.2.1. Variáveis Quantitativas	41
4.2.2. Variáveis Qualitativas	45
4.3. Taxas de infecção por <i>T. cruzi</i>	46
4.3.1. Diagnóstico Sorológico	46
4.3.2. Diagnóstico Parasitológico	51
4.3.3. Análises das interações do parasitismo x parâmetros populad	ionais
dos hospedeiros	53
5. Discussão	59
6. Conclusões	68
7. Referências Bibliográficas	69
8. Anexos	82
Protocolo de Medição do Habitat	

Artigo: A long term study of small mammal populations in a Brazilian agricultural landscape. Simone T. Bonecker, Luciana G. Portugal, Sócrates F. C. Neto, Rosana Gentile. Mammalogy Biology. No prelo 2009.

# Índice de Figuras

1.1. Exemplos de sistemas reservatórios simples e complexos. Fonte:	
Modificado de Haydon et al., 2002	05
1.2. O marsupial <i>Didelphis aurita</i> . Autor: V. Rademaker	10
1.3. O marsupial <i>Philander frenatus</i> . Autor: V. Rademaker	11
1.4. O roedor Nectomys squamipes. Fonte: Bonvicino et al., 2008.	11
1.5. O roedor Akodon cursor. Autor: C.R. Bonvicino.	12
1.6. O roedor Oligoryzomys nigripes. Autor: Bonvicino, C.R.	12
3.1. Localização do Município de Sumidouro no Estado do Rio de Janeiro.	15
3.2. Gráfico Ombrotérmico com base nos dados da Estação Meteorológica de Carmo, RJ, de 2001 a 2006.	16
3.3. Vista da área de estudo I. Fonte: LABPMR.	17
3.4. Vista da área de estudo II. Fonte: LABPMR.	18
3.5. Armadilha Tomahawk. Fonte: LABPMR.	19
3.6. Armadilha Sherman. Fonte: LABPMR.	19
3.7. Foto de um transecto na localidade do Encanto. Fonte: LABPMR.	19
3.8. Medição do Habitat. Fonte: LABPMR.	21

3.9. Area de 9m² de medição do habitat. A area foi composta por cinco	
pontos de medição: ao centro, norte, sul, leste e oeste. Fonte: Adaptado de	
Freitas et al., 2002.	22
3.10. Ferramenta utilizada na medição das variáveis quantitativas do habitat.	
Fonte: Adaptado de Freitas <i>et al.</i> , 2002.	22
3.11. Posições de observação na medição das variáveis quantitativas.	
Fonte: Adaptado de Freitas et al., 2002.	23
3.12. <i>T. cruzi</i> proveniente de hemocultivo do gambá <i>D.aurita</i> (LBCE 7830)	
capturado em Sumidouro / RJ, em fevereiro de 2006, observado em aumento	
de 40x no microscópio óptico. Fonte: LABPMR	25
3.13. Amostra soro positiva para Trypanosoma cruzi através da RIFI.	
Fonte: http://www.pasteur.fr/recherche/unites/tcruzi/minoprio/epi1.html	26
4.1. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência	l
do marsupial D. aurita na área I, no período de novembro de 2001 a novembr	0
de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	33
4.2. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência	l
do marsupial D. aurita na área II, no período de novembro de 2001 a novembr	
de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	34
4.3. Análise da Condição Reprodutiva dos marsupiais <i>D. aurita</i> (A) e	
P. frenatus (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no	0.4
município de Sumidouro, RJ.	34
4.4. Análise da Estrutura Etária dos marsupiais <i>D. aurita</i> (A) e <i>P. frenatus</i> (B),	
no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de	25
Sumidouro, RJ.	35

4.5. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência	
do marsupial P. frenatus na área I, no período de novembro de 2001 a	
novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	36
4.6. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência	
do roedor <i>N. squamipes</i> na área I, no período de novembro de 2001 a	
novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	37
4.7. Análise da Condição Reprodutiva dos roedores N. squamipes (A) e	
A. cursor (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	38
4.8. Análise da Estrutura Etária dos roedores N. squamipes (A) e A. cursor (B),	
no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de	
Sumidouro, RJ.	38
4.9. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência	
do roedor A. cursor na área I, no período de novembro de 2001 a novembro	
de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	39
4.10. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e	
Sobrevivência do roedor <i>O. nigripes</i> na área I, no período de novembro de	
2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.	40
4.11. Prevalência da infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> nos marsupiais	
Didelphis aurita e Philander frenatus, pelo diagnóstico sorológico,	
capturados no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.	47
4.12. Prevalência de infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> no marsupial	
Didelphis aurita, pelo diagnóstico sorológico, no período de 2004 a 2006,	
no município de Sumidouro, RJ.	47
4.13. Prevalência de infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> no marsupial	
Philander frenatus, pelo diagnóstico sorológico, no período de 2004 a 2006,	
no município de Sumidouro, RJ.	48

# **Índice de Tabelas**

- 4.1. Índices de abundância das populações de pequenos mamíferos e números absolutos de captura por espécie capturadas nas áreas I e II, e a diversidade de espécies, segundo o índice de Shannon, para as duas áreas no Município de Sumidouro, RJ, no período de 2001 a 2005.
- 4.2. Análise da Regressão Logística para determinação da associação dos parâmetros do habitat com as espécies de pequenos mamíferos estudadas. 41
- 4.3. Resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) para as variáveis quantitativas das duas áreas do Município de Sumidouro, RJ, analisadas em um único grupo e separadamente. Os escores dos fatores com asterisco indicam as variáveis mais importantes para a caracterização do habitat.
- 4.4. Valores dos coeficientes de Correlação de Spearman analisados entre os fatores da PCA das variáveis quantitativas com a abundância das espécies de pequenos mamíferos no Município de Sumidouro, RJ.

  44
- 4.5. Análise da Regressão Logística Passo a Passo "Backward" para as variáveis quantitativas significativas da Correlação de Spearman com a abundância das espécies de pequenos mamíferos no Município de Sumidouro, RJ.

  45
- 4.6. Análise da GLM das variáveis qualitativas das áreas I e II para caracterização do habitat do Município de Sumidouro, RJ.
- 4.7. Quantitativos de exames sorológicos realizadas por espécie, nas capturas e recapturas, e o resultado das análises sorológicas no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

  46
- 4.8. Tabela de animais sorologicamente positivos por *T. cruzi* nas áreas I e II, no Município de Sumidouro, RJ, no período de 2004 a 2005.49

- 4.9. Quantitativos de hemocultivos realizados por espécie, nas capturas e recapturas, e o resultado das análises parasitológicas no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.
  51
- 4.10. Relação dos hemocultivos positivos para *Trypanosoma cruzi* nos marsupiais *Didelphis aurita* e *Philander frenatus* capturados no período de 2004 a 2006, e seus dados individuais de área de captura, sexo e condição reprodutiva, idade, carga parasitária (variação de + a ++++) e caracterização da cepa, no município de Sumidouro, RJ.
- 4.11. Tabela com os valores de ρ para as correlações entre os tamanhos populacionais de *Didelphis aurita* e as taxas de infecção sorológica de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ.
  54
- 4.12. Tabela com os valores de ρ para as correlações entre os tamanhos populacionais de *Philander frenatus* e as taxas de infecção sorológica de *T. cruzi* na área I do município de Sumidouro, RJ.
- 4.13. Tabela com os valores de ρ para as correlações entre os tamanhos populacionais de *Didelphis aurita* e as taxas de infecção sorológica de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ.
- 4.14. Tabela com os valores de ρ para correlações entre os tamanhos populacionais de *Philander frenatus* e as taxas de infecção sorológica de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ.
  56
- 4.15. Correlações entre a riqueza e a diversidade de espécies das áreas I e II com as taxas de infecção sorológica (prevalência e sorologia) das espécies *Didelphis* aurita e *Philander frenatus*.
- 4.16. Valores do teste de wilcoxon para comparação do micro-habitat de *D. aurita* e *P. frenatus* soro-reativos e não reativos para infecção por *T. cruzi*, nas duas áreas estudadas do Município de Sumidouro, RJ.



#### **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por T*rypanosoma* cruzi em uma área rural do estado do Rio de Janeiro

# RESUMO DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

#### **Luciana Galdino Portugal**

Este trabalho determinou o perfil de infecção natural, ao longo do tempo, do Trypanosoma cruzi nos marsupiais Didelphis aurita e Philander frenatus e nos roedores Nectomys squamipes, Akodon cursor e Oligoryzomys nigripes no Município de Sumidouro, RJ. O diagnóstico parasitológico, obtido através de hemocultivos, e as prevalências sorológicas, obtidas através de Imunoflorescência Indireta, foram analisadas e correlacionadas com os dados populacionais, biológicos e de habitat dos hospedeiros, e com as variáveis ambientais e de composição de fauna da área. As dinâmicas populacionais dos pequenos mamíferos seguiram os padrões observados para as espécies neotropicais, estando relacionadas às suas estratégias reprodutivas, sendo estacional para os marsupiais e oportunista para os roedores. Apesar da degradação ambiental, os marsupiais e roedores apresentaram preferências por microhabitats específicos dentro da área de captura. Nenhuma amostra proveniente dos roedores foi positiva no hemocultivo, nem na análise sorológica. Na análise parasitológica dos marsupiais, 5% dos hemocultivos foram positivos, enquanto que na sorologia, a prevalência variou de 20% a 60% para D. aurita e 0% e 67,5% para P. frenatus. Através das taxas de infecção, não foram encontradas relações entre o parasitismo e a riqueza ou diversidade de mamíferos da área de estudo. Não houve diferença entre o habitat de animais infectados e não infectados. Não houve diferença entre machos e fêmeas infectados. O parasitismo por T. cruzi não afetou a biologia dos seus hospedeiros nem suas dinâmicas populacionais neste cenário de transmissão do parasito. Assim, foi verificada a existência de um ciclo de transmissão de *T. cruzi* na área, com ausência de participação dos roedores. Os marsupiais atuaram como hospedeiros mantenedores nas duas áreas de estudo, devido às evidências sorológicas e as baixas parasitemias. É possível que outras espécies de mamíferos estejam atuando na área como hospedeiros mantenedores ou amplificadores da infecção, como o furão Galictis cf. Cuja, que foi a primeira espécies capturada com infecção natural por T. cruzi na área. Concluímos que o ciclo de transmissão do *T. cruzi* nesta região apresentou um perfil de parasitemia sub-patente nas espécies marsupiais, caracterizada apenas pelo diagnóstico sorológico, e uma continuidade de transmissão ao longo de todo o ano nas duas áreas, observada através das conversões sorológicas.



#### **Abstract**

#### Luciana Galdino Portugal

The aim of this study was to understand the natural infection dynamic by Trypanosoma cruzi in the marsupials Didelphis aurita and Philander frenatus and the rodents Nectomys squamipes, Akodon cursor and Oligorysomys nigripes in order to along time, in Sumidouro Municipality, Rio de Janeiro State. The parasitological diagnose obtained from Haemoculture and the Serological prevalence obtained from Immunofluorescense assay were analyzed and correlated with the population dynamics of the hosts, their habitat and biological factors, and also with environment variables and species composition of the study area. The population dynamics of the small mammals followed the patterns observed for Neotropical species, showing a relation with the reproductive strategies, which was seasonal for the marsupials and opportunist for the rodents. Despite of the environment degradation, the marsupials and rodents presented preference for specifics microhabitats in the study area. No rodent was positive neither in the haemoculture nor in serology for *T. cruzi* infection. In the parasitological analysis of the marsupials, 5% of the haemocultures were positive while the prevalence using serology ranged from 20% to 60% for D. aurita and from 0% to 67.5% for *P. frenatus*. No relation was found between parasitism and richness and diversity of mammals' species. Marsupials' habitats were more related to triatomines' habitat than the rodents' habitat. No difference was observed between males and females infected animals. The parasitism of *T. cruzi* did not affect the biology of the hosts, neither their population dynamics in this scenario of transmission. Thus, a transmission cycle of *T. cruzi* was confirmed in the study area, and the rodents' species were not participating in the transmission. The marsupials D.aurita and P. frenatus acted in this scenario as maintaining hosts in both study areas, due to the serological evidences and low parasitemia. It is possible that other mammal species are participating in this cycle as maintaining or amplifier hosts, for example the ferret *Galictis* cf. *cuja*. In conclusion, the profile of the transmission cycle of T. cruzi in this area was a sub-patent parasitemia in the marsupials, evidenced only by serologic results, and there is continuity in the parasite transmission throughout the year in the two study areas, observed in the serologic conversions.

# 1. INTRODUÇÃO

A substituição dos habitats naturais por áreas cultivadas, exploração mineral e vegetal e a ocupação humana têm alterado a estrutura das comunidades de plantas e de animais. Os mamíferos desempenham um papel ecológico especial nestas áreas perturbadas sendo considerados bons indicadores do grau de perturbação (Soule e Wilcox, 1980). Além disso, muitas espécies de pequenos mamíferos estão envolvidas em ciclos de parasitos que afetam o hospedeiro humano, agindo como reservatórios silvestres (Mills et al., 1998). Essas modificações ecológicas têm fortes impactos sanitários, particularmente no que se refere à emergência ou reemergência das zoonoses (Kruse et al., 2004; Wolfe et al., 2007), tendo grande importância na variação espacial e temporal de endemias como malária, febre amarela, dengue, leishmanioses e tripanossomíase americana (ou doença de Chagas).

# 1.1. Tríade Parasitária: Hospedeiros, Parasitos e o Meio

A definição de Parasitismo não é simples. A cada tentativa de elucidar essa interação ecológica, novos pontos surgem para serem debatidos e esclarecidos, dentre estes, temos questões relativas à virulência do parasito (carga parasitária e patogenicidade), adaptação do parasito ao hospedeiro e a adaptação do hospedeiro ao parasito. O fenômeno parasitismo é um sistema composto por três subsistemas: o parasito, o hospedeiro e o ambiente, os quais se inter-relacionam e se influenciam (Ferreira, 1973; Araújo et al., 2003). Pesquisadores possuem visões diferentes desta interação e alguns a descrevem como um fenômeno muito complexo, que possui também um enfoque ecológico (Araújo et al., 2003; Poulin, 2007; Krasnov et al., 2007). Desta forma, os estudos sobre o fenômeno parasitismo devem integrar o conhecimento aprofundado sobre a ecologia dos hospedeiros humanos e não humanos, que podem atuar nos ciclos biológicos dos seus parasitos; o conhecimento dos parasitos e suas características específicas; e também das variáveis bióticas e abióticas que formam o ambiente dessa interação, sendo esta uma interação dinâmica no espaço e no tempo (Ávila-Pires, 2005).

Os hospedeiros correspondem ao habitat do parasito, e estes são "ambientes ativos", ou seja, reagem à presença do parasito em seu organismo. Tal resposta pode, inclusive, levar a modificação de seus hábitos e sua biologia (Begon *et al.*, 1996). Em relação à ecologia dos hospedeiros, o estudo das populações de animais a longo prazo avaliando parâmetros como o tamanho populacional, taxas de sobrevivência e recrutamento, índices de diversidade e variáveis abióticas do meio ambiente, nos permite avaliar o padrão e as causas das oscilações populacionais e das taxas de infecção ao longo do tempo no sistema reservatório, bem como a influência do parasitismo nos indivíduos e nas populações dos hospedeiros. Nessas avaliações deve-se considerar o cenário biológico e abiótico em que essas populações ocorrem, como por exemplo, a diversidade da fauna, habitat, estado de conservação da área, clima, tipo de atividade econômica. Além disto, os estudos dos habitats, hábitos e estratégias de vida dos hospedeiros podem contribuir para a compreensão da interação destes com seus parasitos.

Em relação aos parasitos, além do conhecimento detalhado do seu ciclo biológico, devem ser avaliadas suas taxas de infecção (prevalência e incidência) nas populações dos hospedeiros, a ocorrência de diferentes linhagens do parasito, o estado de saúde de seus hospedeiros e a especificidade a hospedeiros, visto que essas variáveis são também influenciadoras do sistema parasito-hospedeiro. Também é importante analisar se há alguma diferença significativa destes parâmetros em relação aos aspectos populacionais dos seus hospedeiros, como tamanho das populações, estrutura etária, razão sexual, ou em relação ao habitat e a fatores abióticos como as estações do ano.

Os parasitos são importantes moduladores das populações de seus hospedeiros, e por consequência, do seu habitat, ou seja, o próprio hospedeiro. Alguns dos efeitos mediados por parasitas sobre a população de hospedeiros são: redução da fecundidade, redução ou aumento da sobrevivência, alterações na densidade populacional (quando o hospedeiro é eliminado ou sua população diminui bruscamente) (Hudson, 2001), modificação do comportamento do hospedeiro levando a alterações na taxa de transmissão do parasito (Grenfell e Dobson,1995), mudanças na capacidade de dispersão do hospedeiro, dentre outros. Como exemplo temos o estudo de Smith *et al.* (2008), onde o *Trypanosoma* sp. seria o principal responsável, ou participaria intensamente, do declínio da população da espécie de

marsupial australiano *Bettongia penicillata*, num estudo realizado ao longo de cinco anos na região. Albon *et al.* (2002) também demonstraram em seus resultados que os efeitos mediados pelo parasitismo do nematódeo gastrointestinal *Ostertagia gruehneri* sobre a fecundidade de renas são suficientes para regular a densidade populacional desses hospedeiros. E Fenner e Myers (1978) avaliaram o declinio nas taxas de mortalidade de coelhos silvestres ao longo do tempo após a introdução do Vírus Myxoma na população.

A mudança comportamental causada pelo parasito pode também alterar a capacidade de sobrevivência do hospedeiro sem causar diretamente uma doença. No caso de salmões infectados por cestódeos, a presença do parasito modifica a habilidade de orientação do hospedeiro, levando a concentração destes em determinados locais de difícil captação de recursos alimentares, deixando-os mais suscetíveis à predação por outros animais e à pesca (Combes, 2001).

Os parasitos podem também ter influência no comportamento sexual dos hospedeiros, influenciando na habilidade de encontro com o parceiro, como no caso de peixes parasitados que são menos capazes de explorar territórios e sofrem desvantagens ao competirem com peixes não parasitados (Combes, 2001).

Outro exemplo da influência do parasitismo sobre seus hospedeiros é dado na interação entre a coruja *Aegolius funereus* e o hemoparasito *Trypanosoma avium*. Neste caso o investimento na reprodução da coruja *Aegolius funereus*, que é a defesa da sua prole contra o mustelídeo *Mustela vison*, foi fortemente reduzido quando realizado por machos naturalmente infectados (Hakkarainen *et al.*, 1998).

Relacionando esses efeitos influenciados pelos parasitos sobre seus hospedeiros e sobre o meio em que vivem, podemos então afirmar que os parasitos são importantes bio-indicadores do ambiente, sendo uma parte integrante e influenciadora deste complexo sistema (Marcogliese, 2005).

De acordo com Keesing *et al.* (2006), a transmissão de parasitos que podem causar doenças infecciosas é um processo nitidamente ecológico, pois envolve a interação de ao menos duas, e frequentemente, muitas espécies de animais

hospedeiros, além do parasito e o próprio ambiente. Logo, a diversidade de espécies pode afetar a prevalência dessas doenças (Keesing *et al.*, 2006).

De acordo com a OMS/FAO, zoonoses são infecções ou enfermidades infecciosas transmissíveis em condições naturais entre o homem e os animais, domésticos ou silvestres (Ávila-Pires, 2005). Nas últimas décadas, a importância dos estudos sobre parasitismo relacionado ao ambiente vem se destacando devido à emergência e re-emergência de doenças em seres humanos de origem zoonótica. As alterações na ecologia do parasito e/ou na ecologia do hospedeiro são tidas como as principais responsáveis por tais emergências, e as zoonoses provenientes de animais silvestres estão geralmente associadas a ações antropogênicas que tendem a aumentar a taxa de contato entre os hospedeiros animais e humanos (Slingenbergh, 2004). Destaca-se a participação de pequenos mamíferos como hospedeiros de parasitos que estão envolvidos com essas doenças que possuem forte impacto na saúde humana como as febres hemorrágicas (por. ex. a hantavirose), as tripanosomíases, a leishmaniose e a esquistossomose.

Ashford (1997) ressaltou que o reservatório de um parasito é um sistema ecológico no qual o agente infeccioso persiste indefinidamente, onde um hospedeiro vertebrado ou um grupo de hospedeiros é essencial para tal sistema. Algum tempo depois, Haydon *et al.* (2002) complementaram essa definição descrevendo reservatório como uma ou mais populações ou ambientes epidemiologicamente conectados, nos quais o parasito pode ser mantido e onde a infecção é transmitida a novas populações. Eles também destacaram que as populações num sistema reservatório podem ser compostas por uma só espécie ou por diferentes espécies, incluindo as espécies de vetores (Figura 1.1).

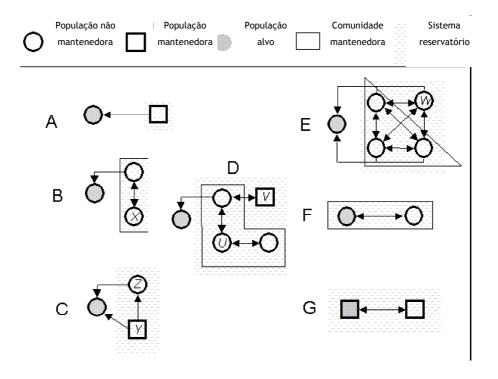


Figura 1.1. Exemplos de sistemas reservatórios simples e complexos. Em A, a população mantenedora transmite um parasito a outra população não mantenedora. Em B, o reservatório é composto por duas populações não mantenedoras conectadas, onde apenas uma é a população fonte e isoladas não poderiam constituir um sistema reservatório (tipicamente, doenças causadas por vetores). Em C, Y é a população mantenedora, mas a transmissão pode ocorrer diretamente ou através de uma outra população fonte (Z) que não é essencial para manutenção do parasito, mas faz parte do sistema reservatório pois contribui para a sua transmissão. Em D, quatro populações não mantenedoras podem ser incluídas de acordo com a dinâmica do sistema reservatório, pois V é uma população mantenedora independente. Em E, todas as populações do sistema são fontes. F mostra que uma população por si só pode constituir parte do reservatório. E G, que uma população pode ser também mantenedora. Fonte: Modificado de Haydon *et al.*(2002).

No parasitismo, existem hospedeiros competentes e não competentes para a transmissão de um parasito, e em doenças transmitidas por vetores, como a doença de Chagas, a habilidade dos hospedeiros vertebrados na transmissão para o vetor é um importante ponto na dispersão do parasito (Schmitdt e Ostfeld, 2001). No cenário epidemiológico deste estudo, as espécies hospedeiras consideradas competentes

para a transmissão do parasito, ou seja, com alta transmissibilidade de infecção para outros hospedeiros serão consideradas reservatórios do parasito.

De acordo com estudos de ecologia do parasitismo, o perfil faunístico da região é um importante fator na composição da rede de transmissão do parasito, onde a habilidade de transmissão do parasito das espécies hospedeiras selecionadas resultará na manutenção ou amplificação do parasito no meio (Ostfeld e Keesing, 2000; Schmitdt e Ostfeld, 2001). Em áreas com maior riqueza de espécies hospedeiras, pode haver o aumento do número de espécies fracamente competentes ou não competentes, resultando na diminuição da probabilidade dos vetores se infectarem com o parasito. Nessa situação, há uma chance menor do vetor se alimentar de reservatórios competentes, consequentemente, diluindo a transmissão do parasito e reduzindo a prevalência deste no meio, ou mesmo diluindo o risco de transmissão para a população humana (no caso de zoonoses) (Schmitdt e Ostfeld, 2001). Por outro lado, a redução da diversidade de uma área pode acarretar no beneficiamento de algumas poucas espécies oportunistas, que apresentam um aumento dos seus tamanhos populacionais e expansão de seu nicho em relação ao habitat. Se estas espécies forem as mais competentes para a transmissão de determinado parasito, pode ocorrer um incremento nas taxas de infecção (prevalência, parasitemia, incidência) e, portanto aumento de risco de transmissão para as populações humanas do local, amplificando a sua transmissão.

#### 1.2. O parasito *Trypanosoma cruzi*

O protozoário *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* pertence ao Sub-reino Protozoa, Filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora, Ordem Kinetoplastida, Família Tripanosomatidae. A Ordem Kinetoplastida abrange um grupo de espécies que contêm uma região especializada da mitocôndria conhecida como cinetoplasto, onde se encontra o DNA mitocondrial conhecido como kDNA. Esta estrutura é constituída por milhares de cadeias de moléculas de DNA circulares fechadas em minicírculos e maxicírculos. O *T. cruzi* é um parasito digenético, heteroxeno que tem como hospedeiros vertebrados, mamíferos de oito diferentes ordens, e como hospedeiros invertebrados, numerosas espécies de hemípteros hematófagos da família Reduviidae (WHO, 2002).

Dentre os hospedeiros mamíferos do parasito *T. cruzi,* encontram-se espécies pertencentes às ordens Didelphimorphia, Xenartha, Chiroptera, Carnivora, Rodentia e Primates (WHO, 2002).

Os marsupiais da família Didelphidae são considerados um dos reservatórios mais antigos e importantes do *T. cruzi*. Deane *et al.* (1984), observaram que um ciclo de multiplicação extracelular do *T. cruzi* pode ocorrer na secreção acumulada no lúmen das glândulas anais do gambá (marsupiais da família Didelphidae). E Steindel *et al.* (1988) verificaram que o mesmo ciclo extracelular ocorre na natureza, e também em marsupiais do gênero Lutreolina.

A população do *T. cruzi* é basicamente clonal, com uma significante heterogeneidade intraespecífica (Tibayrenc et al., 1991, 1995, 2003). De acordo com a análise de RNA ribossomal, duas linhagens do parasito foram definidas, a linhagem L1, que está associada ao ciclo doméstico, e a L2 ao ciclo silvestre (Zingales et al., 1999). Com base no perfil eletroforético de seis enzimas, o T. cruzi pode ser agrupado em três zimodemas (grupo de cepas que possuem o mesmo perfil de isoenzimas): Z1 e Z3 relacionado a um ciclo de transmissão silvestre, e Z2 a um ciclo doméstico (Miles et al., 1977, 1980). Num encontro internacional, realizado no Rio de Janeiro, Brasil, os mais importantes zimodemas e linhagens foram redefinidos em dois grupos denominados TCI (Z1 e L2), que está associado ao ciclo silvestre do parasito, e TC II (Z2 e L1) relacionado ao ciclo doméstico da doença (Anonymous, 1999). Entretanto, há cepas que não se incluíam em nenhumas das duas linhagens referidas, como as pertencentes ao Z3 e cepas híbridas. Atualmente, Freitas et al. (2006) descreveram novos e importantes aspectos da estrutura de população deste parasito, especialmente na caracterização de uma terceira linhagem.

Um ciclo de transmissão doméstico do *T. cruzi* pode ocorrer no ambiente envolvendo o homem, animais sinantrópicos e/ou domésticos e triatomíneos domiciliados. O ciclo silvestre envolve animais e triatomíneos silvestres, podendo ou não haver sobreposição entre este dois ciclos, com a formação de um ciclo paradoméstico. Sabe-se que a ocupação humana do ambiente silvestre ou em ambientes de interface silvestre / rural / peridoméstico pelo homem, a domiciliação de triatomíneos, e/ou o contato de mamíferos silvestres com o hospedeiro humano

permitem a ligação existente entre esses dois ciclos (Barreto *et al.*, 1979). Apesar do Brasil ter recebido em 2006 a certificação internacional da eliminação da Doença de Chagas transmitida pelo *Triatoma infestans*, conferida pela Organização Pan-Americana da Saúde, tal certificação não representa o controle efetivo da doença, e sim a eliminação (interrupção momentânea) da transmissão do parasito especificamente pelo triatomíneo da espécie *T. infestans*, sendo necessário a manutenção de alguma ação de controle e vigilância para que a interrupção se mantenha. Por outro lado, têm sido notificados casos de surtos de Doença de Chagas pela via oral, principalmente pela ingestão de alimentos contaminados, dificultando as medidas de controle dessa zoonose (Barbosa, 2006).

Foi observado, que o ciclo silvestre do T. cruzi é bastante complexo, na medida que, em um mesmo segmento da floresta, podem ocorrer distintos e independentes ciclos de transmissão (Fernandes et al., 1999). Dessa forma, a sua manutenção/dispersão pode ocorrer por formas distintas numa mesma área, sendo que uma espécie de hospedeiro pode atuar de formas diferentes em cada ciclo, ao longo do tempo e do espaço (Jansen et al., 1999). Logo, generalizações ou predições deverão ser feitas com muita cautela num estudo enzoótico do parasito. Essa complexidade é demonstrada em alguns estudos que revelaram a presença de ambos os grupos de *T. cruzi*, I e II, em mamíferos silvestres simpátricos, relatando a existência de dois ciclos de transmissão distintos numa mesma área, um envolvendo predominantemente a espécie Didelphis aurita e outro, Philander frenatus (Pinho et al., 2000). Herrera et al. (2005) demonstraram em estudo realizado na Serra da Capivara (Piauí) e em seu entorno, que o roedor *Thrichomys laurentius* e o gambá Didelphis albiventris atuam naquela área como importantes reservatórios de T. cruzi, ambos abrigando mais de uma linhagem filogenética de T. cruzi, incluindo o zimodemo 3. Xavier et al. (2007) mostraram que o roedor Thrichomys laurentius, na localidade de Pedra Solta (Piauí), exercia uma função de hospedeiro amplificador do parasito, e que numa localidade próxima, esse mesmo hospedeiro expressava um perfil de infecção distinto, e parecia estar atuando como hospedeiro mantenedor no ciclo endêmico do T. cruzi.

Provavelmente, o grande sucesso adaptativo do parasito deve-se a sua extrema heterogeneidade genética, a sua grande diversidade de espécies de

hospedeiros, a alta capacidade de colonizar diferentes tecidos e a grande adaptação a numerosas espécies de triatomíneos (Jansen *et al.*, 1999).

# 1.3. Os mamíferos hospedeiros deste estudo

As espécies abordadas nesta dissertação foram os pequenos mamíferos terrestres mais abundantes encontrados nas áreas de estudo.

Os marsupiais da família Didelphidae são tidos como importantes hospedeiros do *T. cruzi*, entretanto, as taxas de infecção destes animais, assim como das espécies de roedores variam nos diferentes ambientes, nas escalas tempo e espaço (Bar *et al.*, 1999; Pinho *et al.*, 2000; Herrera *et al.*, 2005; Lisboa *et al.*, 2006; Roque *et al.*, 2009).

A espécie D. aurita (Figura 1.2) é uma espécie onivora, de habitat generalista, nômade, com proles numerosas e altamente adaptada ecologicamente. Ocorre em formações vegetais de floresta da Mata Atlântica, em Matas de Galeria e em Restingas, assim como em áreas transformadas pela ação antrópica, tanto urbanas como rurais (Cerqueira, 1985; Freitas et al., 1997, Gentile e Fernandez, 1999). No habitat silvestre, esta espécie é encontrada com frequência no solo, sendo considerada semiterrestre, porém quando jovens, escalam cipós e outros suportes como estratégia de fuga para o sub-bosque e dossel. Seus ninhos são feitos, em geral, em buracos no solo, em emaranhados de cipós nas copas das árvores, e em ocos de troncos (Delciellos et al., 2006). Os animais quando adultos são ocasionalmente arborícolas, solitários, com hábitos noturnos e bastante nômades, sendo que os machos percorrem caminhos maiores quando comparados às fêmeas. Com relação aos aspectos bionômicos da espécie, o tempo de gestação varia de 13 a 15 dias, sendo a idade média de desmame de 100 dias, com tamanho médio da ninhada de sete filhotes (Motta, 1988). A idade mínima para a maturação é de 170 dias, e a estação reprodutiva se inicia em julho/agosto com término em março na região do Estado do Rio de Janeiro (Gentile et al., 2000).



Figura 1.2. O marsupial *D. aurita*. Autor: V. Rademaker

A cuíca *Philander frenatus* (Figura 1.3), conhecida como cuíca-cinza-dequatro-olhos, é um marsupial silvestre, encontrado com menos frequência em áreas peridomiciliares quando comparado ao gambá (D'Andrea *et al.*, 1999). Apresenta hábito semiterrestre, e às vezes é encontrada no sub-bosque. Suas áreas de vida geralmente estão associadas à presença de riachos com muitas rochas, e seus ninhos podem ser encontrados em buracos formados por vão de pedras, tocos e troncos caídos (Gentile e Fernandez, 1999, Delciellos *et al.*, 2006). Segundo D'Andrea *et al.* (1994), os parâmetros bionômicos deste marsupial indicam um tempo de gestação de 14 a 15 dias, com tamanho médio de cinco filhotes e proporção sexual de 1:1, a idade para o desmame varia entre 70 e 80 dias, a idade mínima de maturação é em torno de 155 dias, e a estação reprodutiva ocorre de julho/agosto a março/abril, considerando-se o fotoperíodo do Estado do Rio de Janeiro. Esta espécie também apresenta infecções estáveis por *T. cruzi* embora não tenha sido descrito que ela mantenha o ciclo de multiplicação extracelular do parasito.



Figura 1.3. O marsupial P. frenatus. Autor: V. Rademaker

A espécie *Nectomys squamip*es (Figura 1.4) é um roedor pertencente à ordem *Rodenti*a, subfamília Sigmodontinae, que está presente na Mata Atlântica. É comumente chamado de rato d'água, por ser um roedor semiaquático. Possui hábito solitário e vive próximo a rios, riachos, corpos d'água, reservatórios de água ou áreas brejosas, margens úmidas e encharcadas (Emmons e Feers, 1997), onde constrói seus ninhos em troncos de árvores e vegetações próximas da água (Ernest, 1986). Como possui adaptação ao nado, apresenta membranas interdigitais desenvolvidas nas patas traseiras. Sua alimentação consiste em diversos itens encontrados na água, como insetos, larvas de artrópodos, caramujos, girinos e frutos. É um roedor de porte médio, tamanho cabeça-corpo de 250 mm e peso do adulto variando entre 140 a 400g, hábitos noturnos com atividade predominante entre 18h00min e 03h30min (Ernest, 1986).



Figura 1.4. O roedor N. squamipes. Fonte: Bonvicino et al., 2008.

O roedor *Akodon cursor* (Figura 1.5) também pertencente à subfamília Sigmodontinae, conhecido normalmente como rato do campo, é encontrado em baixas altitudes, sendo este o fator limitante de sua área de distribuição (Geise, 1995). Possui hábito terrestre e bicrepusculares (Fernandez, 1989). Habita formações florestais, áreas abertas adjacentes e campos de altitude ao longo de toda a Mata Atlântica, campos do sul, áreas florestais da Caatinga, e formações vegetais abertas e fechadas do Cerrado. Sua alimentação consiste basicamente de frutos, folhas e insetos (Guapyassú *et al.*, 1994).



Figura 1.5. O roedor *A. cursor*. Autor: C.R. Bonvicino.

A espécie *Oligoryzomys nigripes* (Figura 1.6) é um pequeno roedor, conhecido como rato do arroz, que possui o comprimento da cauda maior que o comprimento do seu corpo. Este gênero possui hábito silvestre e terrestre, e habita formações florestais e abertas da Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Pantanal, Caatinga e Cerrado. A distribuição da espécie *O. nigripes* no Brasil abrange desde de o estado de Pernambuco até ao norte do Rio Grande do Sul, em Minas Gerais e no Distrito Federal (Bonvicino, C.R. *et al.*, 2008).



Figura 1.6. O roedor *O. nigripes*. Autor: Bonvicino, C.R.

#### 1.4. Contexto do estudo

Este trabalho esteve inserido num projeto inicial relacionado à participação dos pequenos mamíferos reservatórios nos ciclos de transmissão do *Schistosoma mansoni* no Município de Sumidouro, Rio de Janeiro.

Por mais de 10 anos, este projeto foi realizado em diversas localidades do Município de Sumidouro, região serrana do Estado do Rio de Janeiro, cujos objetivos eram avaliar, controlar e prevenir a esquistossomose mansônica. Desta forma, houve nesta área um monitoramento da infecção nas populações de pequenos mamíferos e moluscos (hospedeiro intermediário), e a realização de diagnóstico e tratamento da população humana, além de programas de divulgação de medidas de prevenção e capacitação profissional, visto tratar-se de uma área endêmica de esquistossomose. No decorrer desse projeto, no ano de 2003, um espécime de carnívoro da espécie Galictis cf. cuja, conhecido como furão, foi capturado infectado com T. cruzi, o qual apresentou hemocultivo positivo e com a caracterização de sua cepa em TCI (Jansen, comunicação pessoal). A partir desta constatação, um subprojeto foi desenvolvido, onde iniciou-se a investigação da infecção por T. cruzi nos pequenos mamíferos das áreas de estudo, especialmente nos marsupiais, resultando nos dados aqui apresentados. Apesar da ausência de casos humanos com Doença de Chagas na região, levantou-se a importância de se monitorar, a longo prazo, as taxas de infecção por *T. cruzi* nos marsupiais para se compreender melhor esta relação parasita-hospedeiro, considerando-se diversos fatores ecológicos. Cabe acrescentar, que este tipo de monitoramento nunca foi feito anteriormente em marsupiais no Brasil, havendo pouquíssimos estudos de longo prazo onde foram feitos monitoramentos das taxas de infecção por T. cruzi em mamíferos silvestres de vida livre (Lisboa et al., 2004; Monteiro at al., 2006).

#### 2. OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo Geral

Estudar a dinâmica das populações de pequenos mamíferos não voadores e suas taxas de infecção natural por *Trypanosoma cruzi* com vistas a se determinar o perfil desta infecção nos pequenos mamíferos ao longo do tempo, em duas áreas rurais do Município de Sumidouro, Estado do Rio de Janeiro.

# 2.2. Objetivos Específicos

- Analisar a dinâmica populacional, a reprodução e a estrutura etária das espécies D. aurita, P. frenatus, N. squamipes, A. cursor e O. nigripes na área de estudo, no período de 2001 a 2006.
- Determinar as taxas de prevalência, incidência da infecção e conversões sorológicas por *T. cruzi* nos pequenos mamíferos, através de hemocultura e sorologia em amostras coletadas no período de 2004 a 2006.
- Investigar as relações entre as taxas de infecção com o sexo, a idade e a abundância de cada espécie e com parâmetros abióticos.
- Caracterizar a riqueza e a diversidade de pequenos mamíferos das áreas estudadas, e relacionar tais taxas com o perfil de transmissão do *T. cruzi*.
- Analisar a influência do parasitismo por *T. cruzi* nos parâmetros populacionais dos seus hospedeiros (tamanho da população, recrutamento, sobrevivência, frequência de fêmeas reprodutivas).
- Caracterizar as localidades quanto à estrutura do habitat, determinar possíveis preferências de habitat pelas espécies estudadas e relacionar estes parâmetros com as taxas de infecção, contribuindo para a caracterização do cenário epidemiológico de transmissão silvestre do *T. cruzi*.

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

# 3.1. Área de estudo

Sumidouro é um município da região serrana do Estado do Rio de Janeiro (22º02"S, 42º41"W), com altitude média de 348 metros (IBGE), distante cerca de 170 km da cidade do Rio de Janeiro (Figura 3.1).

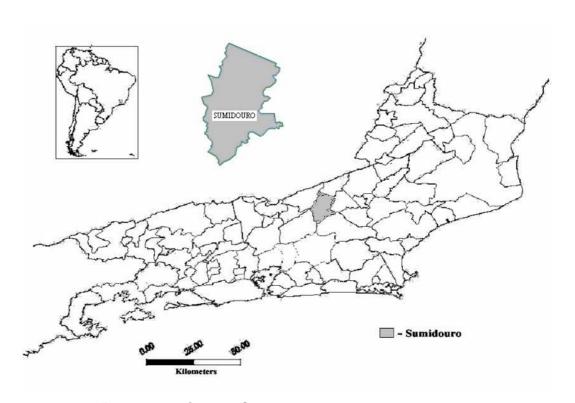


Figura 3.1. Localização do Município de Sumidouro no Estado do Rio de Janeiro.

A região apresenta clima mesotérmico úmido (Nimer, 1979), destacando-se duas estações climáticas: uma quente e mais úmida, dos meses de Novembro a Março, com temperaturas máximas em Fevereiro e chuvas mais abundantes em Dezembro; e outra relativamente mais fria dos meses de Maio a Outubro, com temperaturas mínimas em Julho. O gráfico ombrotérmico da região mostra a precipitação mensal e temperatura compensada no período de 2001 a 2006. (Dados do Instituto Nacional de Meteorologia da Estação do Carmo) (Figura 3.2). A principal coleção hídrica é o Rio Paquequer, afluente do Rio Paraíba do Sul, que nasce no sopé da Serra do Paquequer, correndo para o norte, com um percurso de 29 km dentro do município.

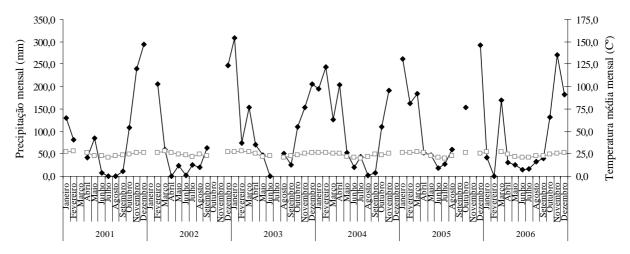


Figura 3.2. Gráfico Ombrotérmico com base nos dados da Estação Meteorológica de Carmo, RJ, de 2001 a 2006. A escala da precipitação (linha escura com losangos) corresponde ao dobro da escala da temperatura. Quando a curva de precipitação (linha cinza com quadrados) está abaixo da curva de temperatura, considera-se déficit hídrico.

O município apresenta uma população de 14562 habitantes (IBGE, 2008), sendo que a maioria (87,7%) vive na área rural. A base de seu desenvolvimento econômico, desde o início do século XIX, é a agricultura, e atualmente, as plantações vegetais assim como a criação de gado são as atividades econômicas mais importantes da região.

Duas localidades diferentes foram estudadas, de acordo com um projeto de pesquisa já desenvolvido anteriormente no município: o Vale do Encanto (área I) e o Vale do Pamparrão (área II). Estas localidades englobam pequenas propriedades rurais com lavouras de legumes e hortaliças e criação de gado leiteiro, restando poucas áreas de mata que se restringem ao alto dos morros, sendo a área I mais explorada economicamente do que a área II.

A localidade do Encanto apresenta 37 residências (sendo uma pousada), onde moram 137 pessoas (Figura 3.3). A paisagem da região é bastante perturbada, sendo caracterizada por muitos córregos, uma barragem, lagos artificiais, diversas propriedades rurais com plantações, áreas de pastagem e poucos fragmentos pequenos de Mata Atlântica. As capturas dos pequenos mamíferos foram feitas em três transectos ao longo da localidade (22°01'07"S – 42°38'01"W; 22°01'30"S – 42°37'45"W; 22°02'37"S – 42°37'13"). Um transecto é

caracterizado por uma vegetação rasteira e aberta, com muitas gramíneas de um lado do córrego e uma mata fechada do outro lado do córrego; o segundo transecto possui uma vegetação aberta e intensa presença de capim navalha, com moitas esparsas e alguns arbustos; e o terceiro transecto tem uma vegetação mais densa, principalmente próxima ao solo e muitos arbustos (Portugal, 2006).



Figura 3.3. Vista da área de estudo I, Vale do Encanto, Município de Sumidouro, Estado do Rio de Janeiro. Fonte: LABPMR.

O Vale do Pamparrão apresenta 80 habitantes em 17 residências, e também é caracterizado por pequenas propriedades rurais com plantações agrícolas de subsistência, áreas de pastagem e pequenos fragmentos de Mata Atlântica, possuindo ainda muitos riachos, canais de irrigação e áreas de alagamento (Figura 3.4). A captura também foi feita em três transectos (22°02'14,4"S – 42°38'21,1"W; 22°02'02,5"S - 42°38'59,1"W; 22°01'38,5"S - 42°38'4 8,9"W). Sua vegetação predominante compreende as famílias: Cyperaceae, Graminae, Verbenaceae, Compositae, Leguminosae, Euphorbiaceae, Solanaceae e Onagraceae (Gentile e Fernandez, 1999). O primeiro transecto apresenta uma vegetação aberta, com arbustos esparsos, algumas plantações e pouco ou nenhum dossel em alguns pontos; o segundo transecto apresenta uma vegetação próxima ao solo bem desenvolvida com gramíneas que servem de alimento para o gado, arbustos densos e árvores; e o último caracteriza-se por uma contínua vegetação densa de

Hedychium choronarium (Zingiberaceae), conhecida como lírio-do-brejo que é uma espécie exótica invasora (Portugal, 2006).



Figura 3.4. Vista da área de estudo II, Vale do Pamparrão, Município de Sumidouro, Estado do Rio de Janeiro. Fonte: LABPMR.

Todos os transectos de captura, tantos da área I quanto da área II, foram dispostos ao longo de córregos.

#### 3.2. Métodos de coleta

#### 3.2.1. Coleta de dados populacionais dos pequenos mamíferos

Três linhas de capturas (transectos) foram estabelecidas em cada área de estudo, sendo que na área I os transectos tinham 30 estações de captura com uma armadilha do tipo "live-trap", alternando entre Tomahawk (40,64cm x 12,70cm x 12,70cm) (Figura 3.5) e Sherman (30,48cm x 7,62cm x 9,53cm) (Figura 3.6), e espaçamento de 15 metros entre os pontos (Figura 3.7); na área II os transectos tinham 15 estações de capturas, com uma armadilha do tipo Tomahawk em cada estação, também com espaçamento de 15 metros entre os pontos. Deste modo, empregou-se um esforço total de captura de 450 armadilhas-noite na área I (cinco noites de captura x 90 armadilhas), e 180 armadilhas-noite na área II (quatro noites x 45 armadilhas).



Figura 3.5. Armadilha Tomahawk. Fonte: LABPMR.



Figura 3.6. Armadilha Sherman. Fonte: LABPMR.

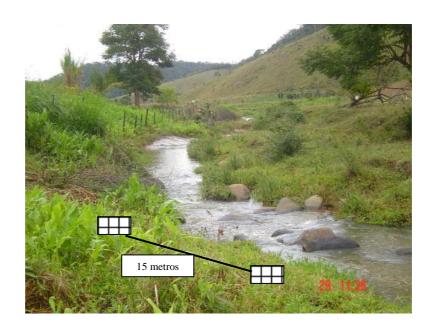


Figura 3.7. Foto de um transecto na localidade do Encanto mostrando um esquema do posicionamento das armadilhas ao longo do córrego. Fonte: LABPMR

Os dados para análise da dinâmica populacional dos pequenos mamíferos foram coletados em excursões trimestrais de 2002 a 2006. Na área I foi realizado um estudo de captura-marcação e recaptura dos marsupiais e roedores da região,

onde cada animal capturado pela primeira vez recebeu uma marcação individual através de brincos numerados em cada orelha ("ear tag"). Na área II, devido à metodologia de remoção de roedores desenvolvida na área pelo projeto principal sobre esquistossomose, não foi possível acompanhar a dinâmica de população dessas espécies. Dessa forma, somente os marsupiais foram analisados quanto a sua dinâmica populacional com base no método de marcação e recaptura.

A cada captura eram coletados os dados bionômicos de cada animal: sexo, peso, estado reprodutivo e o grau de erupção dentária para estimativa de idade. Após a captura e a coleta dos dados bionômicos e de material biológico, os animais foram mantidos em locais apropriados, e ao final da excursão, cada animal foi solto em seu respectivo ponto de coleta.

As coletas foram feitas mediante autorização do IBAMA, licenças número 244/2001, 0123/2002, 061/2003, 124/2004 e 068/2005. Todos os procedimentos de campo e laboratório realizados com os animais foram feitos mediante autorização do Comitê de Ética em Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz, licença número P-0083-01.

Os dados populacionais de 2001 a 2003 foram coletados pelo Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR) e cedidos para análise desta dissertação. Todos os outros dados de campo (2004 a 2006) foram por mim coletados anteriormente ao programa de mestrado, durante minha iniciação científica. Todas as análises de laboratório foram por mim realizadas.

#### 3.2.2. Coleta de dados do habitat

Para a caracterização do habitat da área de estudo foram medidas variáveis quantitativas e qualitativas que compõem os locais de captura das espécies de mamíferos. Todas as variáveis foram medidas em todas as estações de captura de todos os transectos. A coleta dos dados foi realizada no mês de maio do ano de 2005, segundo o protocolo em anexo (Figura 3.8).



Figura 3.8. Medição do Habitat. Fonte: LABPMR.

Os descritores quantitativos tomados foram:

- Obstrução Foliar Vertical em três diferentes alturas: zero a 50cm (OFV1),
   50cm a 1m (OFV2) e 1m a 1,5m (OFV3), compondo o extrato vertical;
- Porcentagem de folhiço (FOL); de pedras (PEDRA); de exposição do solo (SOLO); de água (AGUA); e de partes de plantas verdes (CHL), na composição horizontal inferior;
- Cobertura do dossel (DOSSEL) (composição horizontal superior);
- Altura do dossel (ALT)
- Número de raízes e troncos (TRONCO);

Em cada estação de captura, as variáveis quantitativas foram medidas em cinco pontos: um central (no local exato da armadilha), e os outros ao norte, sul, leste e oeste da armadilha, a 1,5m do ponto central, de acordo com Freitas *et al.* (2002). Sendo assim, a área total de medição englobava 9m² em torno da armadilha (Figura 3.9).

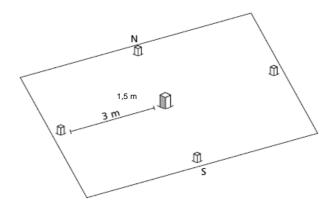


Figura 3.9. Área de 9m² onde as variáveis quantitativas foram medidas. A área foi composta por 5 pontos de medição: ao centro, norte, sul, leste e oeste. Fonte: Adaptado de Freitas *et al.*, 2002.

Para a medição das variáveis quantitativas OFV1, OFV2, OFV3, FOL, PEDRA, SOLO, ÁGUA, CHL e DOSSEL foi utilizada uma estrutura quadrada de arame (0,50m x 0,50m) dividida em 100 quadrados de tamanhos iguais como proposto por Freitas *et al.* (2002) (Figura 3.10).

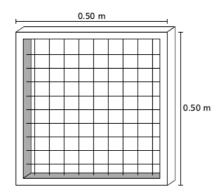


Figura 3.10. Ferramenta utilizada na medição das variáveis quantitativas do habitat. Fonte: Adaptado de Freitas *et al.*, 2002.

Essas variáveis foram tomadas através da obstrução visual dos quadrados na grade de medição em cinco posições de observação em cada ponto: horizontal inferior (Figura 3.11A), horizontal superior (Figura 3.11B), vertical 1 (Figura 3.11C),

vertical 2 (Figura 3.11D) e vertical 3 (Figura 3.11E). O resultado de cada medição foi dado em percentual.

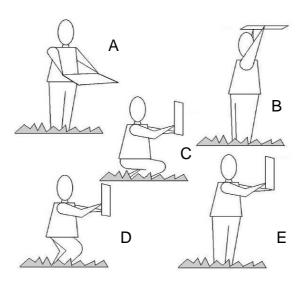


Figura 3.11. Posições de observação na medição das variáveis quantitativas. Fonte: Adaptado de Freitas *et al.*, 2002.

Os descritores qualitativos foram medidos numa área com extensão de um raio de 5m em torno do ponto de captura. Estas variáveis foram classificadas em escores. Este grupo incluiu as seguintes variáveis:

- Áreas alagadas, plantações, árvores com frutos exceto bananeiras, afloramentos rochosos (presença -1 ou ausência -0)
- Porte das árvores predominantes (pequeno -1, médio 2 e grande -3), sub-bosque (aberto 1, semi-aberto 2 e fechado 3), relevo (plano 1, pouco inclinado 2 e muito inclinado 3).
- Plantas predominantes: gramíneas, bananeira, cipós, epífitas, plântulas,
   capim-navalha, Hedichyum (ausente 0, pouco 1, regular 2 e muito 3).

## 3.2.3. Coleta de amostras parasitológicas e sorológicas

As amostras de sangue de marsupiais foram colhidas nos anos de 2004, 2005 e 2006, enquanto que para os roedores foram colhidas somente no ano de

2006, em ambas as situações com periodicidade trimestral e nas duas áreas de estudo.

O parasitismo por *T. cruzi* foi avaliado através de testes de diagnóstico sorológicos (Imunofluorescência indireta) e parasitológicos (hemocultura). Para tal, foram colhidas amostras de sangue por punção cardíaca de todos os animais a cada captura, em condições assépticas e de biossegurança.

Um volume de 300 µL de sangue dos roedorees foi inoculados em um tubo com meio de cultura (Novy Neal Nicol – NNN- e Liver Infusion Trypyose - LIT) para o diagnóstico parasitológico do *T. cruzi*, para os marsupiais foram coletados dois tubos de amostra de sangue devido ao maior porte desses animais. Uma alíquota de 0.5-1mL do sangue foi retirada para obtenção do soro através da centrifugação, e mantidas em freezer a -20℃. Para manuseio e coleta de amostras, os animais foram anestesiados com Acetato de Ketamina (Ketamina <sup>™</sup>, 50mg/Kg) por injeção intramuscular.

#### 3.3. Métodos laboratoriais

## 3.3.1. Diagnóstico Parasitológico

O diagnóstico parasitológico foi realizado através da hemocultura em meio NNN (3 g NaCL + 6 g Bactor Agar + 400 mL da água destilada + 40 mL de sangue de coelho) e LIT. As amostras foram mantidas em estufa a 27°C durante três a cinco meses para pesquisa do parasito, feita através de análises quinzenais. A leitura da lâmina contendo uma gota de amostra de cada tubo foi realizada no microscópio óptico no aumento de 40x, percorrendo todos os campos de visualização para identificar a presença do parasito e a análise do grau de parasitemia nos indivíduos (Figura 3.12).

As amostras positivas foram amplificadas em meio LIT + 10% soro fetal bovino, visando sua amplificação populacional do parasito para posterior caracterização. Após a amplificação, o meio foi centrifugado e o sedimento obtido foi re-suspendido em 0,2 ml de TE buffer (10mM Tris HCl, 10mM EDTA, pH= 8,0) para crio-preservação em 10% Glicerol A caracterização molecular foi realizada em colaboração do Laboratório de Tripanossomatídeos (sob supervisão da Dra. Ana

Maria Jansen) e o Laboratório de Epidemiologia Molecular de Doenças Infecciosas (sob supervisão do Dr. Octavio Fernandes).

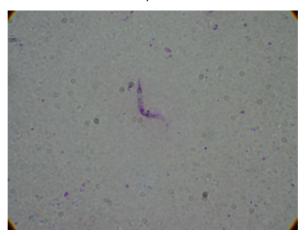


Figura 3.12. *T. cruzi* proveniente de hemocultivo do gambá *D.aurita* (LBCE 7830) capturado em Sumidouro / RJ, em fevereiro de 2006, observado em aumento de 40x no microscópio óptico. Fonte: LABPMR.

## 3.3.2. Diagnóstico Sorológico

O diagnóstico sorológico foi feito através do método de Imunofluorescência Indireta para *T. cruzi*. Este método consiste na reação de anticorpos presentes nas amostras com antígenos fixados em lâminas de microscopia para fluorescência do Kit de diagnóstico sorológico para *T.cruzi* (RIFI), fornecido por Biomanguinhos (Figura 3.13), tendo assim como objetivo a pesquisa de títulos de anticorpos séricos anti-*T. cruzi* no soro (Camargo 1966).

Para os roedores, os soros foram testados com IgG anti- rato conjugado a Isotiocianato de Fluoresceína da Sigma®; e para os marsupiais, com anticorpos intermediários específicos anti-gambá obtido em coelhos; que demonstra uma reação da IgG anti-coelho conjugada a Isotiocianato de Fluoresceína da Sigma®. O ponto de corte para os títulos sorológicos positivos utilizado foi de  $\geq$  1:10 e  $\geq$  1:40 para roedores e marsupiais, respectivamente (Jansen *et al.*, 1985).

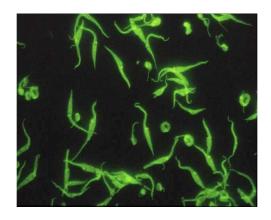


Figura 3.13. Amostra soro positiva para *T. cruzi* através da RIFI. Fonte: http://www.pasteur.fr/recherche/unites/tcruzi/minoprio/epi1.html

#### 3.4. Métodos de análise dos dados

## 3.4.1. Análise da dinâmica populacional dos pequenos mamíferos

Para análise dos parâmetros populacionais dos animais foram utilizados os dados coletados na região durante o período de cinco anos, 2001 a 2006. Somente as espécies de marsupiais e roedores mais abundantes nas áreas de estudo foram analisadas.

## 3.4.1.1. Marsupiais

A dinâmica populacional dos marsupiais estudados consistiu na análise dos seguintes parâmetros: tamanhos populacionais, sobrevivência, recrutamento e proporção de fêmeas em estado reprodutivo. Os tamanhos populacionais foram estimados para cada período de coleta pelo modelo Jacknife (Krebs, 1999). As taxas de recrutamento e de sobrevivência foram calculadas para cada período entre coletas através do método de Jolly-Seber (Seber, 1982). Quando não houve dados suficientes para o uso destes métodos, foi utilizado o método MNKA ("Minimum Number Known Alive" – Seber, 1982). As taxas de sobrevivência e de recrutamento foram padronizadas para um intervalo de tempo entre coletas de 90 dias de acordo com Fernandez (1995). Essa padronização permite a comparação ao longo do tempo destas estimativas, uma vez que houve variação no número de dias entre os intervalos dos períodos de coleta.

O período reprodutivo foi avaliado através da presença de fêmeas adultas capturadas com filhotes na bolsa ou com as tetas intumescidas, indicando

interrupção recente da lactação. Para esta análise, foram analisados os dados obtidos dos dois vales em conjunto.

A análise da estrutura etária foi feita classificando os animais em quatro classes de idade: filhotes, jovens, subadultos e adultos, dadas de acordo com o grau de erupção dentária de acordo com Gentile et al. (1995). Para P. frenatus a estimativa da idade foi feita segundo D'Andrea et al. (1994), e para D. aurita de acordo com Mota (1988), de acordo com as fórmulas dentárias estabelecidas nos estudos. Também nesta análise foram utilizados dados das duas áreas de estudo em conjunto.

A dinâmica populacional foi estudada a partir destes parâmetros, através de correlações simples entre o tamanho populacional e a sobrevivência e o recrutamento, e entre estes e a proporção de fêmeas reproduzindo e a precipitação da estação climática da região. Estas correlações foram feitas com defasagem no tempo ("time-lag") de acordo com o ciclo biológico das espécies (tempo de maturação, tempo de geração). Desta forma, foram avaliados os fatores dependentes e independentes da densidade na dinâmica populacional.

#### **3.4.1.2. Roedores**

Para os roedores, os tamanhos populacionais foram estimados para cada período de coleta utilizando o Programa Capture através do modelo Jacknife (Krebs, 1999). As taxas de recrutamento e de sobrevivência foram calculadas para cada período entre coletas usando o método Jolly-Seber (Seber, 1982). Quando não houve dados suficientes para o uso destes métodos, foi utilizado o método MNKA (Minimum Number Known Alive). A condição reprodutiva foi avaliada pelo apalpamento da região do abdômen e a observação visual da dilatação abdominal das fêmeas, indicando gravidez. A maturidade sexual foi determinada como a idade e o peso mínimo de machos escrotados e de fêmeas com vagina aberta. Para *N. squamipes*, a idade e o período de nascimento dos indivíduos jovens foram estimados através de curvas de crescimento de peso corporal obtido para cada sexo (D' Andrea *et al.*, 1996). Como nos marsupiais, também foram feitas correlações simples entre os parâmetros populacionais dos roedores com o índice de precipitação da região para análise dos fatores dependentes e independentes da densidade na dinâmica populacional.

Para cada população dessas espécies foi feita a análise de série temporal através da autocorrelação para avaliar a ocorrência de possíveis padrões periódicos ou cíclicos nos seus tamanhos populacionais com 3, 6, 9 e 12 meses de defasagem.

Os tamanhos populacionais dessas espécies também foram correlacionados através da correlação de Spearman (Zar, 1999) para verificar tendências populacionais similares ou opostas ao longo do tempo.

Todas as análises de correlações foram feitas usando correção de Bonferroni.

#### 3.4.2. Análise do habitat

Para análise das variáveis quantitativas e qualitativas, além das capturas do mês de maio, foram utilizadas as capturas dos meses de fevereiro e agosto de 2005, que foram as coletas próximas do período de medição do habitat. Somente as primeiras capturas de cada indivíduo em cada excursão foram utilizadas, pois as capturas subsequentes não são independentes da primeira e as análises de habitat pressupõem independência nos dados de captura.

As variáveis quantitativas foram transformadas de acordo com Freitas *et al.* (2002) para que todas ficassem numa mesma unidade de área. Foram feitas Correlações Simples de Spearman (dados não paramétricos) entre estas variáveis para exclusão das variáveis relacionadas. Após a exclusão destas, foi avaliada a preferência de cada espécie por determinada variável através da análise de Regressão Logística, pela observação da ausência ou presença das espécies em cada estação de captura. Nestas análises a correção de Bonferroni foi aplicada (Rice, 1989).

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi feita com todas as variáveis quantitativas para a caracterização das variáveis mais importantes. Foram considerados os cinco primeiros fatores da PCA. Para comparação entre as duas áreas de estudo, também foram feitas PCAs com as medidas de cada área separadamente.

Os valores dos escores de todos os fatores das análises de PCA das variáveis quantitativas foram correlacionados (Spearman) com as abundâncias de cada uma das espécies de animais separadamente. Posteriormente, foi feita uma Regressão Múltipla Passo a Passo "Backward" com as variáveis significativas dos

fatores que apresentaram correlação significativa para selecionar as variáveis de habitat mais relacionadas às espécies de pequenos mamíferos.

Por serem compostas de descritores muito heterogêneos, as variáveis qualitativas foram testadas para a caracterização do habitat da área de estudo e para preferência de habitat pelas espécies de pequenos mamíferos presentes nessa área através do Modelo Linear Geral (GLM), onde foram determinadas as variáveis mais representativas de cada área e as mais relacionadas com cada espécie de pequeno mamífero.

## 3.4.3. Análise da infecção natural do *Trypanosoma cruzi* nos pequenos mamíferos

Para determinar a dinâmica da transmissão do *T. cruzi* ao longo do tempo nas espécies de pequenos mamíferos das áreas de estudo, em cada período de captura, foram calculadas as prevalências (número de indivíduos infectados / número total de indivíduos capturados) e incidências (número de novos indivíduos infectados na população) do parasito. Tais taxas foram obtidas somente através do diagnóstico sorológico, devido ao pequeno número de hemocultivos positivos ao longo do tempo na população de marsupiais e roedores.

Para avaliar se houve alguma influência do parasitismo por *T. cruzi* nas populações das espécies hospedeiras, foram feitas correlações de Spearman (para dados que não apresentaram distribuição normal) entre as taxas de infecção do parasito (prevalência e incidência) com os parâmetros populacionais de cada espécie (tamanho populacional, recrutamento e reprodução) com 0, 3, 6 e 12 meses de defasagem. Tais intervalos de tempo na análise da infecção sobre as populações hospedeiras correspondem, respectivamente, a avaliação das relações no momento da análise da infecção, ao tempo de desmame dos filhotes e sua introdução na população, ao tempo de maturação dos indivíduos, e ao tempo de renovação da população. Também foram analisados se os parâmetros populacionais podem regular a dinâmica de infecção do parasito nas populações hospedeiras. Desta forma foram feitas correlações de Spearman entre os parâmetros populacionais dos hospedeiros e as taxas de infecção no parasito para 0, 3, 6 e 12 meses de defasagem.

A riqueza de espécies de hospedeiros e a diversidade foram avaliadas quanto a sua importância para a formação do cenário de transmissão do parasito

nas áreas estudadas. Deste modo, as taxas de infecção (prevalência e incidência) a cada momento, também foram correlacionadas com a riqueza e a diversidade de espécies nas duas áreas de estudo para cada etapa de captura.

Para se avaliar a influência do parasitismo sobre a biologia dos animais infectados foram feitas comparações entre os indivíduos infectados e não infectados nas espécies animais estudadas. Comparou-se o tamanho médio de ninhadas, a longevidade e o peso das fêmeas, através dos testes de Wilcoxon (para dados não normais); e a razão sexual de animais infectados e não infectados das espécies hospedeiras, através do χ<sub>2</sub> de Contingência com Correção de Yates.

Para avaliar o papel das variáveis abióticas do meio dentro da dinâmica de transmissão do parasito na área, as taxas de prevalência e de incidência também foram correlacionadas com as variáveis ambientais de precipitação mensal para 0,1, 2, 3, 4, 5, 6 e 12 meses de defasagem. Esta análise permite avaliar se existem variações ambientais ou padrões que ao longo do tempo influenciem a transmissão do parasitos entre os hospedeiros.

E na avaliação do habitat na determinação de possíveis locais com maior probabilidade de serem fontes de infecção para os hospedeiros foi feita a comparação entre pontos positivos (pontos onde foram capturados animais sorologicamente positivos) e os pontos negativos (pontos onde foram capturados animais sorologicamente negativos), através do teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni. Para tal análise foram analisadas as variáveis quantitativas, descritoras do micro-habitat, juntamente com as prevalências sorológicas correspondentes a data de medição do habitat.

#### 4. RESULTADOS

Ao longo dos cinco anos de estudo, doze espécies de pequenos mamíferos foram capturadas na região, são elas: os marsupiais *Gracilinanus microtarsus* (Wagner, 1842), *Monodelphis americana* (Muller, 1779), *P. frenatus* e *D. aurita* (Didelphimporphia, Didelphidae); os roedores *O. nigripes, N. squamipes, A.cursor, Necromys lasiurus* (Lund, 1814) (Rodentia, Sigmodontinae), *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758), *Mus musculus* (Linnaeus, 1766) (Rodentia, Murinae) e *Sphiggurus villosus* (F. Cuvier, 1823) (Rodentia, Erethizontidae); e a espécie de mustelídeo *Galictis* cf. *cuja*. (Bell, 1826) (Carnivora, Mustelidae).

A riqueza de espécies da área I foi doze, e a sua diversidade, de acordo com o índice de Shannon foi de 1,572. Na área II, a riqueza foi de oito espécies e a diversidade 1,224. Tanto a riqueza como a diversidade e o sucesso de captura das espécies foram maiores na área I, exceto para o marsupial *D. aurita*, que foi a única espécie que obteve o sucesso de captura maior na área II (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Índices de abundância das populações de pequenos mamíferos e números absolutos de captura por espécie capturadas nas áreas I e II, e a diversidade de espécies, segundo o índice de Shannon, para as áreas I e II no Município de Sumidouro, RJ, no período de 2001 a 2006.

	Área	a l	Área II			
Espécie	Índice de abundância	Valor absoluto	Índice de abundância	Valor absoluto		
Gracilinanus microtarsus	0,06	05	0,00	00		
Monodelphis americana	0,04	03	0,02	01		
Philander frenatus	0,58	57	0,18	11		
Didelphis aurita	0,42	42	2,63	104		
Galictis cf. cuja	0,05	04	0,02	01		
Oligoryzomys nigripes	0,59	56	0,08	03		
Nectomys squamipes	2,69	295	1,44	62		
Akodon cursor	1,89	204	0,63	29		
Necromys lasiurus	0,02	01	0,00	00		
Rattus rattus*	0,2	22	0,04	02		
Mus musculus*	0,04	03	0,00	00		
Sphiggurus villosus	0,02	01	0,00	00		
Índice de Shannon / Total	1,572	755	1,224	151		

<sup>\*</sup>Estes valores não refletem a abundância destas espécies, pois são roedores exóticos de hábitos peri e intradomiciliares.

## 4.1. Dinâmica Populacional

#### 4.1.1. Didelphis aurita

Na área I, a razão sexual do marsupial *D. aurita* foi de 1:1 ( $\chi^2$ =0;  $\rho$ =1; n=40).

O peso corporal dos machos foi significativamente maior que o das fêmeas (z=3,480;  $\rho$ =0,001).

Nesta área, a espécie foi capturada pela primeira vez somente em maio/2003 e posteriormente apenas em maio/2004, sendo a partir de então, capturada durante o restante do período de estudo. Ao longo dos cinco anos, o tamanho populacional

dessa espécie sempre foi baixo e a sua população foi composta basicamente de indivíduos novos. Somente cinco indivíduos foram capturados em mais de uma sessão de captura, ou seja, recapturados. Nos últimos anos do estudo, o número de indivíduos capturados nesta área aumentou, bem como o seu recrutamento (Figura 4.1). Não houve correlação significativa entre o recrutamento e o tamanho populacional, nem entre o recrutamento e a precipitação mensal. Não foi possível avaliar as outras correlações devido ao baixo número de indivíduos capturados.

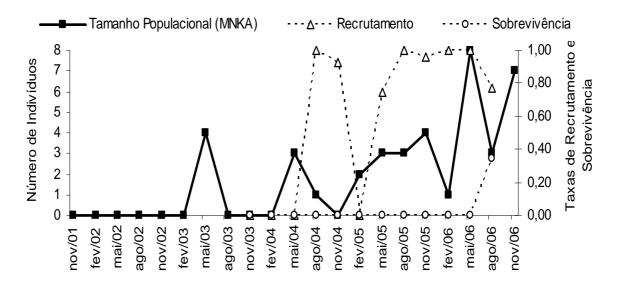


Figura 4.1. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência do marsupial *D. aurita* na área I, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Na área II, a razão sexual da espécie foi significativamente diferente, sendo o número de machos maior do que o número de fêmeas ( $\chi^2=8,67$ ;  $\rho=0,003$  n = 78). Nessa área, o gambá apresentou um padrão diferente da área I, sendo capturado em quase todos os meses de captura. A sua população apresentou um número maior de indivíduos em cada mês quando comparada a área I, e as taxas de recrutamento e de sobrevivência também foram mais altas durante o estudo, sendo as taxas de recrutamento maiores que as de sobrevivência (Figura 4.2).

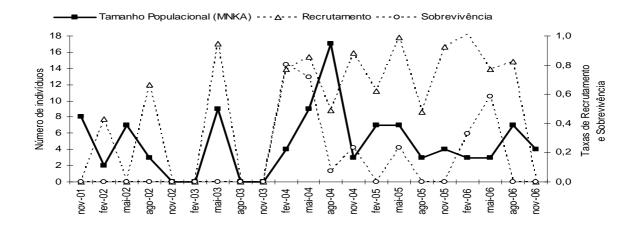


Figura 4.2. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência do marsupial *D. aurita* na área II, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

O período reprodutivo de *D. aurita* apresentou início no mês de Julho/Agosto se estendendo até Abril. O tamanho médio de ninhada desta espécie foi de 7,03  $\pm$  2,36 (N=32) filhotes, sendo de 7,57  $\pm$  3,3 (N=7) na área I e de 6,88  $\pm$  2,11 (N=25) na área II, não havendo diferença significativa entre as áreas (t = 0,678,  $\rho$  = 0,503). Duas fêmeas foram capturadas com indivíduos no marsúpio provenientes de ninhadas diferentes (Agosto e Novembro/2006) duas vezes numa mesma estação reprodutiva, indicando assim que a espécie pode ter duas ninhadas por estação (Figura 4.3)

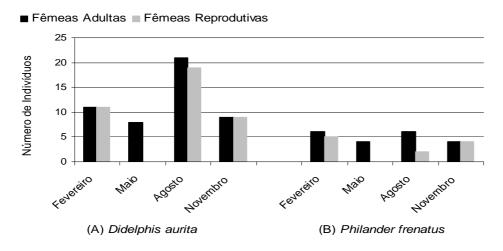


Figura 4.3. Análise da Condição Reprodutiva dos marsupiais *D. aurita* (A) e *P. frenatus* (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

A análise da estrutura etária de *D. aurita* indicou a presença de indivíduos lactentes em Fevereiro, Agosto e Novembro, com predominância em Agosto, uma vez que o início da estação é sincronizado para todas as fêmeas. Jovens foram encontrados somente nos meses de Maio e Novembro representando os desmames de dois eventos reprodutivos dentro de cada estação, um no início e outro no meio da estação reprodutiva (Figura 4.4).

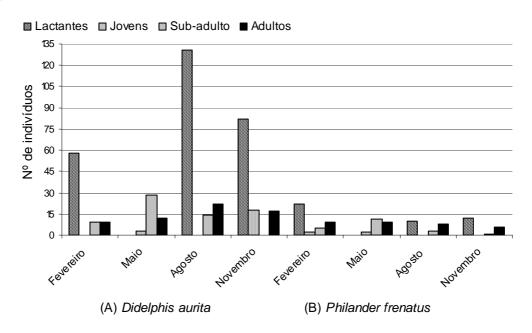


Figura 4.4. Análise da Estrutura Etária dos marsupiais *D. aurita* (A) e *P. frenatus* (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Esta espécie não apresentou autocorrelação em seus tamanhos populacionais.

#### 4.1.2. Philander frenatus

A razão sexual nesta espécie não apresentou diferença significante ( $\chi^2$ =0.438;  $\rho$  = 0.508, n = 57).

O peso corporal dos machos foi significativamente maior que o das fêmeas (z = 2,010, p = 0,044).

Para este marsupial, o tamanho populacional na área I apresentou predominância de picos após a estação chuvosa (Figura 4.5). A sobrevivência foi maior nos meses de Maio e Agosto, exceto no último ano de estudo, e o recrutamento não apresentou um padrão anual. Somente o tamanho populacional nesta área teve correlação com a taxa de sobrevivência com três meses de

defasagem (rs= 0.471; ρ= 0.042; N= 19). Na área II, ao longo dos cinco anos de estudo, somente 11 animais foram capturados, desta forma não foi possível observar um padrão populacional.

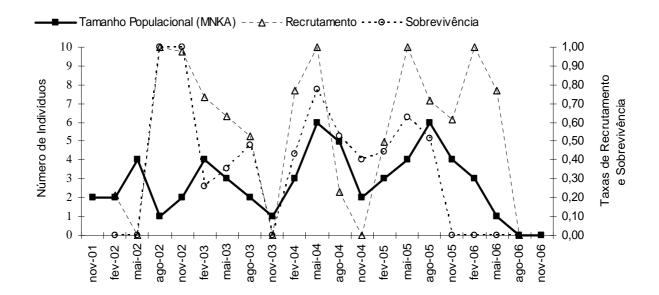


Figura 4.5. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência do marsupial *P. frenatus* na área I, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

A estação reprodutiva desta espécie deu-se no mesmo período do gambá D. aurita, começando no início de Julho ou Agosto perdurando até Abril. Assim como em D. aurita, P. frenatus também apresentou a ocorrência de fêmeas com mais de uma ninhada num mesmo período reprodutivo (Agosto/2002 e Fevereiro/2003) (Figura 4.3). O tamanho médio da ninhada foi de 4,89  $\pm$  2,01 (N=6) filhotes. Filhotes na bolsa foram observados somente na área I.

Foram observados indivíduos lactentes nos meses de Fevereiro, Agosto e Novembro; e de jovens em Fevereiro e Maio, mostrando um processo de amadurecimento dos indivíduos ao longo do ano, sem indivíduos jovens e com um número pequeno de subadultos no segundo semestre (Figura 4.4).

Esta espécie também não apresentou autocorrelação nos tamanhos populacionais.

## 4.1.3. Nectomys squamipes

A razão sexual dessa espécie apresentou um desvio para ocorrência de machos, entretanto, foi marginalmente significativo ( $\chi^2 = 3.27$ ;  $\rho = 0.07$ ; N = 163).

O tamanho populacional de *N. squamip*es diminuiu durante o primeiro ano de estudo, aumentando somente após Novembro/2003. Os maiores aumentos populacionais ocorreram durante o primeiro semestre com um número maior de indivíduos em Maio, exceto em 2002 (Figura 4.6). O tamanho populacional estava correlacionado com a sobrevivência sem defasagem de tempo (rs= 0.511,  $\rho$  =0.036; N=17), com o recrutamento com três (rs= 0.555;  $\rho$  =0.021; N=17) e seis meses de defasagem (rs= 0.533,  $\rho$  = 0.028, N= 17), e inversamente correlacionado com a proporção de fêmeas reprodutivas com três meses de defasagem (rs= -0.476,  $\rho$  = 0.046, N= 18). A taxa de recrutamento foi alta durante as estações chuvosas; e a taxa de sobrevivência foi maior em Fevereiro e Maio estando correlacionada com a precipitação mensal com um (rs= 0.554;  $\rho$  = 0.040, N= 14), dois (rs= 0.646,  $\rho$  = 0.009, N= 15) e três meses de defasagem (rs= 0.739,  $\rho$  = 0.003, N= 14).

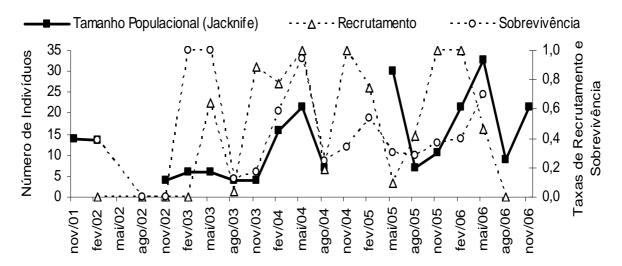


Figura 4.6. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência do roedor *N. squamipes* na área I, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Para esta espécie de pequeno mamífero, a reprodução pode ocorrer ao longo de todo o ano (Figura 4.7A). Indivíduos jovens foram encontrados em Fevereiro,

Maio e Novembro, com predominância em Fevereiro (Figura 4.8A). A maioria dos indivíduos nasceu durante a estação chuvosa.

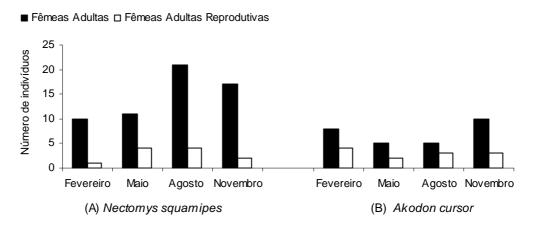


Figura 4.7. Análise da Condição Reprodutiva dos roedores *N. squamipes* (A) e *A. cursor* (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

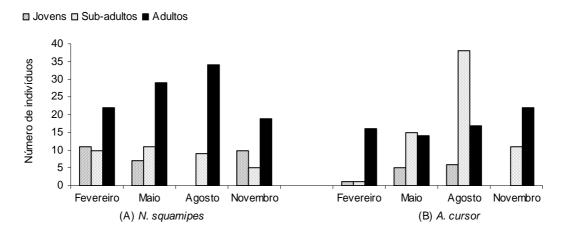


Figura 4.8. Análise da Estrutura Etária dos roedores *N. squamipes* (A) e *A. cursor* (B), no período de agosto de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Esta espécie também não apresentou padrão de periodicidade temporal em relação ao seu tamanho populacional.

#### 4.1.4. Akodon cursor

A razão sexual do roedor *A. cursor* também não foi significativamente diferente de 1:1 ( $\chi^2 = 2.17$ ;  $\rho = 0.14$ ; N = 133).

Seus tamanhos populacionais foram maiores nos meses de Novembro ou Maio, exceto em 2006 quando foi maior em Fevereiro, sendo o maior tamanho populacional observado em Maio/2004 (Figura 4.9). O tamanho populacional estava correlacionado somente com a sobrevivência sem defasagem de tempo (rs= 0.471,  $\rho$  = 0.048, N= 18). O recrutamento apresentou taxas altas e estava correlacionado com as chuvas com seis meses de defasagem (rs= 0.669,  $\rho$  = 0.006, N= 15). Já a sobrevivência foi sempre baixa e esteve negativamente correlacionada com a proporção de fêmeas reprodutivas sem tempo de defasagem (rs= -0.477,  $\rho$  =0.045, N =18) e com três meses de defasagem (rs =-0.512,  $\rho$ =0.035, N= 17) e negativamente correlacionado com a precipitação mensal com dois meses de defasagem (rs= -0.587,  $\rho$  = 0.017, N= 16).

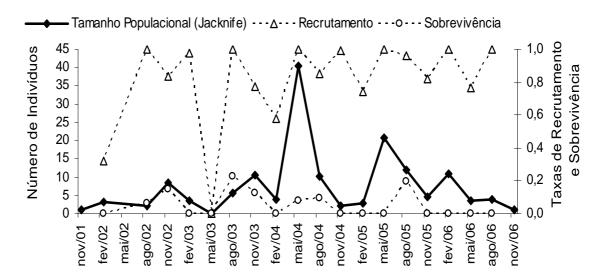


Figura 4.9. Tamanho Populacional (MNKA) e taxas de Recrutamento e Sobrevivência do roedor *A. cursor* na área I, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

A reprodução desta espécie ocorreu ao longo do ano todo (Figura 4.7B). A análise da estrutura etária mostrou indivíduos jovens predominantemente em Maio e Agosto, bem como subadultos, indicando que a maioria dos nascimentos ocorreu no início da estação seca (Figura 4.8B).

A análise de série temporal dos tamanhos populacionais desta espécie também não indicou nenhum padrão cíclico ao longo do tempo.

## 4.1.5. Oligoryzomys nigripes

A razão sexual indicou haver um maior número de machos na espécie O. nigripes ( $\chi^2 = 10.24$ ,  $\rho = 0.0014$ , N=66).

Os tamanhos populacionais do roedor *O. nigripes* foram sempre maiores durante a estação seca, com picos em Agosto (Figura 4.10), mostrando assim um ciclo anual dessa população. Somente um indivíduo foi recapturado entre as sessões de captura.

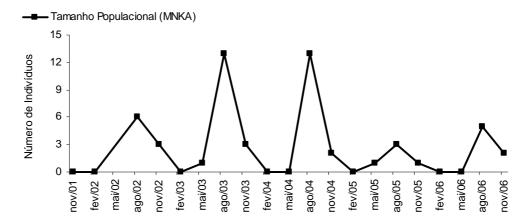


Figura 4.10. Tamanho Populacional (MNKA) do roedor *O. nigripes* na área I, no período de novembro de 2001 a novembro de 2006, no município de Sumidouro, RJ.

A análise de autocorrelação dos tamanhos populacionais desta espécie indicou um ciclo populacional anual neste roedor.

Na matriz de correlação entre os tamanhos populacionais das cinco espécies analisadas, somente uma correlação significativa negativa foi observada entre N. squamipes e de O. nigripes ( $r_s = -0.630$ ,  $\rho = 0.003$ , N = 20).

#### 4.2. Habitat

#### 4.2.1. Variáveis Quantitativas

As variáveis CHL (composição de herbáceas e lenhosas), OFV1 (obstrução foliar vertical de 0 a 0,5m) e OFV2 (obstrução foliar vertical de 0,50 a 1,0m) foram excluídas da análise de regressão logística por estarem altamente correlacionadas. O único resultado significativo nesta análise foi a relação do gambá com o grau de cobertura do dossel. As demais espécies não apresentaram relação significativa com nenhuma variável quantitativa na análise de regressão logística (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Análise da Regressão Logística para determinação da associação dos parâmetros do habitat com as espécies de pequenos mamíferos estudadas. Os valores significativos com a correção de Bonferroni (ρ= 0,007) estão marcados com asterisco.

Parâmetros	D. aurita		P. fren	atus	N. squ	amipes	A. cui	rsor
1 arametros	Est.	ρ	Est.	ρ	Est.	ρ	Est.	ρ
Folhiço	-0.485	0.013	-0.304	0.244	-0.335	-3.140	-0.010	0.953
Pedras	0.631	0.239	-0.313	0.536	-0.434	0.215	0.474	0.234
Solo	-0.810	0.016	-0.341	0.371	0.226	0.510	0.244	0.359
Água	0.757	0.493	1.066	0.059	0.637	0.381	-0.114	0.828
Cobertura Do Dossel	0.007	0.000*	0.002	0.203	0.001	0.482	-0.002	0.170
OFV3	0.322	0.848	-0.366	0.047	0.260	0.101	0.318	0.016
Troncos	-0.428	0.016	-0.749	0.878	-3.140	0.397	-6.507	0.138

A Análise de Componentes Principais (PCA) apresentou uma porcentagem de explicação da variância entre os pontos de 80,9% até o fator 5. A maior parte da variação entre os pontos de captura foi atribuída à estrutura da vegetação (fatores 1

e 2). O fator 1 separou os pontos pelos descritores associados à estrutura vertical da vegetação: OFV1, OFV2 e OFV3; e o fator 2 pelas variáveis relacionadas à presença de árvores: cobertura e altura do dossel e número de troncos caídos. Os fatores 3, 4 e 5 separaram os pontos pelos componentes horizontais do habitat, onde o fator 3 representou a composição de herbáceas e lenhosas (CHL), folhiço e água; o fator 4 a ausência de exposição do solo; e o fator 5 a ausência de pedra (Tabela 4.3).

Nas Análises de Componentes Principais feitas nas duas áreas separadamente, os quatros primeiros fatores foram satisfatórios e contabilizaram 76,8% da explicação da variância para a área I e 79,8% na área II. Tanto os resultados para a área I como para a área II não diferiram muito da análise geral da região, sendo também a vegetação do estrato vertical a variável mais importante para caracterizar as diferenças dentro de cada área, principalmente a de pequeno porte (até 1,5m de altura). Entretanto, as duas áreas diferiram entre si quanto à importância do extrato horizontal e das árvores de grande porte. Na área I a composição do substrato referente à composição de herbáceas e lenhosas (CHL), folhiço e as variáveis de dossel tiveram igual importância para explicar a variação entre os pontos (fatores 2 e 3). Na área II, as variáveis CHL e folhiço foram tão importantes quanto o extrato vertical para caracterizar as diferenças entre os pontos (fatores 1 e 2) (Tabela 4.3).

Todas as espécies de pequenos mamíferos apresentaram correlação significativa entre suas abundâncias e os escores das variáveis quantitativas dos fatores da PCA das duas áreas em conjunto. Esses fatores correlacionados significativamente sempre foram associados à composição da vegetação da área. O gambá *D. aurita* mostrou correlação com os escores do fator 1 e do fator 2 da PCA, fatores que descrevem variações no extrato vertical da vegetação e na presença de árvores, respectivamente. A abundância do marsupial *P. frenatus* estava correlacionada negativamente com os escores do fator 1, também mostrando relação com o extrato vertical. O roedor *N. squamipes* teve sua abundância correlacionada negativamente com os escores do fator 2, que caracterizam as áreas pelas variações na presença de árvores e do porte. A abundância do roedor *A. cursor* também esteve correlacionada de forma positiva com os escores do fator 1 da PCA, que caracteriza diferenças no estrato vertical da vegetação (Tabela 4.4).

Tabela 4.3. Resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) para as variáveis quantitativas das duas áreas do Município de Sumidouro, RJ, analisadas em um único grupo e separadamente. Os escores dos fatores com asterisco indicam as variáveis mais importantes para a caracterização do habitat.

			Total				Áre	ea I			Áre	a II	
Parâmetro	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
CHL	0.040	-0.181	-0.825*	0.314	0.397	-0.037	-0.830*	-0.059	0.532	0.154	-0.869*	-0.110	0.316
Folhiço	0.215	0.267	0.792*	0.171	-0.069	0.314	0.797*	0.114	0.108	-0.034	0.897*	-0.069	0.145
Pedra	-0.172	0.084	0.043	-0.041	-0.944*	-0.208	0.220	0.044	-0.601	0.070	-0.114	0.917*	-0.002
Solo	-0.145	0.082	0.015	-0.959*	-0.051	-0.041	-0.121	-0.000	-0.837	-0.201	0.037	0.041	-0.898*
Água	-0.202	-0.172	0.681*	0.006	0.192	-0.160	0.570*	-0.140	0.004	-0.109	0.610	0.031	0.363
Cobertura	0.264	0.822*	0.091	-0.172	0.086	0.154	-0.146	0.913*	-0.089	0.058	0.757	0.210	-0.383
do dossel													
OFV 1	0.808*	-0.084	-0.216	-0.011	0.058	0.850*	-0.262	0.063	-0.062	0.832*	-0.357	-0.075	0.208
OFV 2	0.944*	0.045	0.002	0.119	0.108	0.918*	0.091	0.125	0.217	0.965*	-0.076	-0.065	0.105
OFV 3	0.915*	0.093	0.169	0.092	0.068	0.861*	0.279	0.174	0.200	0.940*	0.163	-0.131	-0.002
Tronco	-0.193	0.739*	0.127	0.187	-0.029					-0.407	0.384	0.573*	0.186
Altura do dossel	0.009	0.859*	-0.038	-0.132	0.025	0.102	0.099	0.948*	0.033	-0.354	0.223	0.632*	-0.265

Tabela 4.4. Valores dos coeficientes de Correlação de Spearman analisados entre os fatores da PCA das variáveis quantitativas com a abundância das espécies de pequenos mamíferos no Município de Sumidouro, RJ. Os valores significativos estão marcados com asterisco.

Espécies	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5
D. aurita	0.372*	0.324*	-0.138	0.023	0.086
P. frenatus	-0.305*	-0.057	-0.005	0.031	0.055
N. squamipes	0.185	-0.207*	-0.093	-0.027	0.038
A. cursor	0.233*	-0.145	0.040	-0.111	-0.034

Ao analisar a abundância das espécies estudadas com as variáveis dos fatores que se mostraram significativos na Correlação de Spearman, o resultado da Regressão Logística Passo a Passo "backward" mostrou que as variáveis de obstrução foliar vertical na altura de 0,5m a 1,0m (OFV 2) e a cobertura do dossel foram as mais importantes dentre as variáveis dos fatores 1 e 2, respectivamente. Estas variáveis caracterizam a presença da espécie do marsupial *D. aurita*, indicando preferência local por áreas mais densas e fechadas, corroborando com o resultado da regressão logística. Dentre as variáveis do fator 1, a obstrução vegetal vertical entre 1,0m e 1,5m de altura (OFV 3) foi a mais associada ao marsupial *P. frenatus*, sendo correlacionada de forma negativa com a abundância deste marsupial, indicando preferência por áreas mais abertas acima de 1m. Diferentemente, para a espécie de roedor *A. cursor*, a variável OFV 3 foi correlacionada de forma positiva e foi a mais característica como indicador de preferência de habitat. Para o roedor *N. squamipes*, a variável altura dossel foi a mais importante dentre as variáveis do fator 2, e se mostrou correlacionada de forma negativa com esta espécie, mostrando preferência por áreas com vegetação de menor porte (Tabela 4.5).

Tabela 4.5. Análise da Regressão Logística Passo a Passo "Backward" para as variáveis quantitativas significativas da Correlação de Spearman com a abundância das espécies de pequenos mamíferos no Município de Sumidouro, RJ.

	Variáveis		
Espécies	Significativas	Coeficiente	Probabilidade
D. aurita	OFV 2	0.248	0.000
D. aunta	Dossel (Cobertura)	0.003	0.000
P. frenatus	OFV 3	-0.145	0.006
N. squamipes	Dossel (Altura)	-0.184	0.008
A. cursor	OFV 3	0.358	0.013

#### 4.2.2. Variáveis Qualitativas

A análise de GLM feita para as variáveis qualitativas das duas áreas em conjunto separou as variáveis árvores frutíferas, porte das árvores e relevo como as principais responsáveis pela caracterização de cada área e responsáveis pela diferença entre elas, sendo que tais variáveis sempre foram maiores na área II (Tabela 4.6).

Tabela 4.6. Análise da GLM das variáveis qualitativas das áreas I e II para caracterização do habitat do Município de Sumidouro, RJ. As variáveis significativas estão marcadas com asterisco.

Variável Qualitativa	F	ρ
Alagados	0,939	0,335
Troncos	3,622	0,059
Plantação	0,317	0,574
Frutíferas*	24,604	0,000
Pedras	2,491	0,117
Sub-bosque	4,375	0,039
Porte*	81,467	0,000
Relevo*	13,556	0,000
Cipó	4,498	0,036
Gramínea	4,273	0,041
Plântulas	2,254	0,136
Capim	2,242	0,137
Lírios	0,109	0,742

Somente as espécies P. frenatus e N. squamipes indicaram preferência por habitat das variáveis qualitativas, segundo a GLM. A cuíca apresentou preferência por áreas com presença de plantações na área II (F=10,5850;  $\rho$ =0,001) e o rato d'água, preferência por áreas com maior abundância de Capim-navalha nas duas áreas (F=8,568;  $\rho$ =0,004).

## 4.3. Taxas de infecção por T. cruzi

## 4.3.1. Diagnóstico Sorológico

A análise sorológica foi feita em 143 amostras dos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus* entre os anos de 2004 e 2006, incluindo capturas e recapturas, onde 49 se mostraram sororeativas para *T. cruzi*; Foram analisadas também 80 amostras dos roedores *N. squamipes*, *A.cursor*, *O.nigripes* e *R. rattus* no ano de 2006, incluindo capturas e recapturas , entretanto nenhuma das amostras apresentou positividade sorológica (Tabela 4.7).

Tabela 4.7. Quantitativos de exames sorológicos realizadas por espécie, nas capturas e recapturas, e o resultado das análises sorológicas no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Espécie	Amostras provenientes de animais capturados	Amostras provenientes de animais recapturados	Amostras Positivas
Didelphis aurita	79	19	37
Philander frenatus	27	18	11
Nectomys squamipes	45	10	0
Akodon cursor	12	0	0
Oligoryzomys nigripes	3	0	0
Rattus rattus	10	0	0
Total	223	48	48

As taxas de infecção (prevalências) por *T. cruzi* em *D. aurita,* pelo diagnóstico sorológico, variaram de 20% a 60% ao longo do estudo, enquanto que para *P. frenatus* a variação foi maior, entre 0% e 67,5%, incluindo as duas áreas de estudo (Figura 4.11).

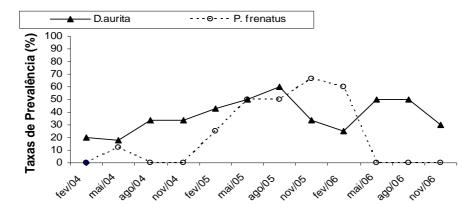


Figura 4.11. Prevalência da infecção por *T. cruzi* nos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus*, pelo diagnóstico sorológico, capturados no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Analisando as duas áreas separadamente, para a espécie *D. aurita*, a prevalência pelo diagnóstico sorológico na área I variou de 0% a 67%, e na área II de 0% a 100% (Figura 4.12). A incidência pelo diagnóstico sorológico do parasito nessa espécie de marsupial foi de 0 a 4 indivíduos infectados em ambas as áreas.

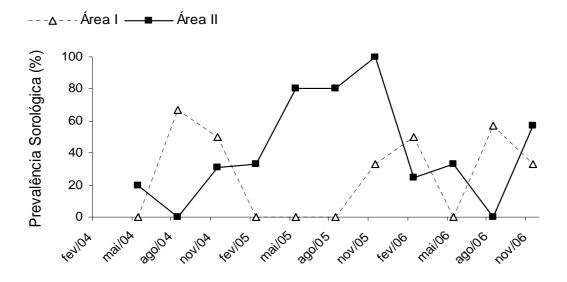


Figura 4.12. Prevalência de infecção por *T. cruzi* no marsupial *D. aurita*, pelo diagnóstico sorológico, no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Para a espécie *P. frenatus*, a prevalência de infecção pelo diagnóstico sorológico variou de 0% a 67% na área I, enquanto que na área II essa variação foi de 0% a 50% (Figura 4.13). A incidência foi de 0 a 2 indivíduos na área I, e de 0 a 1 na área II.

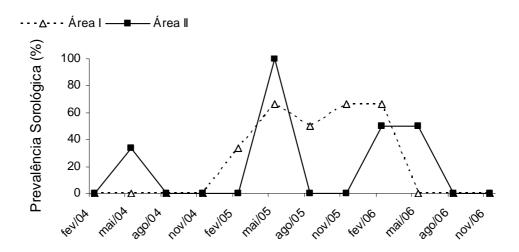


Figura 4.13. Prevalência de infecção por *T. cruzi* no marsupial *P. frenatus*, pelo diagnóstico sorológico, no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Foi observada positividade sorológica para *D.aurita* nas duas áreas de estudo, entre machos e fêmeas, e na maioria em indivíduos subadultos e adultos. Somente um indivíduo jovem foi capturado com sorologia positiva para *T. cruzi*, sendo fêmea e proveniente da área I.

Na análise sorológica da cuíca *P. frenatus*, também foram observados indivíduos positivos nas duas áreas, entretanto na área II foram capturados somente machos positivos. Somente animais subadultos e adultos apresentam positividade no diagnóstico sorológico.

As conversões sorológicas para infecção por *T. cruzi* foram observadas em espécimes das duas espécies de marsupiais nas duas áreas de estudo para *D.aurita*, e somente na área I para *P. frenatus*. Tais conversões sorológicas não ocorreram sempre no mesmo período em cada espécie, indicando que os animais se infectavam ao longo de todo o ano (Tabela 4.8).

Tabela 4.8. Tabela de *Didelphis aurita e Philander frenatus* sorologicamente positivos por *T. cruzi* nas áreas I e II, no Município de Sumidouro, RJ, no período de 2004 a 2005. As conversões sorológicas estão ressaltadas em negrito.

								TITUL	AÇÃO S	OROLÓ	GICA				
Espécie	Sexo	Idade	Área	fev/04	mai/04	ago/04	nov/04		-			fev/06	mai/06	ago/06	nov/06
D. aurita (5927)	F	Adulto	П	NEG	NEG	1:40									
D. aurita (5930)	F	Adulto	Ш	1:40		1:40	1:40	1:40							
D. aurita (6227)	М	Subadulto	I		1:160										
D. aurita (6229)	М	Adulto	I		NEG	1:80									
D. aurita (6230)	F	Adulto	I		1:40										
D. aurita (6242)	F	Subadulto	Ш			1:40									
D. aurita (6412)	F	Subadulto	Ш			1:40									
D. aurita (6427)	F	Adulto	Ш			1:40									
D. aurita (7152)	F	Adulto	Ш				NEG		1:80						
D. aurita (7221)	F	Adulto	Ш					1:40							
D. aurita (7222)	F	Subadulto	Ш					1:80							
D. aurita (7223)	F	Subadulto	Ш					1:80							
D. aurita (7700)	F	Subadulto	Ш						1:40						
D. aurita (7702)	F	Subadulto	Ш						1:40						
D. aurita (7715)	F	Subadulto	П						1:80	1:40					
D. aurita (7782)	М	Adulto	Ш							1:40					
D. aurita (7790)	F	Subadulto	I							1:80					
D. aurita (7793)	F	Adulto	П								1:40				
D. aurita (7811)	F	Adulto	I								1:40				
D. aurita (7819)	F	Adulto	I								1:160				
D. aurita (7820)	М	Subadulto	Ш									1:80			
D. aurita (7825)	M	Adulto	Ш									NEG		1:80	
D. aurita (7845)	F	Subadulto	I										1:160	1:40	
D. aurita (7847)	М	Subadulto	I										1:160		
D. aurita (7849)	М	Adulto	I										1:40		
D. aurita (7853)	F	NO *	I										1:40		
D. aurita (7859)	М	Subadulto	П											1:80	

								TITUL	AÇÃO S	OROLÓ	GICA				
Espécie			Área	Fev/04	Mai/04	Ago/04	Nov/04	Fev/05	Mai/05	ago/05	nov/05	fev/06	mai/06	ago/06	nov/06
D. aurita (7860)	F	Adulto	П											1:80	
D. aurita (7862)	M	Adulto	I											NEG	1:160
D. aurita (7864)	M	NO *	Ш											1:80	
D. aurita (7876)	F	Jovem	I												1:40
D. aurita (7877)	F	Adulto	Ш												1:80
P. frenatus (5924)	F	NO *	I	NEG			NEG		1:40						
P. frenatus (6235)	M	Adulto	Ш		1:40										
P. frenatus (7704)	F	Subadulto	- 1						1:80	1:160					
P. frenatus (7705)	F	Subadulto	- 1						1:160	1:40	1:40				
P. frenatus (7803)	M	Adulto	- 1								1:40				
P. frenatus (7821)	M	Subadulto	Ш									1:40			
P. frenatus (7826)	F	Adulto	I									1:40			
P. frenatus (7832)	F	Adulto	I									1:40			

<sup>\*</sup> NO = Não observada

## 4.3.2. Diagnóstico Parasitológico

Entre os anos de 2004 e 2006, foram analisados 143 hemocultivos procedentes dos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus*, incluindo 104 provenientes de capturas e 39 de recapturas. No ano de 2006, 85 hemocultivos dos roedores *N. squamipes*, *A.cursor*, *O.nigripes* e *R. rattus* foram analisados, juntamente com 15 hemocultivos provenientes de recapturas, totalizando 98 hemocultivos (Tabela 4.9).

Das 155 amostras de marsupiais, somente três amostras foram desprezadas antes de cinco meses de leituras devido à contaminação por fungos e/ou bactérias. Já na análise das 99 amostras coletadas de roedores, seis amostras não foram lidas até o final dos cinco meses devido à contaminação. O maior índice de não aproveitamento das amostras provenientes dos roedores pode ser devido à coleta de um único tubo de sangue, enquanto que para os marsupiais a coleta era realizada em dois tubos.

Tabela 4.9. Quantitativos de hemocultivos realizados por espécie, nas capturas e recapturas, e o resultado das análises parasitológicas no período de 2004 a 2006, no município de Sumidouro, RJ.

Espécie	Hemocultivos provenientes de animais capturados	Hemocultivos provenientes de animais recapturados	Hemocultivos Positivos
Didelphis aurita	78	24	07
Philander frenatus	26	15	02
Nectomys squamipes	52	13	0
Akodon cursor	17	01	0
Oligoryzomys nigripes	6	0	0
Rattus rattus	10	0	0
Total	189	53	09

Entre as 254 amostras analisadas, somente nove amostras (sete indivíduos e duas recapturas) provenientes dos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus* apresentaram resultados positivos para a infecção por *T. cruzi*. Nenhuma amostra de sangue coletada dos roedores *N. squamipes*, *A. cursor*, *O.nigripes* e *R. rattus* apresentou hemocultivo positivo (Tabela 4.10).

As duas áreas de captura apresentaram animais com positividade parasitológica para o *T. cruzi*, mas somente o gambá *D. aurita* foi capturado positivo nas duas áreas. Hemocultivos positivos provenientes da cuíca *P. frenatus* foram observados somente na área II (Tabela 4.10).

Somente machos de *P. frenatus* foram capturados positivos no hemocultivo. Tanto machos quanto fêmeas apresentaram hemocultivos positivos para a espécie *D. aurita*, inclusive fêmeas em estado reprodutivo ou com filhotes na bolsa. Uma fêmea de *D. aurita* foi capturada com hemocultivos positivos três vezes ao longo do estudo (Fevereiro e Agosto/2004, e Fevereiro/2005), indicando alta parasitemia neste indivíduo (Tabela 4.10).

Animais capturados adultos foram positivos nos hemocultivos para ambas as espécies marsupiais. Entretanto para *D. aurita*, animais subadultos também foram capturados apresentando hemocultivo positivo (Tabela 4.10).

Em todos os anos de estudo foram observados animais com resultados positivos (Tabela 4.10). Entretanto, somente a cepa proveniente do *P. frenatus* 7851, amostrado em Maio de 2006 da área II, foi caracterizada como TCI. Os demais isolados não foram caracterizados, provavelmente devido ao não crescimento das culturas. O não crescimento dos parasitos pode estar relacionado a características específicas desses isolados, visto que a contaminação da cultura não foi observada com um fator relevante nessas amostras.

Tabela 4.10. Relação dos hemocultivos positivos para *T. cruzi* nos marsupiais *D.aurita* e *P. frenatus* capturados no período de 2004 a 2006, e seus dados individuais de área de captura, sexo e condição reprodutiva, idade, e caracterização da cepa, no município de Sumidouro, RJ.

Registro	Espécie	Data	Área	Sexo	Idade	Caracterização
5930	D. aurita	02/2004	Ш	F	Adulto	*
6226	P frenatus	05/2004	Ш	M	Subadulto	*
5930	D. aurita	08/2004	Ш	F	Adulo	*
7214	D. aurita	02/2005	I	F	Subadulto	*
5930	D. aurita	02/2005	Ш	F	Adulto	*
7830	D. aurita	02/2006	Ш	F	Adulto	*
7844	D. aurita	05/2006	Ш	F	Subadulto	*
7851	P frenatus	05/2006	Ш	M	Subadulto	TC I
7863	D. aurita	082006	ı	F	Adulto	*

<sup>\*</sup> Isolado não caracterizado

Nenhuma das amostras coletadas das demais espécies de pequenos mamíferos apresentou resultado positivo no diagnóstico parasitológico nem sorológico.

# 4.3.3. Análises das interações do parasitismo x parâmetros populacionais do hospedeiro

Correlações entre o parasitismo e os parâmetros populacionais

Na área I, as análises feitas para se investigar as possíveis relações entre o parasitismo nos parâmetros populacionais indicaram correlação positiva para *D. aurita*, sem tempo de defasagem, entre a incidência da infecção (Spearman: rs= 0,661;  $\rho$ = 0,027; N=11) e a prevalência da infecção (Spearman: rs= 0,615;  $\rho$ = 0,033; N=9) com o tamanho populacional. Houve também correlação entre a taxa de incidência da infecção com 12 meses de defasagem (Spearman: rs= 0,784;  $\rho$ = 0,037; N=7) com o recrutamento populacional do gambá. Na área II, a incidência também se mostrou correlacionada com o tamanho populacional com 12 meses de defasagem (Spearman: rs= 0,816;  $\rho$ = 0,025; N=7) (Tabela 4.11). Nenhuma correlação foi observada entre as taxas de infecção e a reprodução desta espécie.

Tabela 4.11. Tabela com os valores de **ρ** para as correlações entre os tamanhos populacionais de *D. aurita* e as taxas sorológicas de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ. Os valores significativos estão marcados com asteriscos.

	Didelphis aurita								
	Áre		Área						
	Prevalência	Incidência	Prevalência	Incidência					
Tamanho									
Populacional (1 mês)	0,033*	0,027*	0,906	0,113					
Tamanho									
Populacional (3 meses) Tamanho	0,155	0,158	0,189	0,081					
Populacional (6 meses) Tamanho	0,828	0,837	0,672	0,764					
Populacional (12 meses)	0,805	0,967	0,356	0,025*					
Recrutamento (1 mês)	0,690	0,546	0,952	0,736					
Recrutamento (3 meses)	0,379	0,394	0,957	0,972					
Recrutamento (6 meses)	0,385	0,669	0,110	0,367					
Recrutamento (12 meses)	0,466	0,037*	0,651	0,393					
Fêmeas em reprodução (1 mês)	0,343	0,521	0,309	0,692					
Fêmeas em reprodução (3 meses)	0,684	0,834	0,637	0,651					
Fêmeas em reprodução (6 meses)	0,333	0,476	0,595	0,240					
Fèmeas em reprodução (12 meses)	0,887	0,621	0,766	1,000					

Para *P. frenatus*, na área I houve correlação entre as taxas de prevalência (Spearman: rs= 0,607;  $\rho$ = 0,047; N=11) e incidência com 3 meses de defasagem (Spearman: rs= 0,783;  $\rho$ = 0,007; N=10) e o recrutamento; e entre a prevalência da infecção com 12 meses de defasagem (Spearman: rs= 0,858;  $\rho$ = 0,006; N=8) e o tamanho populacional (Tabela 4.12).

Tabela 4.12. Tabela com os valores de ρ para as correlações entre os tamanhos populacionais de *P. frenatus* e as taxas do diagnóstico sorológico de *T. cruzi* na área I do município de Sumidouro, RJ. Os valores correlacionados estão marcados com asteriscos.

	Philander frenatus Área I		
	Prevalência		
Tamanho Populacional (1 mês)	0,225	0,731	
Tamanho Populacional (3 meses)	0,582	0,437	
Tamanho Populacional (6 meses)	0,621	0,943	
Tamanho Populacional (12 meses)	0,006*	0,268	
Recrutamento (1 mês)	0,145	0,107	
Recrutamento (3 meses)	0,047*	0,007*	
Recrutamento (6 meses)	0,517	0,772	
Recrutamento (12 meses)	0,516	0,695	

Na avaliação da influência dos parâmetros populacionais sobre a dinâmica de transmissão do parasito nas áreas de estudo não foi observada correlação entre as taxas de prevalência e incidência sorológica com os tamanhos populacionais de nenhuma das espécies marsupiais estudadas (Tabelas 4.13 e 4.14).

Tabela 4.13. Tabela com os valores de **ρ** para as correlações entre os tamanhos populacionais de *D. aurita* e as taxas sorológicas de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ.

	Didelphis aurita			
Tamanho	Área I		Área II	
Populacional	Prevalência	Incidência	Prevalência	Incidência
(3 meses)	0,862	0,528	0,297	0,833
(6 meses)	0,812	0,502	0,167	0,971
(12 meses)	0,245	0,506	0,465	0,722

Tabela 4.14. Tabela com os valores de ρ para correlações entre os tamanhos populacionais de *P. frenatus* e as taxas de diagnóstico sorológico de *T. cruzi* nas áreas I e II do município de Sumidouro, RJ.

	Philander frenatus		
Tamanho	Área I		
Populacional	Prevalência	Incidência	
(3 meses)	0,592	0,753	
(6 meses)	0,568	0,333	
(12 meses)	0,320	0,706	

• Correlações entre o parasitismo e a composição de pequenos mamíferos das áreas.

Não foi encontrada relação entre o parasitismo e a riqueza ou diversidade de espécies ao compararmos com as taxas de prevalência e incidência da infecção das espécies marsupiais nas áreas de estudo (Tabela 4.15).

Tabela 4.15. Correlações entre a riqueza e a diversidade de espécies das áreas I e II com as taxas sorológicas (prevalência e sorologia) das espécies *D. aurita* e *P. frenatus*.

Correlaçãos	Didelphis	Philander
Correlações	aurita	frenatus
Riqueza x Prevalência (área I)	ρ= 0,238	ρ= 0,373
Riqueza x Incidência (área I)	$\rho = 0.0$	ρ= 0,073
Riqueza x Prevalência (área II)	ρ= 0,397	ρ= -0,144
Riqueza x Incidência (área II)	ρ= 0,423	ρ= 0,222
Diversidade x Prevalência (área I)	ρ= 0,547	ρ= 0,276
Diversidade x Incidência (área I)	ρ= 0,226	ρ= -0,071
Diversidade x Prevalência (área II)	ρ= -0,074	ρ= 0,545
Diversidade x Incidência (área II)	ρ= 0,168	ρ= 0,353

## • Correlações entre o parasitismo sobre os indivíduos.

Em relação ao possível efeito da infecção parasitária no peso e na reprodução, também não foram observadas diferenças para *D. aurita* entre as fêmeas adultas infectadas e não infectadas durante o período reprodutivo (Wilcoxon: z=0.840; p=0.401) nem para *P. frenatus* (z=-0.105; p=0.917).

O parasitismo do T. cruzi também não influenciou na reprodução dos marsupiais em relação ao número de filhotes produzidos em cada ninhada, pois não houve diferença entre os tamanhos de ninhada de fêmeas infectadas e fêmeas não infectadas de D. aurita ( $\bar{x}$  das fêmeas infectadas = 7,29 ± 2,55;  $\bar{x}$  das fêmeas não infectadas = 6,55 ± 2,33) e de P. frenatus ( $\bar{x}$  das fêmeas infectadas = 6 ± 1,41;  $\bar{x}$  das fêmeas não infectadas = 6 ± 1,41).

O parasitismo também não apresentou influência na longevidade dos animais infectados, uma vez que na comparação entre o tempo de permanência dos animais infectados e não infectados, nenhuma diferença foi observada para *D. aurita* (Wilcoxon: z=1,069;  $\rho=0,285$ ) nem para *P. frenatus* (Wilcoxon: z=0,447;  $\rho=0,655$ ).

O parasitismo não mostrou tendência para machos ou fêmeas, pois não foi encontrada nenhuma diferença estatística para o gambá ( $\chi^2$ = 2,18; df= 1;  $\rho$ = 0,1394) nem para a cuíca ( $\chi^2$ = 0,90; df= 1;  $\rho$ = 0,3428). Entretanto, proporcionalmente, na análise da

diferença entre machos e fêmeas de gambá, infectados e não infectados, foi observada que a maioria dos animais infectados era composta por fêmeas infectadas (40%).

#### Correlações entre o parasitismo e as variáveis ambientais.

A correlação entre a precipitação mensal da área de estudo e as taxas de prevalência e incidência não foi significativa para a espécie D. aurita. Entretanto, na correlação entre a precipitação e as taxas de prevalência e incidência da espécie P. frenatus, houve uma correlação significativa com 2 meses de defasagem (Spearman: rs= 0.725;  $\rho=0.027$ ; N=9).

O habitat dos animais com sorologia positiva não mostrou diferença em relação ao habitat dos animais sorologicamente negativos para infecção por *T. cruzi* (Tabela 4.16)

Tabela 4.16. Valores do teste de wilcoxon para comparação do micro-habitat de *D. aurita* e *P. frenatus* soro-reativos e não reativos para infecção por *T. cruzi*, nas duas áreas estudadas do Município de Sumidouro, RJ.

Variável	Z	ρ
Folhiço	-0,525	0,599
Pedra	0,532	0,593
Solo	2,316	0,021
Água	-1	0,317
Dossel	-0,245	0,807
OFV 2	-1,54	0,124
Tronco	1,186	0,236

#### 5. DISCUSSÃO

Na literatura, observam-se diversos estudos de campo com pequenos mamíferos silvestres e parasitismo por *T. cruzi* no Brasil e em outros países do continente Americano (Fernandes, *et al.*, 1990; Pinho *et al.*, 2000; Lisboa, *et al.*, 2004; Yeo, *et al.*, 2005; Monteiro *et al.*, 2007; Vaz *et al.*, 2007). O presente estudo é de extrema importância no monitoramento de populações de pequenos mamíferos naturalmente infectadas por *T. cruzi* no Brasil, em longo prazo, através da captura, marcação e recaptura desses animais. Outro aspecto importante deste estudo é a abordagem do fenômeno parasitismo de um ponto de vista ecológico, onde foram avaliadas diversas variáveis bióticas e abióticas para compor o cenário da interação parasito-hospedeiro. Os marsupiais das espécies *D. aurita* e *P. frenatus* mostraram-se bons modelos para este tipo de avaliação, uma vez que apresentaram alta abundância relativa na comunidade, ocupando diferentes tipos de habitat, especialmente o gambá, que ocorre mais frequentemente em áreas perturbadas.

As áreas de estudo analisadas no município de Sumidouro apresentavam nitidamente um elevado grau de perturbação. Este fato é consequência de intensa atividade antrópica devido à presença de habitantes na área e as atividades econômicas ali desenvolvidas, como áreas para plantações e criação de animais, e até mesmo uma pousada, com papel de atrativo turístico para a região.

Ainda que a área de estudo seja caracterizada como alterada, a riqueza de espécies, tanto da área I (doze espécies) como da área II (oito espécies), se encontra dentro dos padrões de estudos realizados em áreas preservadas da Mata Atlântica, que é compreendido entre 8 e 21 espécies (Fonseca, 1989; Stallings, 1989; Fonseca e Kierulff, 1989; Fonseca e Robinson, 1990; Stallings *et al.*, 1991; Bergallo, 1994; Grelle, 2003; Castro e Fernandez, 2005; Pardini *et al.*, 2005). Entretanto, espécies raras de pequenos mamíferos apresentaram baixa abundância e capturas eventuais, indicando que estas populações estariam muito afetadas pela degradação do ambiente. Além disto, duas das espécies capturadas eram exóticas (*Rattus rattus e Mus musculus*) e duas (*Galictis cuja e Sphiggurus villosus*) não são registradas nesse tipo de estudo em outros trabalhos, diminuindo assim o número de espécies capturadas para oito na área I e seis na área II. As espécies de pequenos mamíferos mais abundantes na área e aqui estudadas (*D. aurita, P. frenatus, N. squamipes, A. cursor e O. nigripes*) são consideradas espécies comuns,

normalmente encontradas em vários tipos de habitats, inclusive em áreas rurais (Ernest e Mares 1986; Gentile e Fernandez 1999), e reagem de forma positiva a determinadas mudanças e estresses ambientais, como degradação e fragmentação do meio. Sendo a espécie *D. aurita* considerada uma espécie generalista e altamente adaptada a diversos tipos de habitats, uma possível explicação para a sua pequena abundância na área I, seria a caça a esta espécie praticada por moradores, visto que tal área possui um número maior de residentes e que esta prática foi relatada por habitantes locais (Soares, comunicação pessoal). É conhecido também que em áreas rurais com elevado grau de habitação é frequente a predação de gambás por cachorros domésticos (habitantes locais, comunicação pessoal).

Na análise da dinâmica populacional dos pequenos mamíferos estudados, a dinâmica populacional dos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus* esteve de acordo com outros estudos com marsupiais Neotropicais (Fleming 1973; Tyndale-Biscoe e Mackenzie 1976; O'Connell 1989; Cerqueira et al., 1993; Cerqueira and Bergallo 1993; Bergallo e Cerqueira 1994; Bergallo 1994; Cárceres e Monteiro-Filho 1998; Gentile et al., 2000; Lima et al., 2001; Gentile et al., 2004; D' Andrea et al., 2007). Os aumentos populacionais de ambas as espécies ocorreram sempre no final da estação chuvosa e início da seca. Este fato é explicado pela estacionalidade da reprodução dessas espécies, que se inicia nos meses de julho e agosto e pode chegar até maio. Após a reprodução, os períodos seguintes de lactação e de desmame ocorreram na estação chuvosa, que é o período de maior abundância de recursos para a sobrevivência dos indivíduos jovens. Assim, as maiores taxas de recrutamento observadas nestas populações também se encontraram no final da estação chuvosa e início da estação seca, e seus picos estavam sempre relacionados ao aumento populacional. Com relação à estrutura etária, as maiores taxas de recrutamento ocorreram no início dos primeiros semestres de cada ano, pois é o período em que os jovens estavam sendo incorporados à população, e onde atingem o tamanho "mínimo" capturável. Deste modo, um envelhecimento da população deu-se ao longo dos segundos semestres.

Este padrão de dinâmica populacional destas espécies de didelfídeos mostrou-se de acordo com outros estudos sobre marsupiais neotropicais (O'Connell, 1989; Cerqueira *et al.*, 1993; D'Andrea *et al.*, 1994; Bergallo 1994; Gentile *et al.*, 2000;. Gentile *et al.*, 2004), visto que estes possuem uma estratégia reprodutiva estacional, onde a reprodução está relacionada às estações do ano, que por sua vez, afetam a disponibilidade de recursos

destes animais (Cerqueira, 1988; Rademaker e Cerqueira, 2006). Outro fator relacionado à estratégia reprodutiva dessas espécies é a sincronia da reprodução nesses animais, que pôde ser observada através da captura de todas as fêmeas, ou grande parte delas, no mesmo estado reprodutivo. Alguns estudos mostraram que esse padrão de reprodução dos marsupiais estaria correlacionado com o fotoperíodo, através da percepção do solstício de inverno que desencadearia o início da estação reprodutiva (Cerqueira, 1988, Cerqueira e Bergallo, 1993, Cerqueira, 2005).

Os roedores apresentaram uma dinâmica populacional relacionada à sua estratégia reprodutiva oportunista, a qual está intimamente relacionada à disponibilidade de recursos (Fonseca e Kierulff 1989; Cerqueira 2005). Este padrão é característico da maioria dos roedores Sigmondontineos Neotropicais.

A dinâmica populacional do roedor *N. squamipes* seguiu o mesmo padrão observado em outros estudos (Ernest e Mares 1986; Bergallo 1994; Gentile *et al.*, 2000; D'Andrea *et al.*, 2007), onde sua reprodução ocorreu ao longo de todo ano, mas principalmente durante os períodos chuvosos. Este fato resultou em altas taxas de sobrevivência após os períodos chuvosos, e a presença de indivíduos jovens observados principalmente nesses períodos. Isto é devido à disponibilidade de recursos relacionados à água utilizados por esta espécie (Gentile *et al.*, 2000).

O roedor *A. cursor* possui uma reprodução oportunista resultando assim em uma alta taxa de reposição/renovação da sua população. As taxas de sobrevivência desta espécie aumentavam nos períodos secos, Fonseca e Kierulff (1989), Pereira *et al.*, (1993) e Gentile *et al.*, (2000) relataram que este padrão pode estar relacionado não somente com a disponibilidade de recursos alimentares, mas também com a disponibilidade do habitat.

O roedor *O. nigripes* tem um claro ciclo populacional anual, com picos populacionais na estação seca. Este padrão pode ser uma consequência específica de preferências alimentares e/ou de micro-habitat. Este roedor se alimenta basicamente de sementes e pequenas frutas (Vieira *et al.*, 2003; Vieira *et al.*, 2006) e tem preferência por áreas de densa vegetação (Dalmagro e Vieira 2005). Os períodos secos parecem ser os mais favoráveis para esta espécie, pois é quando há o aumento na disponibilidade de michohabitats e maior abundância de sementes.

A correlação negativa entre os tamanhos populacionais das espécies de roedores *N. squamipes* e *O. nigripes* pode estar relacionada aos diferentes hábitos e habitats dessas espécies, e não à interações negativas entre estas espécies. Assim, o maior tamanho populacional do roedor *N. squamipes* durante as chuvas se deve a sua reprodução nos

períodos chuvosos e o seu habitat semiaquático, indica uma maior preferência por áreas inundadas; já o roedor *O. nigripes* apresenta um padrão oposto, com picos populacionais nas estações secas, que é a época onde há uma maior disponibilidade de seu micro-habitat e de seus recursos alimentares.

No estudo do habitat da região, os resultados obtidos através das variáveis quantitativas foram os melhores descritores da análise, já que os descritores qualitativos são categóricos e englobaram diversos conjuntos de variáveis. Visto que a região é muito devastada e com poucos remanescentes florestais de Mata Atlântica, o extrato vertical da vegetação foi uma variável importante para a caracterização do habitat, e se mostrou um fator de grande influência na abundância e composição das espécies animais que ali habitam. Esta análise foi obtida principalmente pelos resultados quantitativos, que foram bons descritores desse perfil e tiveram como variáveis de maior grau de importância aquelas relacionadas a áreas com densa vegetação vertical e presença de árvores. A estrutura vertical da vegetação também foi a variável mais importante para indicar a variância do habitat entre os locais dentro de cada área de captura e entre as áreas de captura, mostrando assim que a complexidade vegetal (densidade de vegetação no estrato vertical - August, 1983) foi mais importante para a caracterização do habitat do que a heterogeneidade (densidade de vegetação no estrato horizontal - August, 1983). Por ser a maior responsável pela variação das áreas, a estrutura vertical da vegetação foi a que melhor caracterizou a preferência de habitat por cada espécie de pequeno mamífero estudada.

Nesta análise de preferência de habitat, os resultados obtidos corroboraram a Análise de Componentes Principais, e continuaram a descrever a vegetação como um fator importante na composição do habitat da área, onde todas as espécies de pequenos mamíferos estudadas mostraram correlações com variáveis da estrutura vertical de vegetação e/ou com a presença de árvores. Tais dados ratificam análises anteriormente realizadas na mesma área de captura, onde Gentile e Fernandez (1999) observaram a preferência de habitat da espécie *D. aurita* por áreas com dossel mais fechado, e da espécie *P. frenatus* por áreas com a presença de troncos e árvores. Ambas as espécies são semiterrestres, utilizando o solo, o sub-bosque e ocasionalmente o dossel (Vieira e Cunha, 2008).

O roedor *N. squamipes*, por ser semiaquático, ocorre com pouca frequência em áreas arbustivas e fechadas, tendo preferência por margens de córregos, ou áreas de

várzea, que apresentam gramíneas e vegetação de baixo porte. Em relação a *A. cursor*, apesar de ter sido encontrada uma relação entre a presença deste roedor com a vegetação fechada a 1,5m de altura, esta espécie é mais frequentemente observada em áreas abertas, com vegetação de gramíneas (Gentile e Fernandez, 1999, Freitas *et al.*, 1997). Na área de estudo *A. cursor* esteve mais presente em locais com vegetação herbácea, ou seja, de baixo ou médio porte.

Apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas entre o habitat de animais infectados e não infectados, podemos fazer algumas inferências quanto aos prováveis locais de maior probabilidade de infecção pelo parasito. Uma vez que os gambás são bastante nômades (Cáceres, 2003) e apresentam grandes deslocamentos diários, a comparação entre as variáveis quantitativas, descritoras do micro-habitat, dos pontos de captura de animais infectados e não infectados não seria muito conclusiva, uma vez que os animais poderiam se infectar em outros locais além dos pontos de captura observados. O mesmo poderia ocorrer com as cuícas, apesar de apresentarem áreas de vida menores que os gambás (Gentile *et al.*, 1997).

As principais espécies de triatomíneos geograficamente presentes na região, e que são encontradas naturalmente infectadas pelo *T. cruzi* no ambiente silvestre são *Panstrongylus geniculatus, Panstrongylus megistrus, Triatoma tibiamaculata* e *Triatoma vitticeps* (Carcavallo *et al.*, 1998). Todas essas espécies, com exceção do *T. tibiamaculata*, são caracterizadas como ocasionalmente ou frequentemente domiciliares, e possuem como habitat ninhos de roedores e marsupiais silvestres (Carcavallo *et al.*, 1998). Dentre essas espécies, temos como destaque a espécie *T. vitticeps* que tem sido encontrada em áreas com focos de Doença de Chagas e em outros municípios do estado do Rio de Janeiro, como em Arcádia - Miguel Pereira (Lorosa *et al.*, 2003), Triunfo - Santa Maria Madalena (Gonçalves *et al.*, 2000) e São Fidélis (Lorosa *et al.*, 2008). Além disso, as espécies *Triatoma vitticeps* e *Panstrongylus megistrus* são mais associadas a áreas arbóreas (Carcavallo *et al.*, 1998), mesmo hábitat preferencial das espécies de marsupiais estudadas.

Relacionando estas informações com os resultados da preferência por habitat das nossas áreas de estudo, podemos dizer que as áreas mais fechadas com maior grau de estratificação vertical e mais árvores seriam mais propícias para a ocorrência da infecção por *T. cruz*i nos animais. Estando os dois marsupiais mais relacionados com este tipo de

habitat do que os roedores, eles teriam mais chances de se infectarem do que as espécies de roedores, hipótese corroborada pelos nossos resultados.

Quanto ao parasitismo do *T. cruzi* nos pequenos mamíferos estudados, somente os marsupiais apresentaram espécimes com hemocultivos positivos para a infecção (07 em 155 animais examinados), ao longo dos três anos de estudo. Sendo o hemocultivo um método de enriquecimento para a determinação da infecção parasitária, quando positivo em alta carga parasitária, seu resultado pode indicar alta parasitemia no hospedeiro em questão, ou seja, um elevado número de parasitos na corrente sanguínea, provavelmente suficiente para que tais parasitos sejam transmitidos a um novo hospedeiro através do seu vetor. Em outras áreas da Mata Atlântica, o percentual de infecção no hemocultivo pode chegar a 50% em *P. frenatus* e 60% em *D. aurita* (Pinho *et al.*, 2000), diferentemente da situação constatada em Sumidouro, onde houve apenas cerca de 5% de prevalência de infecção por hemocultivos, indicando baixa parasitemia nos indivíduos infectados e baixa taxa de transmissão do parasita na população de gambás e cuícas. Dessa forma, nesta localidade, estas espécies estariam contribuindo para a manutenção do parasito no ciclo silvestre de transmissão, pois apesar do baixo número de hemocultivos positivos, foi observada uma alta soro prevalência nestas espécies nas duas áreas de estudo.

Ainda que o número de hemocultivos positivos fosse baixo, pôde-se observar que nas duas áreas de captura houve positividade parasitológica. Apesar da espécie *P. frenatus* só apresentar hemocultivo positivo na área II, os hemocultivos positivos provenientes de *D. aurita* foram oriundos das duas áreas de captura, ou seja, o parasito estava presente e circulava nas duas áreas de coleta.

Observou-se também que tanto os machos quanto as fêmeas, de ambas as espécies de marsupiais, apresentaram resultados positivos nos hemocultivos, incluindo fêmeas em estado reprodutivo ou com filhotes na bolsa. Os animais capturados com hemocultivos positivos pertenceram sempre à faixa etária de subadultos e adultos. Apesar das fêmeas capturadas com infecção patente de *T. cruzi*, nem filhotes nem indivíduos jovens apresentaram hemocultivos positivos. Isto pode ser devido à proteção conferida por anticorpos maternos durante o período de lactação (Jansen *et al.*, 1994), ou a baixa taxa de captura de indivíduos nestas faixas etárias, ou ambos.

O diagnóstico sorológico corresponde a um método de análise indireta da infecção, e sua positividade indica que o animal entrou em contato com o parasito, mas não

necessariamente se apresenta como uma fonte de infecção potencial para a população neste recorte temporal.

Nas amostras provenientes das espécies marsupiais, a prevalência da infecção por T. cruzi em D. aurita, pelo diagnóstico sorológico, foi positiva em todas as etapas de captura e apresentou uma média maior com variação menor ( $\bar{x}$ = 37% ± 13), do que a prevalência em P. frenatus ( $\bar{x}$ = 22% ± 27), na análise total das áreas.

As conversões sorológicas observadas ao longo do estudo mostraram que os animais se infectavam ao longo de todo o ano, visto que tais conversões não ocorreram sempre no mesmo período. A observação das duas espécies com soro conversão e a sua ocorrência em todos os anos de captura, nas duas áreas de estudo, indicam que o ciclo de transmissão do parasito se mantém ao longo do tempo na região.

As correlações positivas entre alguns parâmetros populacionais dos marsupiais, como o tamanho populacional e o recrutamento, com as taxas de infecção do parasito em ambas as espécies indicam que variações na dinâmica de transmissão do parasito podem estar relacionadas à dinâmica populacional dos hospedeiros. Nas espécies estudadas, o aumento da prevalência e/ou a incidência sorológica da infecção dentro de um determinado tempo (sem defasagem de tempo) esteve correlacionada ao aumento populacional ou do número de indivíduos novos na população de hospedeiros. Este fato pode ser devido à maior facilidade de captura de indivíduos quando a população está aumentada; ou que quando o número de indivíduos hospedeiros na população é maior, a probabilidade de contato entre hospedeiros infectados com hospedeiros não infectados e/ou vetor aumente também, aumentando as chances de transmissão do parasito.

As correlações positivas observadas entre as taxas de infecção com os parâmetros populacionais para 12 meses de defasagem para os dois marsupiais indicam que o aumento de tais taxas não influencia nas taxas de reposição da população na próxima geração das espécies de hospedeiros.

Estudos de infecção do *T. cruzi* em gambás indicam que inflamações são mais severas em animais naturalmente infectados, apesar de não serem tão intensas e características como nos humanos (Carreira *et al.*, 1996). Neste cenário de transmissão do parasito, o parasitismo demonstrou não afetar a biologia dos seus hospedeiros. Mesmo com indivíduos sorologicamente positivos e com uma pequena parasitemia nas espécies marsupiais envolvidas no ciclo de transmissão, o desenvolvimento individual dos animais e o desenvolvimento populacional de cada espécie de marsupial não foi afetado pelo parasitismo.

Para as espécies de roedores, não se observou nenhum espécime positivo para a infecção por *T. cruzi*, tanto nos hemocultivos (0/85) como nos exames sorológicos (0/80), indicando um perfil parasitológico distinto dos marsupiais. Apesar de roedores silvestres serem hospedeiros do *T. cruzi*, inclusive em áreas chagásicas (Rozas *et al.*, 2005), nesta região específica, como nenhuma das espécies de roedores apresentou hemocultivo nem sorologia positiva para *T. cruzi*, podemos concluir que nesta análise espacial e temporal da dinâmica de transmissão do *T. cruzi*, essas espécies não participaram do ciclo de transmissão do parasito.

A evidência da infecção do *T. cruzi* somente nos marsupiais, através do diagnóstico sorológico e a baixa parasitemia do parasito caracterizou um perfil subpatente de infecção nessa região, e mostrou que o ciclo de transmissão desse parasito se mantém, a princípio, através dos marsupiais *D. aurita* e *P. frenatus*. A alta e constante soro prevalência da infecção, que pode chegar a 100% em gambás da área II e 67% nas cuícas da área I, juntamente com os resultados de incidência, indicaram que estes animais podem estar atuando como mantenedores da transmissão do parasito nesta área, ou seja, são espécies com fraca habilidade de transmissão do parasito (dado o baixo número de hemocultivos positivos), mas que abrigam e mantém o parasito na área.

A abundância populacional dessas espécies nas comunidades de mamíferos é um fator modulador da infecção por *T. cruzi* (Vaz *et al.*, 2007), e apesar de serem espécies abundantes na área, bem adaptadas às condições de habitat alterado da região, os marsupiais apresentaram uma baixa competência como hospedeiros amplificadores da infecção do *T. cruzi*, visto suas baixas parasitemias. Ou seja, nesta área, os marsupiais apresentaram um baixo poder de transmissão e dispersão do parasito a indivíduos não infectados. Normalmente, estudos pontuais realizados com estes marsupiais naturalmente infectados com *T. cruzi* apresentaram prevalências superiores, e apontaram estas espécies como importantes hospedeiros do ciclo silvestre do parasito (Travis *et al.*, 1994; Grisard *et al.*, 2000, Schweigmann *et al.*, 2000).

É possível também que outras espécies de mamíferos estejam atuando na área como hospedeiros mantenedores ou amplificadores do parasito, por exemplo, o furão *Galictis* cf. *cuja*, que foi a primeira espécie capturada naturalmente infectada na área de estudo, e com relato de infecção natural por *T. cruzi* (Barreto e Albuquerque, 1971; Wisnivesky-Colli *et al.*, 1992). Apesar de não ter sido realizada uma coleta direcionada a

esta espécie, ao longo de 16 anos de estudo, nove indivíduos foram coletados em períodos concentrados, mas em locais distintos (D'Andrea et al., 1999; D'Andrea et al., 2007; Bonecker et al., no prelo). Entretanto, apenas cinco espécimes foram investigados para infecção por T. cruzi, sendo que somente um animal se mostrou positivo no hemocultivo, com a cepa caracterizada como TCI (dados não publicados). Por serem animais com amplas áreas de vida e grandes deslocamentos, seu poder de dispersão do parasito seria significativo na transmissão do parasito na área. Diferentemente dos marsupiais, que são generalistas na alimentação, esta espécie é totalmente carnívora, e suas fontes de alimentação englobam pequenos mamíferos como roedores, coelhos, marsupiais (Quintana et al., 2000) e insetos como os triatomíneos, que podem estar infectados com *T. cruzi*. Sendo a transmissão por via oral uma importante e eficiente rota de transmissão e infecção do T. cruzi (Calvo-Méndez et al., 1992), inclusive em carnívoros (Herrera et al., 2008), o hábito alimentar e o comportamento caçador do furão (Yensen e Tarifa, 2003), incrementariam a transmissão do parasito, que poderiam estar contribuindo para a manutenção ou mesmo amplificação do ciclo do o T. cruzi na natureza. Entretanto, os dados obtidos para esta espécie são ainda insuficientes para se chegar a uma conclusão definitiva.

O estudo do fenômeno parasitismo e as questões relacionadas à ecologia parasitária só podem ser compreendidas através de estudos empíricos, realizados na natureza e de longo prazo. Este estudo forneceu informações básicas da interação parasito-hospedeiro num ambiente silvestre, visando contribuir para um melhor conhecimento da ecologia parasitária, de um parasito de grande interesse em saúde pública no Brasil.

### 6. CONCLUSÕES

A dinâmica populacional e a estratégia reprodutiva das espécies de pequenos mamíferos mais abundantes das áreas seguiram os padrões observados para marsupiais e roedores sigmodontíneos Neotropicais, sendo a reprodução estacional nos marsupiais e oportunista nos roedores, relacionada à disponibilidade de recursos.

Apesar da degradação do ambiente, as espécies de marsupiais e roedores apresentaram preferências por micro-habitats específicos dentro da área de estudo, havendo uma preferência maior dos marsupiais por áreas mais arbóreas.

Há um ciclo de transmissão do parasito *T. cruzi* nos marsupiais *D.aurita* e *P. frenatus* nas duas localidades estudadas da região de Sumidouro, RJ.

Os roedores não fizeram parte do ciclo de transmissão do *T. cruzi* em nenhuma das localidades analisadas durante o estudo.

O perfil de transmissão do *T. cruzi* nos marsupiais nesta área de estudo é de parasitemia subpatente.

Os marsupiais *D.aurita* e *P. frenatus* atuam no ciclo de transmissão do *T. cruzi* como hospedeiros mantenedores nas duas áreas de estudo.

Existe uma continuidade no ciclo de transmissão de *T. cruzi* ao longo de todo o ano nas duas áreas.

O parasitismo pelo *T. cruzi* não afetou a biologia dos seus hospedeiros nem suas dinâmicas populacionais neste cenário de transmissão do parasito.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albon SD, Stien A, Irvine RJ, Langvatn R, Ropstad E, Halvorsen O. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. Proc. R. Soc. Lond. 2002;269:1625–32.

Araújo A, Janse AM, Bouchet F, Reinhard K, Ferreira LF. Parasitism, the Diversity of Life, and Paleoparasitology. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98:5-11.

Anonymous. Recommendations from a satellite meeting. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94(1):429-32.

Ashford RW. What it takes to be a reservoir host. Belg. J. Zool. 1997;127(1):85-90.

August PV. The role of habitat complexity and heterogeneity in structuring tropical mammal communities. Ecology. 1983;64:1495-507.

Ávila-Pires. Ecologia das Zoonoses. In: Coura JR, Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. v.1. p.53-63.

Bar ME, Alvarez BM, Oscherov EB, Damborsky MB, Jörg ME. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas,1909) en la Provincia de Corrientes, Argentina. Rev Soc Bras Med Trop. 1999;32(3):271-6.

Barbosa PB. The oral transmission of Chagas' Disease: An acute form of infection responsible for regional outbreaks. Int J Cardiol. 2006;112(1):132-3.

Barretto MP, Albuquerque RD. Studies on reservoirs and wild vectors of *Trypanosoma cruzi*. XLVII. Natural infection of the mustelid, Galictis vittata braziliensis (Thunberg, 1820) by *T. cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1971;13(5):346-51.

Barreto MP. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In Brener Z. e Andrade Z.A. Epidemiologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1979. p. 89-151.

Begon M, Harper JL, Townsend CR. Ecology: individuals, populations and communities.3<sup>a</sup> ed. Blackwell science. 1996.

Bergallo HG. Ecology of a small community in an Atlantic forest area of Southeastern Brazil. Stud. Neotrop. Fauna and Environm. 1994;29:197-217.

Bergallo HG, Cerqueira R. Reproduction and growth of *Monodelphis domestica* in Northeastern Brazil. J. Zool. 1994;232(4):551-63.

Bonecker ST, Portugal LG, Neto SFC, Gentile R. A long term study of small mammal populations in a Brazilian agricultural landscape. Mamm. Biol. No prelo 2009.

Bonvicino CR, De Oliveira JA, D'Andrea PS. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS. 2008.

Cáceres NC, Monteiro-Filho ELA. Population dynamics of the common opossum *Didelphis marsupialis* (Mammalia, Marsupialia), in Southern Brazil. Z. fur Saugetierkunde. 1998;63:169-72.

Calvo Mendez ML, Nogueda Torres B, Alejandre Aguilar R. The oral route: an access port for *Trypanosoma cruzi*. Rev Latinoam Microbiol. 1992;34:39-42.

Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnostic of American trypanosomiais. Technical modofication employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Inst Med Trop. 1966;8:227-34.

Carcavallo, R.U.; Girón, I.G.; Jubert, J.; Lent, Herman. Atlas of Chagas Disease vector in the Americas. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro; 1998.

Carreira JCA, Jansen AM, Deane MP, Lenzi HL. Histopathological study of experimental and natural infections by *Trypanosoma cruzi* in *Didelphis marsupialis*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996:91(5):609-18.

Castro EBV, Fernandez FAS. Determinants of differential extinction vulnerabilities of small mammals in Atlantic Forest fragments in Brazil. Biol. Conserv. 2005;119:73-80.

Cerqueira R. The distribution of Didelphis in South America (Polyprotodontia, Didelphidae). J. Biogeogr. 1985;12:135-45.

Cerqueira R, Modelos de estações reprodutivas em mamíferos. Anais do Encontro de Ecologia Matemática, Laboratório Nacional de Computação Científica. Rio de Janeiro; 1988.

Cerqueira R, Bergallo HG. A possible case of photoperiod controlling the reproduction of a South American marsupial. Ci Cul. 1993;45:140-1.

Cerqueira R, Gentile R, Fernandez FAS, D'Andrea PS. A five year population study of an assemblage of small mammals in Southeastern Brazil. Mammalia. 1993;57:507-17.

Cerqueira R. Fatores ambientais e a reprodução de marsupiais e roedores no leste do Brasil. Arquivos do Museu Nacional. Rio de Janeiro. 2005; 63:29-39.

Combes C. Parasitism: the Ecolgy and Evolution of Intimate Interactions. The University of Chicago Press; 2001.

Dalmagro AD, Vieira EM. Patterns of habitat utilization of small rodents in an area of Araucaria forest in Southeastern Brazil. Austral Ecol. 2005;30:353-62.

Deane MP, Jansen AM, Lenzi HL. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host the opussum *Didelphis marsupialis*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984;79:513-5.

Delciellos AC, Loretto D, Antunes VZ. Marsupiais da Mata Atlântica. Cienc. hoje. 2006;38(223):66-9.

D'Andrea PS, Gentile R, Cerqueira R, Grelle CEV, Horta C, Rey L. Age estimation of gray four eyed opossum *Philander opossum* (Didelmorphia). Mammalia. 1994;58:283-91.

D'Andrea OS, Horta C, Cerqueira R, Rey L. Breeding of the water rat (*Nectomys squamipes*) in the laboratory. Lab Anim. 1996;30:369-76.

D'Andrea OS, Gentile R, Cerqueira R, Grelle CEV, Horta C, Rey L. Ecology of small mammals in a Brazilian rural area. Rev. Bras. Zool. 1999;16(3):611–20.

D'Andrea PS, Gentile R, Maroja LS, Fernandes FA, Coura RS, Cerqueira R. Small mammal populations of an agroecosystem in the Atlantic Forest domain, Southeastern Brasil. Braz. J. Biol. 2007;67(1):179-86.

Emmons LH. Neotropical Rainforest Mammals. A Field Guide. Chicago :University of Chicago Press; 1990.

Ernest KA, Mares MA. Ecology of Nectomys squamipes, the Neotropical Water rat, in central Brazil: home range, habitat selection, reproduction and behaviour. J. Zool. 1986;210:599-612.

Fenner F, Myers K. Myxoma vírus and myxomaosis in retrospect: the first quarter century of a new disease. In: E Kurstak and K. Maramorosch. Viruses and Environment. New York Press; 1978. p. 539-570.

Fernandes O, Mangia RH, Lisboa CV, Pinho AP, Morel CM, Zingales B, Campbell DA, Jansen AM. The complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro State (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer of the mini-exon gene. Parasitology. 1999;118:161-6.

Fernandez FAS. Dinâmica de populações e uso do espaço e do tempo em uma comunidade de pequenos mamíferos na Restinga de Barra de Marica, Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1989.

Fernandez FAS. Métodos para estimativa de parâmetros populacionais por captura, marcação e recaptura. In: Neto, P.R.P., Valentin, J.L., Fernandez, F.A.Z. Oecologia Brasiliensis - Tópicos em tratamento de dados biológicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1995. p. 1-26.

Ferreira LF. O Fenômeno parasitismo. Rev Soc Bras Med Trop. 1973; Jul-Aug:261-77.

Fleming TH. The reproductive cycles of three species of opossums and other mammals in the Panama Canal Zone. J. Mammal.1973;54:439–55.

Fonseca GAB, Kierulff MC, Biology and natural history of Brazilian Atlantic Forest small mammals. Bull. Florida State. Mus. Biol. Sci. 1989:34:99-152.

Fonseca GAB, Robinson J. Forest size and structure: competitive and predatory effects on small mammal communities. Biol. Conserv. 1990;53:265-94.

Freitas SR, Astua de Moraes D, Santori RT, Cerqueira R. Habitat preference and food use by Metachirus nudicaudatus and *Didelphis aurita* (Didelphimorphia: Didelphidae) in a resting at Rio de Janeiro. Rev Bras Biol. 1997;57(1) 93-8.

Freitas SR, Cerqueira R, Vieira MV. A device and standard variables to describe microhabitat structure of small mammals based on plant cover, Braz J Biol. 2002;62(4B):795-800.

Geise L. Os roedores sigmodontinae (Rodentia, Muridae) do Estado do Rio de Janeiro. Sistemática, citogenética, distribuição e variação geográfica [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1995.

Gentile R, D'Andrea OS, Cerqueira R. Age structure of two marsupial species in a Brazilian Restinga. J. Trop. Ecol. 1995;11:679-82.

Gentile R, D'Andrea PS, Cerqueira R. Home ranges of *Philander* frenata and *Akodon cursor* in a Brazilian Restinga (Coastal Shrubland). Mastozool Neotrop. 1997;4(2):105-12.

Gentile R, Fernandez, FAS. Influence of habitat structure on a streamside small mammal community in a Brazilian rural area. Mammalia. 1999;63(1):29-40.

Gentile R, D'Andrea PS, Cerqueira R, Maroja, LS. Population and reproduction of marsupials and rodents in a Brazilian rural area: a five year study. Stud. Neotrop. Fauna Environ. 2000;35:1-9.

Gentile R, Finotti R, Rademaker V, Cerqueira R. Population dynamics of four marsupials and its relation to resource production in the Atlantic forest in southeasten Brazil. Mammalia. 2004;68(2-3):109-19.

Grenfell BT, Dobson AP. Ecology Infectious Disease in Natural Populations. Cambridge University; 1995.

Grisard EC, Carvalho-Pinto CJ, Scholz AF, Toma HK, Schlemper Jr. BR, Steindel M. *Trypanosoma cruzi* Infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, Southern Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2000;95(6)795-800.

Gonçalves TC, Rocha D, Cunha RA. Feeding patterns of *Triatoma vitticeps* in the State of Rio de Janeiro, Brazil.Rev Saúde Pública. 2000;34(4):348-52.

Grelle CEV. Forest structure and vertical stratification of small mammals in a secondary Atlantic Forest, southeastern Brazil. Stud. Neotrop. Fauna and Environm. 2003;38:81-5.

Guapyassú SMS, R Gentile, Santori RT, Cerqueira R. Ecologia de duas populações de *Akodon cursor* (Rodentia, Cricetidae) em relação à tendências populacionais, preferência alimentar, consumo de nutrientes e balanço hídrico. Il Congresso de Ecologia do Brasil. Universidade Estadual de Londrina, Londrina 1994.

Hakkarainen H, Ilmonen P, Koivunen V, Korpimäki E. Blood parasites and nest defense behaviour of Tengmalm's owls. Oecologia. 1998;114(4).

Haydon DT, Cleaveland S, Taylor AH, Laurenson MK. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. Emerg Infect Dis. 2002;8:1468-72.

Herrera L, D'Andrea PS, Xavier SCC, Mangia RH, Fernandes O, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park "Serra da Capivara" and its surroundings (Piauí), an area endemic for Chagas disease. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2005;99:379-88.

Herrera HM, Lisboa CV, Pinho AP, Olifiers N, Bianchi RC, Rocha FL, Mourão GM, Jansen AM. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008;102(11):1133-9.

Hudson PJ. The ecology of wildlife diseases. Oxford University. New York; 2001.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE [homepage da internet]. Acessada em Feb 2009 17. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1.

Jansen AM, Moriearty PL, Galvão-Castro B, Deane MP. *Trypanosoma cruzi* in the opossums *Didelphis marsupialis*: an indirect fluorescent antibody test for the diagnosis and follow up of natural and experimental infections. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1985;79:474-77.

Jansen AM, Madeira FB, Deane MP. *Trypanosoma cruzi* infection in the Oposum *Didelphis marsupialis:* absence of neonatal transmission and protection by maternal antibodies in experimental infections. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994;89(1):41-5.

Jansen AM, Pinho AP, Lisboa CV, Cupolillo E., Mangia RH, Fernandes O. The Sylvatic Cycle of *Trypanosoma cruzi*: A still Unsolved Puzzle. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94:203-6.

Keesing F, Holt RD, Ostfeld RS. Effects of species diversity on disease risk. Ecol Lett. 2006;9:485-98.

Krasnov BR, Korallo-Vinarskaya NP, Vinarsk MV, Shenbrot GI, Mouillo D, Poulin R. Searching for general patterns in parasite ecology: host identify versus environmental influence on gamasid mite assemblages im small mammals. Parasitology. 2008;135:229-42.

Krebs CJ. Demographic changes in fluctuating populations of *Microtus californicus*. Ecol Monogr. 1966;36:239-73.

Kruse H, Kirkemo AM, Handeland K. Wildlife as source of zoonotic infectious. Emerg Infect Dis. 2004;10:2067-72.

Lima M, Stenseth NC, Yoccoz NG, Jaksic FM. Demography and population dynamics of the mouse opossum (*Thylamys elegans*) in semi-arid Chile: seasonality, feedback structure and climate. Proc. Roy. Soc. 2001;268:2053-64.

Lisboa CV, Mangia RH, De Lima NRC, Martins a, Dietz J, Baker AJ, Ramon-Miranda CR, Ferreira LF, Fernandes O. Distinct patterns of *Trypanosoma cruzi* infection in Leontopithecus Rosália in distinct Atlantic Coastal Rainforest fragments. Parasitology. 2004;129:703-711.

Lisboa CV; Pinho AP; Monteiro RV; Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* (kinetoplastida Trypanosomatidae): Biological heterogeneity in the isolates derived from wild hosts. Exp Parasitol. 2007;116:150–5.

Lorosa ES, Valente MVMP, Cunha V, Lente H, Juberg J. Foco de Doença de Chagas em Arcádia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98(7):885-7.

Lorosa ES, Dos Santos CM, Juberg J. Focus of Chagas disease in São Fidélis, in the State of Rio de Janeiro. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2008;41(4):419-420.

Marcogliese DJ. Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem healthy? Int J Parasitol. 2005;35:705-16.

Miles MA, Toyé PJ, Oswald SC, Godfrey DG. The identification distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independent in a rural area of Brasil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1977;71:217-25.

Miles MA, Lanham SM, De Souza AA, Povoa M. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1980:74:221-37.

Mills JN, Childs JE. Ecologic studies of rodents reservoirs: Their relevance for human health. Emerg Infect Dis. 1998;4(4):529-37.

Monteiro RV, Dietz J, Raboy B, Beck B, Vleeschower KD, Baker A, Martins A, Jansen AM. Parasite community interactions: *Trypanosoma cruzi* and intestinal helminths infecting wild golden lion tamarins Leontopithecus rosalia and golden-headed lion tamarins L. chrysomelas (Callitrichidae, L., 1766). Parasitol Res.2007;101:1689–98.

Motta MFD. Estudo do desenvolvimento extra-uterino de *Didelphis aurita* Wied, 1826 em cativeiro. Investigação de critérios para estimativa de idade. Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Zoologia-Museu Nacional, 1988.

Nimer, E. Climatologia do Brasil. IBGE, Rio de Janeiro. 1979.

Ostfeld RS, Keesing F. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. Biol. Conserv. 2000;14: 722–8.

O'Connell MA. Population dynamics of neotropical small mammals in seasonal habitats. J. Mammal. 1989;70:532-48.

Pardini R, Souza SM, Braga-Neto R, Metzger JP. The role of Forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in Atlantic Forest landscape. Biol. Conserv. 2005;124:253-66.

Pereira LA, Chagas WA, Costa FE. Ecologia de pequenos mamíferos silvestres da Mata Atlântica, Brasil. I. Ciclos reprodutivos de *Akodon cursor* e *Oryzomys nigripes* (Rodentia, Cricetinae). Rev. Bras. Zool. 1993;10:389-98.

Pinho AP, Cupolillo E, Mangia RH, Fernandes O, Jansen, AM. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2000;94:1-6.

Poulin R. Are there general laws in parasite ecology? Parasitology. 2007;134:763-76.

Portugal LG. Ecologia parasitária do *Trypanosoma cruzi* nos marsupiais *Didelphis aurita* e *Philander frenatus* em uma área rural [Trabalho de conclusão de curso]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2006.

Quintana VJ. YA'NEZ Valenzuela J, Valdebenito M. Orden Carnivora. In: A. M. Pedrerosand AM, Ya'nez Valenzuela J. Mamíferos de Chile. Chile:Ediciones CEA; 2000. p. 155–87.

Rademaker V, Cerqueira R. Variation in the latitudinal reproductive patterns of the genus Didelphis (Didelphimorphia: Didelphidae). Austral Ecol. 2006;31:337-42.

Rice WR. Analyzing tables of statistical tests. Evolution. 1989;43(1):223-5.

Roque AL, Xavier SC, da Rocha MG, Duarte AC, D'Andrea PS, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. Am J Trop Med Hyg. 2008:79:742-9.

Rozas M, Botto-Mahan C, Coronado X, Ortiz S, Cattan PE, Solari A. Short report: *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals from a chagasic area of Chile. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2005;73(3):517–19.

Schmidt KA, Ostfeld RS. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. Ecology. 2001;82(3):609-19.

Schweigmann NJ, Pietrokovsky S, Bottazzi V, Conti O, Buias MA. Study of the prevalence of infection by *Trypanosoma cruzi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in Santiago del Estero, Argentina. Rev Panam Salud Publica. 1999; 6(6):371-7.

Seber GAF. The estimation of animal abundance. London. Charles Griffin and Company. 1982.

Slingenbergh J, Gilbert M, Balog K de, Wint W. Ecological sources of zoonotic diseases. Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz. 2004;23(2):467-84.

Smith A, Clark P, Averis S, Lymbery AJ, Wayne AF, Morris KD, Thompson RCA. Trypanosomes in a declining species of threatened Australian marsupial, the brush tailed bettong *Bettongia penicilata* (Marsupialia: Potoroidae). Parasitology. 2008;135:1329-35.

Stallings JR. Small mammals inventories in an eastern Brazilian park. Biol. Sci. 1989;34(4):153-200.

Stallings JR, Fonseca GAB, Pinto LPS, Aguiar LMS, Sábato EL. Mamíferos do Parque Florestal Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. Rev. Bras. Zool. 1991;7(4):663-77.

Steindel M, Pinto CJC, Toma HK. Development of *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of experimentally infected *Lutreolina crassicaudata* (Marsupialis, Didelphidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1988;83: 194.

Soule M, Wilcox BA. Conservation biology an evolutionary ecologic perspective. J Appl Ecol. 1981;18(3):980-1.

State (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer of the mini-exon gene. Parasitology. 1999;118:161-6.

Tibayrenc M, Neubauer K, Barnabe C, Guerini E, Skarecky D, Ayala FJ. Genetic characterization of six parasitic protozoa: parity between randon-primer DNA typing and multilocus enzyme electrophoresis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;90: 1335-9.

Tibayrenc M. Population genetics of parasitic protozoa and other microorganisms. Adv Parasitol. 1995;36:47–115.

Tibayrenc M. Genetic subdivisions within *Trypanosoma cruzi* (Discrete Typing Units) and their relevance for molecular epidemiology and experimental evolution. Kinetoplastid Biol Dis. 2003;2:1-6.

Travis BL; Montoya C, Segura I, Zea A, Goncalves A, Velez DV. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia. Am J Trop Med Hyg.1994;50:557-65.

Tyndale-Biscoe CH, Mackenzie RB. Reproduction in *Didelphis marsupialis* and *D. albiventris* in Colombia. J. Mammal. 1976;37:247–65.

Vaz VC, D'Andrea OS, Jansen AM.Effects of habitat fragmentation on wild mammal infection by *Trypanosoma cruzi*. Parasitology. 2007;134:1785–93.

Vieira EM, Pizo MA, Izar P. Fruit and seed exploitation by small rodents of the Brazilian Atlantic forest. Mammalia. 2003;67(4):533-39.

Vieira EM, Paise G, Machado PHD. Feeding of small rodents on seeds and fruits: a comparative analysis of three species of rodents of the Araucaria forest, southern Brazil. Acta Theriol. 2006;51(3):311-18.

Vieira MV, Cunha AA. Scaling body mass and use of space in three species of marsupials in the Atlantic Forest of Brazil. Austral Ecol. 2008;33:872-9.

Xavier SCC, Vaz VC, D'Andrea PS, Herrera L, Emperaire L, Alves JR, Fernandes O, Ferreira LF, Jansen AM. Mapping of the distribuition of *Trypanosoma cruzi* infection among small wild mammals in a conservation unit and its surroundings. Parasitol Int. 2007:56:119-28.

Wisnivesky-Colli C, Schweigmann NJ, Albertia A, Pietrokovisky SM, Conti O, Montoya S *et al.* Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992;86:38–41.

Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. Nature. 2007; 447: 279-83.

World Health Organization. Control of Chagas Disease: Second Report of the WHO Expert Committee. Geneva. 2002;57-8.

Yensen E, Tarifa T. Mammalian Species. American Society of Mammalogists; 2003.

Yeo m, Acosta N, Llewellyn M, Sanchez H, Adamson S, Miles GAJ, López E *et al.* Origins of Chagas Disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. Int J Parasito. I2005;35:225+33.

Zar JM. Biostatiscal Analysis. 4<sup>a</sup> ed. New Jersey Prentice Hall; 1999.

Zingales B, Stolf BS, Souto RP, Fernandes O, Briones MRS. Epidemiology, Biochemistry and Evolution of *Trypanosoma cruzi* lineages based on ribosomal RNA sequences. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94:159-64.

# 8. ANEXOS

Data:	_//	Localidade:		Trilha;	Ponto:	
1-PROTO	OCOLO DE	MICRO HA	ABITAT: (ei	m cada ponto	)):	
Vertical					Observaçõe	·C·
Alturas	Ponto Norte	Ponto Sul	Ponto Leste	Ponto Oeste		
1a						
2 <sup>a</sup>					<u> </u>	
3 <sup>a</sup>						
2-PROT	OCOLO D	E MESO H.	ABITAT:			
Horizontal						
Obs	%	Ponto Central	Ponto Norte	Ponto Sul	Ponto Leste	Ponto Oeste
1ª	Dossel					
2ª	Partes vivas					
3ª	Folhiço					
4 <sup>a</sup>	Pedra					
5 <sup>a</sup>	Solo					
a)- <u>Em ca</u> 2.1a-Árvo	OCOLO DE  da ponto:  ores com Dap  erência) (b-al	o <u>≥</u> 5 :				
1.a	b 5 a	b	9. a	b		
2.a	b 6 a	b	10. a	b	=	
			11. a			
4.a	υ 8 a	D	12. a	U	-	
Sim()	sença de Área Nã Froncos Caído	o( )				

Data:/ Localidade: Trilha; Ponto:
b) A cada três pontos:  2.1b-Características:  2.1.1-b-Tipo de Solo:  Arenoso Argiloso Semi-arenoso  2.1.2-b-Posição do ponto no fragmento:  Borda Interior  2.1.3-b Árvores Frutíferas
□ Sem fruto □ Com fruto no pé □ Com fruto no chão Tipo:
2.1.4-b Espécies Peculiares:
Cipós e Lianas: □ Pouco □ Regular □ Muito / Iri: □ Pouco □ Regular □ Muito / Epífitas: □ Pouco □Regular
□ Muito / <b>Gramíneas:</b> □Pouco □Regular □Muito / <b>Aráceas de chão:</b> □Pouco □Regular □Muito / <b>Cecrópia:</b> □Pouco
□Regular □Muito <b>Samambaia:</b> □Pouco □Regular □Muito / <b>Palmito:</b> □Pouco □Regular □Muito / <b>Plântulas:</b> □Pouco
□Regular □Muito /Palmeiras (exceção Iri e Palmito): □Pouco □Regular □Muito / Outras espécies:
□Pouco □Regular □Muito
c) <u>Fragmento</u>
2.2c-Características:
2.2.1c Relevo:
□Plano □Pouco Inclinado □Muito Inclinado
2.2.3c Curso d'água:
□Córrego temporário (chuvas) □Riacho □Lago □Brejo □Poça
Com acúmulo de material? □Folhiço □Galhos □Troncos / □Passa pela trilha □Próximo a trilha
2.2.4c Existência de afloramentos rochosos:
□Pedras pequenas □Pedras grandes □Gruta
2.2.5c A Trilha é paralela a algum caminho já existente?
Tipo:
2.2.6c Sinais de caçadores?
Tipo:
2.2.7c Plantações:
Tipo:Localização:
OBSERVAÇÕES GERAIS: