

**Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto René Rachou  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

**CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA NÃO ORIENTADA DE  
*RHODNIUS PROLIXUS* STÅL, 1859 E SUA RELAÇÃO COM A BUSCA POR  
HOSPEDEIROS**

por

Letícia Sophia Silva

Belo Horizonte  
2022

**DISSERTAÇÃO MCS-IRR**

**L. S. SILVA**

**2022**

**LETÍCIA SOPHIA SILVA**

**CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA NÃO ORIENTADA DE  
*RHODNIUS PROLIXUS* STÅL, 1859 E SUA RELAÇÃO COM A BUSCA POR  
HOSPEDEIROS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração Transmissores de Patógenos.

Orientação: Dra. Alessandra Aparecida Guarneri  
Coorientação: Dr. Marcelo Gustavo Lorenzo

Belo Horizonte  
2022

Catálogo-na-fonte  
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ  
Biblioteca do IRR  
CRB 6 3740/00

S381c  
2022

Silva, Letícia Sophia.

Caracterização da atividade locomotora não orientada de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 e sua relação com a busca por hospedeiros / Letícia Sophia Silva. – Belo Horizonte, 2022

X, 56 f., il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 49-56

Dissertação (mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. Área de concentração: Transmissores de Patógenos.

1. Triatomíneos 2. Atividade locomotora 3. Comportamento de Busca por Hospedeiro I. Título. II. Guarneri, Alessandra Aparecida (Orientação). III. Lorenzo, Marcelo Gustavo (Coorientação).

CDD – 22. ed. – 616.93

**LETÍCIA SOPHIA SILVA**

**CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA NÃO ORIENTADA DE  
*RHODNIUS PROLIXUS* STÅL, 1859 E SUA RELAÇÃO COM A BUSCA POR  
HOSPEDEIROS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração Transmissores de Patógenos.

**Banca examinadora:**

Profa. Dra. Alessandra Aparecida Guarneri (IRR/FIOCRUZ) Presidente  
Profa. Dra. Raquel Aparecida Ferreira (IRR/FIOCRUZ) Titular  
Prof. Dr. Theo Rolla Paula Mota (UFMG) Titular  
Prof. Dra. Paloma Helena Fernandes Shimabukuro (IRR/FIOCRUZ) Suplente

**Dissertação defendida e aprovada em Belo horizonte, 31/08/2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por ter me concedido o privilégio de concluir mais uma etapa em minha vida, pela saúde e proteção durante todo este período.

A minha orientadora Dra. Alessandra Aparecida Guarneri, por ter aberto as portas do laboratório para mim, por ter sido tão acessível e ser um exemplo de dedicação profissional.

Ao meu coorientador Dr. Marcelo Lorenzo, pela enorme contribuição e disponibilidade em todas as etapas.

Ao Instituto René Rachou – FIOCRUZ/MG.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pela oportunidade do crescimento profissional.

Ao Dr. Gabriel Fernandes e Eduardo Fernandes, pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao meu pai Reginaldo, por todo apoio nesta trajetória.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Os triatomíneos são os insetos vetores do *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, agente etiológico da doença de Chagas. São insetos hematófagos, de hábitos noturnos, que se mantêm escondidos em abrigos durante o dia. Os triatomíneos apresentam um padrão bimodal de atividade locomotora não orientada, com um primeiro pico, que tem sido relacionado com a saída do abrigo para a busca do hospedeiro, ocorrendo nas primeiras horas da noite, e um segundo pico no final na noite, relacionado com a volta para o abrigo. O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes condições fisiológicas, do estágio e do sexo na atividade locomotora não orientada de *Rhodnius prolixus*. Além disso, avaliamos se existe uma relação entre os níveis de atividade locomotora não orientada e o comportamento de saída do abrigo. Por fim, avaliamos se esses comportamentos são influenciados pela quantidade de reservas nutricionais dos insetos. A atividade locomotora de ninfas e adultos recém mudados, em jejum e logo após a alimentação foi individualmente quantificada em actômetros. O comportamento de saída do abrigo foi analisado em arenas de vidro que continham um abrigo artificial e a presença de um hospedeiro. A quantificação da atividade locomotora não orientada mostrou que, de maneira geral, os adultos se movimentaram mais do que as ninfas, e se movimentaram mais quando estavam em jejum. Já as ninfas se movimentaram mais quando estavam alimentadas e especialmente durante a fotofase. A atividade locomotora não orientada não foi relacionada com a decisão de saída do abrigo. Cerca de metade dos insetos foi encontrada fora do abrigo no final dos ensaios. A saída desses indivíduos ocorreu independentemente do período do dia, do sexo, e dos níveis de atividade não orientada. Além disso, foi observado que nenhum dos fatores avaliados (índice de peso, número de movimentos, quantidade de triglicérides e de glicose) influenciou a saída do abrigo durante a escotofase. Nos ensaios realizados durante a fotofase a decisão dos insetos em sair do abrigo foi influenciada pelo índice de peso e os níveis de triglicérides. Por fim, o nível de atividade locomotora não orientada foi influenciado pelos níveis de glicose e índice de peso, mas somente nos ensaios realizados durante a escotofase. As diferenças comportamentais encontradas entre os estádios e condições fisiológicas indicam capacidades possivelmente distintas de dispersão e que consequentemente influenciariam na capacidade vetorial destes triatomíneos.

**Palavras-chave:** atividade locomotora, uso de abrigos, comportamento, *Rhodnius prolixus*

## ABSTRACT

Triatomines are vectors of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, the etiological agent of Chagas disease. These insects are hematophagous and express most of their activity at night, remaining hidden in shelters during the day. Triatomines show a bimodal pattern of non-oriented locomotor activity, with a first peak, which has been related to leaving the shelter to search for a host, occurring in the early hours of the night, and a second peak late in the night, related to shelter returning. The present study aimed to evaluate the influence of different physiological conditions, instar and sex on the non-oriented locomotor activity of *Rhodnius prolixus*. In addition, we evaluated whether there is a correlation between the levels of non-oriented locomotor activity and the decision of the bugs to leave the shelter. Finally, we evaluate whether these behavioral traits are influenced by the amount of nutritional reserves of the insects. The locomotor activity of nymphs and adults recently molted, starved, and fed was individually quantified on actometers. Shelter exit behavior was analyzed in glass arenas containing an artificial shelter and the presence of a host. Quantification of non-oriented locomotor activity showed that, in general, adults moved more than nymphs, and especially when they were starved. The nymphs, on the other hand, moved more when they were fed and especially during the day. Non-oriented locomotor activity was not related to the decision to leave the shelter. Approximately half of the insects were found outside the shelter at the end of the trials. The exit of these individuals occurred regardless of the time of the day, sex or non-oriented activity levels. Furthermore, it was observed that none of the evaluated factors (weight index, number of movements, and amount of triglycerides and glucose) influenced the exit from the shelter at night. In the assays developed during the daytime, the exits from the shelter were influenced by the weight index and triglyceride levels. Finally, the level of non-oriented locomotor activity was influenced by glucose levels and weight index, but only in the assays developed during nighttime. The behavioral differences found between the instars and physiological conditions indicate possibly distinct dispersal capabilities that would consequently influence the vectorial capacity of these triatomines.

**Keywords:** locomotor activity, use of shelters, behavior, *Rhodnius prolixus*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeitos do estágio na atividade locomotora não orientada de <i>R. prolixus</i> .....	20
Figura 2 - Efeitos do sexo na atividade locomotora não orientada de <i>R. prolixus</i> .....	21
Figura 3 - Efeitos da nutrição na atividade locomotora não orientada de <i>R. prolixus</i> .....	25
Figura 4 - Porcentagem de ninfas encontradas dentro do abrigo, livres na arena ou presas na fita nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase e a fotofase.....	29
Figura 5 - Porcentagem de movimentos em relação ao total realizados durante o dia e à noite dos insetos que ficaram dentro e fora do abrigo em ensaios realizados durante a escotofase e a fotofase.....	33
Figura 6 - Porcentagem de insetos separados por sexo em relação ao total de insetos e sua posição em relação ao abrigo nos ensaios realizados durante a escotofase e a fotofase.....	36
Figura 7 - Distribuição das variáveis contínuas índice de peso, da quantidade de triglicérides, de trealose e de movimentos realizados por ninfas de <i>Rhodnius prolixus</i> durante a escotofase.....	37
Figura 8 - Distribuição das variáveis contínuas índice de peso, da quantidade de triglicérides, de trealose e de movimentos realizados por ninfas de <i>Rhodnius prolixus</i> durante a fotofase.....	38



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelo de regressão logística simples para a saída de abrigo durante a escotofase .....	39
Tabela 2 - Modelo de regressão gama simples para a atividade locomotora não orientada noturna.....	40
Tabela 3 - Modelo de regressão gama múltiplo para a atividade locomotora não orientada noturna.....	40
tabela 4 - Modelo de regressão logística simples para a saída de abrigo durante a fotofase...	41
Tabela 5 - Modelo de regressão gama múltiplo para análise de fatores que influenciam a atividade locomotora não orientada nos ensaios realizados durante a escotofase.....	41
Tabela 6 - Modelo de regressão gama simples para a análise de fatores que influenciam a atividade locomotora não orientada nos ensaios realizados durante a fotofase.....	41

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CEUA- Comitê de Ética no Uso de Animais

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

IV – Infravermelho

LEDs – Light emitting diodes

mM - milimolar

nm - nanômetros

PAHO – *Pan American Health Organization* (Organização Pan-Americana da Saúde)

PBS – *Phosphate buffered saline* (solução salina tamponada)

ul- microlitro

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Alimentação e produção de reservas energéticas.....	12
1.1.1 <i>Ingestão do sangue</i> .....	12
1.1.2 <i>Digestão do sangue</i> .....	13
1.1.3 <i>Reservas energéticas</i> .....	13
1.2 Atividade locomotora e uso de abrigos.....	14
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Insetos.....	18
3.2 Atividade locomotora não orientada.....	19
3.3 Atividade locomotora orientada e uso de abrigos.....	20
3.4 Quantificação de glicose na hemolinfa.....	22
3.5 Quantificação de triglicérides no corpo gorduroso.....	22
3.6 Análises estatísticas.....	22
4 RESULTADOS.....	23
4.1 Atividade locomotora não orientada.....	23
4.1.1 <i>Influência do estádio</i> .....	24
4.1.2 <i>Influência do sexo</i> .....	28
4.1.3 <i>Influência da alimentação</i> .....	32
4.2 Uso de abrigos.....	35
4.2.1 <i>Saída do abrigo</i> .....	35
4.2.2 <i>Influência da atividade locomotora não orientada na saída do abrigo</i> .....	36
4.2.3 <i>Influência do sexo na saída do abrigo</i> .....	37
4.2.4 <i>Influência de reservas energéticas na saída do abrigo</i> .....	38
4.2.5 <i>Influência de reservas energéticas na atividade locomotora não orientada</i> .....	40

5 DISCUSSÃO .....	42
5.1 Atividade locomotora não orientada .....	42
5.2 Uso de abrigos .....	44
6 CONCLUSÕES .....	48
REFERÊNCIAS .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

Os triatomíneos são insetos hemimetábolos pertencentes a ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae que se alimentam exclusivamente de sangue de vertebrados para completar o seu ciclo de desenvolvimento, que é composto de cinco estádios ninfais e uma fase adulta (LENT e WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2014).

Os triatomíneos atuam como vetores dos protozoários *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 e *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, sendo ambos capazes de induzir custos adaptativos ao seu hospedeiro invertebrado (FERREIRA et al., 2010; FELLETT et al., 2014; ELLIOT et al., 2015; MARLIÉRE et al., 2015; MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2021; MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2022). No entanto, somente o *T. cruzi* causa a doença de Chagas, infecção silenciosa que constitui um grave problema de saúde pública diminuindo a qualidade de vida dos acometidos e induzindo elevadas taxas de mortalidade (PAHO, 2016), além de possuir um tratamento dispendioso de cerca de 7 bilhões de dólares por ano (PINHEIRO et al., 2017). A doença de Chagas é endêmica em 21 países americanos, atingindo cerca de 6 milhões de pessoas (WHO, 2020). No entanto, ainda assim, caracteriza-se como uma doença negligenciada, possuindo baixos investimentos em pesquisas para o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e tratamento, bem como limitação do acesso a medicação pelos indivíduos afetados devido à baixa escala de produção (PINHEIRO et al., 2017).

O *T. cruzi* pode ser transmitido a seus hospedeiros vertebrados pelas fezes de triatomíneos infectados, eliminadas durante ou após o repasto sanguíneo (ZELEDÓN e RABINOVICH, 1981). A transmissão da doença pode ocorrer também pela via vertical, transplante de órgãos, transfusão sanguínea, acidentes em laboratórios e via oral por meio da ingestão de alimentos contaminados, sendo esta última a principal forma de transmissão da doença de Chagas no Brasil (COURA, 2014). Já em ambientes silvestres, a forma predominante de transmissão do *T. cruzi* é a oral, uma vez que os seus hospedeiros vertebrados como preguiças, gambás e quatis apresentam uma densa camada de pelo como barreira, o que dificulta a entrada do parasito presente nas fezes na corrente sanguínea, e em razão da possibilidade dos hospedeiros predarem os insetos (PIPKIN, 1968) ou mesmo lamberem o local da picada onde as fezes foram depositadas (RABINOVICH et al., 2001; ROQUE et al., 2008).

Atualmente a subfamília Triatominae é composta por cerca de 158 espécies agrupadas em 18 gêneros (GIL-SANTANA, 2022; ALEVI et al., 2021) que vivem principalmente em ambientes silvestres, nos quais se associam a vários hospedeiros vertebrados. Embora todas as espécies de triatomíneos sejam consideradas capazes de transmitir o *T. cruzi*, os gêneros de

maior importância epidemiológica são *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus*, em razão da capacidade de domiciliação de algumas espécies (SCHOFIELD, GRIJALVA e DIOTAIUTI, 2009).

*Rhodnius prolixus* é o principal vetor da doença de Chagas na Venezuela e Colômbia (SCHOFIELD e GALVÃO, 2009; SCHOFIELD, GRIJALVA e DIOTAIUTI, 2009; VALLEJO et al., 2009). A espécie também assumiu esse papel na América Central até 2012, quando a sua eliminação foi confirmada para a área (HASHIMOTO e SCHOFIELD, 2012). Porém, tal fato poderá requerer de buscas futuras na região para ser validado (ANTONIO-CAMPOS et al., 2019). Os insetos dessa espécie vivem primariamente em ambientes silvestres, em associação com hospedeiros vertebrados em palmeiras (ABAD-FRANCH e GURGEL-GONÇALVES, 2021), mas devido às ações antrópicas nestes ambientes, têm apresentado elevada capacidade de invasão e domiciliação, contribuindo na veiculação do *Trypanosoma cruzi* no ambiente domiciliar humano (SCHOFIELD, GRIJALVA e DIOTAIUTI, 2009).

## **1.1 Alimentação e produção de reservas energéticas**

### **1.1.1 Ingestão do sangue**

Os triatomíneos são insetos solenofágicos, ou seja, que adquirem sangue de seus hospedeiros diretamente de dentro dos vasos sanguíneos (LAVOPIERRE, 1965). O processo de alimentação desses insetos ocorre em três etapas: a entrada das peças bucais tubulares na pele do hospedeiro, a fase de sondagem e a de ingurgitamento (LAVOPIERRE, DICKERSON e GORDON, 1959). O aparelho alimentar é constituído pela probóscide que apresenta no interior duas mandíbulas e duas maxilas, protáteis, as últimas se unindo para formar o canal alimentar. No momento que antecede a alimentação, há a extensão da probóscide, e as mandíbulas, as quais possuem dentes e cerdas, são inseridas superficialmente na pele do hospedeiro, atuando como uma estrutura de ancoragem. Logo, o feixe maxilar, que possui uma estrutura fina e alongada, penetra profundamente a derme, realizando rápidos movimentos de torção, à procura de um vaso sanguíneo. Esse período é denominado de sondagem e finaliza quando o vaso é encontrado e a fase de ingurgitamento se inicia (FRIEND e SMITH, 1971). O inseto injeta saliva durante a fase de sondagem e de ingurgitamento, pois a mesma apresenta substâncias com propriedades vasodilatadoras, anticoagulantes e de antiagregação plaquetária para reduzir a resposta hemostática, inflamatória e imune de seus hospedeiros (RIBEIRO e FRANCISCHETTI, 2003).

### 1.1.2 Digestão do sangue

Os triatomíneos suprem suas demandas nutricionais por meio de uma dieta baseada exclusivamente no sangue de diversos vertebrados, que é composto por eritrócitos, leucócitos, trombócitos e plasma. O plasma é a fração líquida do sangue composta por água, proteínas, sais, açúcares e lipídeos (BASKURT e MEISELMAN, 2003). No caso de humanos, por exemplo, 100 ml de sangue contêm 0,652 g de lipídeos, 0,088 g de carboidratos e 20,5 g de proteínas (LEHANE, 2005). O sangue ingerido é armazenado no intestino médio anterior, onde ocorre absorção de água e íons, além da digestão de carboidratos e hemólise. Pequenas porções do sangue são transferidas ao intestino médio posterior, onde sofrem a ação de enzimas digestivas para a lise de proteínas e lipídeos, processo que ocorre por aproximadamente 14 dias após a ingestão de um repasto (LEHANE, 2005). O processo de digestão pode ser dividido em três fases principais. Na primeira, ocorre a quebra de moléculas complexas e macromoléculas de alto peso molecular para produtos de tamanhos intermediários, como oligômeros. Na segunda fase ocorre a redução de oligômeros para dímeros e na terceira fase, ocorre a liberação de monômeros dos dímeros e sua absorção pelas células do intestino médio (OLIVEIRA e GENTA, 2021). No caso de lipídeos, como os triglicerídeos, por exemplo, são reduzidos para glicerol e ácidos graxos livres que são absorvidos pelo epitélio intestinal e utilizados para a síntese de lipídeos mais complexos. Uma vez sintetizadas, as moléculas de diacilglicerol e fosfolipídios são carregadas do intestino para o corpo gorduroso por proteínas carreadoras chamadas lipoforinas, que circulam na hemolinfa (ATELLA, GONDIM e MASUDA, 1995; COELHO et al., 1997). Após a metabolização, 1 mg de sangue apresenta um valor energético de cerca de 3,9 J, que considerando uma refeição completa de aproximadamente 150 mg, provê 586 J de energia e possibilita que fêmeas de *R. prolixus* permaneçam em jejum por até 43 dias e machos por 57 dias (LEIS e LAZZARI, 2021).

### 1.1.3 Reservas energéticas

O corpo gorduroso é um órgão de estrutura frouxa e lobular, de fina espessura que se estende por toda a hemocele dos insetos, em contato direto com a hemolinfa, facilitando o fluxo de metabólitos (CANDY e KILBY, 1961). O tipo celular predominante neste órgão é o adipócito, que apresenta inclusões lipídicas, grânulos de proteínas e de glicogênio no citoplasma. Também estão presentes os hemócitos, as células de depósito de urato, os micetócitos (células com a presença de microrganismos simbioses) e os oenócitos (WALKER,

1965; CHAPMAN, 1998). Dentre as funções já descritas do corpo gorduroso estão o metabolismo de lipídeos, de carboidratos (SILVA-OLIVEIRA et al., 2021), de aminoácidos (SARAIVA et al., 2021) e de proteínas (ZIEGLER e VAN ANTWERPEN, 2006), além da detoxificação frente a compostos com potencial danoso (HU et al., 2016) e de auxílio na resposta imune (MANFRUELLI, et al., 1999).

Os insetos estocam suas reservas energéticas no corpo gorduroso em forma de triglicérides e glicogênio (ARRESE e SOULAGES, 2010). Parte dos lipídeos é proveniente da dieta (representam 2% do peso seco do sangue) (OLIVEIRA e GENTA, 2021) e parte é produzida por meio de síntese *de novo* utilizando outros substratos. A trealose, constituída por duas moléculas de glicose unidas por ligação glicosídica é sintetizada no corpo gorduroso, é a forma circulante de açúcar nos insetos e tem um papel crucial como fonte de energia imediata (SHUKLA et al., 2015).

O armazenamento e a mobilização do estoque energético (lipídeos e glicogênio) são regulados endocrinamente, através de sinais provenientes de outros órgãos durante as diferentes fases da vida do inseto. Os hormônios adipocinéticos (AKHs) são bem conhecidos por participarem deste controle. Os AKHs são peptídeos sintetizados e armazenados por células das glândulas neuroendócrinas chamadas *corpora cardíaca*, que exercem a função de mobilizar reservas energéticas do corpo gorduroso para a hemolinfa (ZANDAWALA et al., 2014; ZHOU, FUKUMURA e NAGATA, 2018). Deste modo, o AKH é considerado um análogo do hormônio glucagon de mamíferos, que se liga ao seu receptor na membrana plasmática de células do corpo gorduroso, estimulando a lipólise e a glicogenólise.

## **1.2 Atividade locomotora e uso de abrigos**

Os triatomíneos são insetos noturnos que permanecem durante o dia escondidos em abrigos em estado de acinese, agregados a coespecíficos e em contato com superfícies do substrato em razão da sua tigmotaxia (LAZZARI, 1992; FIGUEIRAS, KENIGSTEN e LAZZARI, 1994). A utilização de abrigos é essencial para os triatomíneos uma vez que fornece proteção contra predadores e condições de temperatura e umidade adequadas, os protegendo contra fungos e dessecação (ROCA e LAZZARI, 1994; LORENZO e LAZZARI, 1999). Além disso, o uso de abrigos permite a obtenção de simbioses e favorece a interação entre coespecíficos, provavelmente facilitando a reprodução (LAZZARI, PEREIRA e LORENZO, 2013). Em um estudo realizado por Lorenzo e Lazzari (1999) no qual foi avaliado o efeito da temperatura e



umidade relativa na seleção de abrigos por ninfas de *Triatoma infestans* em jejum, foi observada uma preferência por valores de umidade mais baixos, de 20%, e de temperatura mais altos, de 34°C, similar a temperatura corporal de um hospedeiro. Sabe-se também, que a escolha de refúgios pode ser influenciada por marcas químicas presentes nas fezes dos triatomíneos. Lorenzo e Lazzari (1996), analisaram a preferência de *T. infestans* por abrigos associados a fezes e observaram um número maior de ninfas em abrigos que continham fezes no seu interior ou nas suas entradas, em relação a abrigos limpos. Além disso, os autores também observaram a existência de um padrão de defecação, através do qual os insetos depositam suas fezes majoritariamente em locais próximos fora do abrigo. Diferentemente, *R. prolixus* deposita suas excretas majoritariamente dentro dos abrigos e, portanto, não marca as entradas destes (FALVO, LORENZO FIGUEIRAS e MANRIQUE, 2016) nem mostra uma preferência por abrigos associados às suas fezes (MOSQUERA e LORENZO, 2020b).

Para iniciar o forrageamento, os triatomíneos utilizam pistas físicas e químicas emitidas por seus hospedeiros – atividade locomotora orientada (LAZZARI, 2009; BARROZO e LAZZARI, 2004; NÚÑEZ, 1982). Eles contam com um sistema olfativo bem desenvolvido, o qual é composto pelas antenas que apresentam quatro segmentos: o escapo, o pedicelo e o flagelo, que por sua vez apresenta dois segmentos (WIGGLESWORTH e GILLETT, 1934). As antenas são as partes do corpo do inseto que apresentam a maior quantidade de sensilas, estruturas cuticulares principalmente em forma de pêlo, que apresentam células especializadas no reconhecimento de estímulos mecânicos, químicos e termo-hídricos ou mesmo a combinação destes, no seu interior (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2009; LAZZARI, 2009).

A saída dos abrigos vai depender do estado nutricional ou reprodutivo do inseto. Lorenzo e Lazzari (1998) avaliaram a dinâmica de uso de abrigos por ninfas de *T. infestans* em jejum e observaram que os insetos saíam do abrigo preferencialmente no início da escotofase, e retornavam fundamentalmente nas horas que antecedem o amanhecer. O estudo também mostrou que os insetos apresentam um período preferencial de alimentação no início da noite. Em um estudo realizado por Ferreira, Guarneri e Lorenzo (2019), no qual foi avaliada a dinâmica de uso de abrigos de *R. prolixus* expostos a diferentes níveis de jejum, foi observado que uma proporção muito baixa de insetos saía do abrigo mesmo com um jejum prolongado de 60 dias. Porém, na presença de odores de hospedeiro essa proporção aumentava para ~25%, o que mesmo assim, representou apenas um quarto dos indivíduos presentes. Os autores sugeriram que esta espécie utiliza uma estratégia de espera por pistas robustas emitidas pelo hospedeiro para se arriscarem a deixar os abrigos. Em um estudo posterior que avaliou os efeitos

da infecção por *T. cruzi* no uso de abrigos de *R. prolixus*, foi observado que mesmo quando o hospedeiro se encontrava dentro da arena experimental, menos de 40% dos insetos sadios saíram do abrigo durante a escotofase (MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2021).

Por serem dotados de um sistema sensorial complexo e sensível que lhes permite detectar umidade, estímulos térmicos, físicos e químicos presentes no ambiente (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2009), os triatomíneos percebem a presença de pistas do hospedeiro como odores, CO<sub>2</sub> e calor, o que em jejum induz a sua ativação e subsequente orientação (LAZZARI e NÚÑEZ, 1989; BARROZO e LAZZARI, 2004). Ao se aproximarem a menos de um centímetro do hospedeiro (FERREIRA, LORENZO e LAZZARI, 2021), eles estendem a probóscide, picam, se alimentam e retornam para os abrigos ao amanhecer (LORENZO e LAZZARI, 1998), pois além de possuírem uma intensa fototaxia negativa, eles também passam a não serem atraídos pelos estímulos do hospedeiro (BODIN, VINAUGER e LAZZARI, 2009).

A atividade locomotora dos triatomíneos é controlada por fatores endógenos, como o relógio molecular que controla os ritmos circadianos, e sofre influência de fatores exógenos, como temperatura, umidade relativa e ciclo de iluminação. Na ausência de pistas do hospedeiro (atividade locomotora não orientada) estes insetos apresentam dois picos diários de atividade (SETTEMBRINI, 1984; LAZZARI, 1992; LORENZO e LAZZARI, 1998; MARLIÉRE et al., 2015). No estudo realizado por Settembrini (1984), a atividade locomotora de machos de *T. infestans*, foi avaliada em actógrafos e os dados mostraram que os insetos exibiam mais atividade no início da noite e antes do amanhecer. O estudo também mostrou, que em condições de escuridão ou luz contínua (livre curso), o padrão bimodal de atividade diário se manteve por aproximadamente oito dias, indicando que essa atividade é controlada por um mecanismo circadiano de relógio endógeno (SETTEMBRINI, 1984). Lazzari (1992), estudou o efeito da luz e da temperatura na organização circadiana da atividade locomotora de machos adultos alimentados de *T. infestans* e observou dois picos de atividade diária, um na segunda hora da escotofase e o outro na primeira hora da fotofase. Também foi visto que os níveis de atividade aumentavam com o jejum em testes de livre curso. Além disso, o estudo mostrou que a atividade era influenciada pela temperatura, com os insetos exibindo uma maior atividade em 25°C do que a mostrada nas temperaturas de 20 e 30°C (LAZZARI, 1992). Esses picos de atividade têm sido relacionados à busca por alimento ou parceiro sexual no início da noite, e ao retorno ao abrigo nas horas que antecedem a fotofase como já mostrado em estudos que avaliaram o uso de abrigos em arenas (LORENZO e LAZZARI, 1998). Mais recentemente, uma avaliação

individual dos padrões bimodais de atividade locomotora em ninfas de *R. prolixus* mostrou a existência de indivíduos com perfis de atividade diferentes do padrão descrito (MARLIÉRE et al., 2020). Nesse estudo, realizado através de análises multivariadas da atividade locomotora de 548 insetos registrada por 24 horas, foi mostrado que cerca de 7% dos indivíduos não realizaram nenhum movimento durante as 24 horas de avaliação, enquanto 1,8% dos insetos se moveram durante todas as horas da fotofase. Além disso, 3% dos indivíduos foram muito ativos, realizando mais de mil movimentos por dia. Além disso, a clusterização hierárquica dos dados permitiu a identificação de três perfis de atividade. Um grupo abrangendo a maioria dos indivíduos que exibiu uma média de 147 movimentos (n=324), um grupo que exibiu uma média intermediária de 461 movimentos (n=168) e um grupo menor que exibiu uma média elevada de 918 movimentos (n=56), que se concentraram nas horas iniciais da escotofase e da fotofase. O estudo sugeriu a existência de diferentes estratégias relacionadas ao uso de reservas energéticas e exposição a predadores para explicar os diversos perfis locomotores (MARLIÉRE et al., 2020). Além disso, o mencionado estudo mostrou também, que os perfis foram influenciados pelo sexo e pela expressão do gene *foraging*, este último relacionado com a modulação de atividade locomotora para forrageamento em outros insetos (SOKOLOWSKI, 2001; CHARDONNET et al., 2014).

Apesar de serem considerados insetos noturnos, os triatomíneos apresentam um padrão bimodal de atividade que se expressa em dois picos diários, um primeiro que inclui as primeiras horas após o entardecer, e um segundo que ocorre na primeira hora depois do amanhecer. De maneira geral, parte das atividades vão ocorrer durante o primeiro pico, como por exemplo, a saída do abrigo, dispersão, oviposição e alimentação, enquanto outras serão expressas durante o segundo pico, como o retorno ao abrigo, ecdise, eclosão de ovos e agregação a coespecíficos (revisado por LAZZARI, 2021). Fora dos picos de atividade, os insetos permanecem em acinese. Entretanto, um estudo recente que analisou a atividade não orientada de ninfas de *R. prolixus* em jejum mostrou que uma proporção dos indivíduos difere desse padrão, apresentando níveis de atividade locomotora fora do esperado para determinado período do dia (MARLIÉRE et al., 2020). Além disso, o referido estudo e outro anterior do mesmo autor, mostraram que existe uma grande variabilidade nos níveis de atividade locomotora espontânea dentro de um grupo de insetos com mesma idade e estado nutricional (MARLIÉRE et al., 2015, 2020). Uma vez que os mencionados estudos somente avaliaram ninfas de quinto estágio em jejum, a primeira parte desta dissertação avaliou alguns fatores que poderiam modular o padrão de atividade de *R. prolixus* durante o quinto estágio e a fase adulta.

Assim, no presente estudo avaliamos inicialmente se os níveis de atividade locomotora não orientada de *R. prolixus* podem ser influenciados pelo estágio, sexo ou condição nutricional do inseto. Além disso, avaliamos se existe uma relação entre os níveis de atividade locomotora não orientada apresentados pelos insetos em actômetros com a tendência à saída de abrigo. Por fim, avaliamos se a quantidade de reservas nutricionais poderia influenciar nos níveis de atividade locomotora não orientada e orientada expressos pelos insetos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a influência do jejum, do estágio e do sexo dos indivíduos na atividade locomotora não orientada de *Rhodnius prolixus* e a sua relação com a saída de abrigos e a busca por hospedeiro.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar se a atividade locomotora não orientada varia com o tempo de jejum, estágio e sexo do inseto;

Avaliar se há relação entre os níveis de atividade locomotora em actômetros e a decisão de sair do abrigo na presença de hospedeiro;

Avaliar se há relação entre sexo e a decisão de sair do abrigo na presença de hospedeiro;

Avaliar se há relação entre os níveis de triglicérides e glicose e a decisão de sair do abrigo na presença de hospedeiro;

Avaliar se há relação entre os níveis de triglicérides e glicose do inseto e a atividade locomotora não orientada.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1 Insetos**

Para o estudo foram utilizadas ninfas de *R. prolixus* provenientes da colônia mantida pelo Grupo de Comportamento de Vetores e Interação com Patógenos (CVIP) no Instituto René Rachou. Na colônia, os insetos são mantidos a  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $51 \pm 7\%$  de umidade, em um ciclo natural de iluminação. Os insetos são alimentados em alimentador artificial ( $37^\circ\text{C}$ ) contendo

sangue de coelho citratado ou desfibrinado, proveniente do Centro de Criação de Animais de Laboratórios da Fundação Oswaldo Cruz (CECAL, Rio de Janeiro, Brasil) ou em camundongos (*Swiss Webster*) anestesiados com injeção intraperitoneal de cetamina (150 mg/kg; Cristália, Brasil) e xilazina (10 mg/kg; Bayer, Brasil). Todos os ensaios que utilizaram animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais, CEUA-FIOCRUZ, sob o número de licença LW-8/17.

### 3.2 Atividade locomotora não orientada

A atividade locomotora dos insetos ao longo de seu desenvolvimento foi registrada em actômetros (62cm x 55cm) desenhados *ad hoc* no CVIP (Figura 1; MARLIÉRE et al., 2015). Os equipamentos são constituídos por 40 arenas individuais (5cm x 10cm x 2cm), sendo que cada uma delas possui três LEDs IV (diodo emissor de luz infravermelha-IV) em uma lateral com seus respectivos receptores posicionados paralelamente do lado oposto. Uma vez que o inseto interrompe um dos feixes de luz (que não é perceptível aos insetos), um sinal é enviado para um computador, sendo registrado como um evento de locomoção em uma planilha do excel e associado a um determinado tempo ao longo do ensaio.

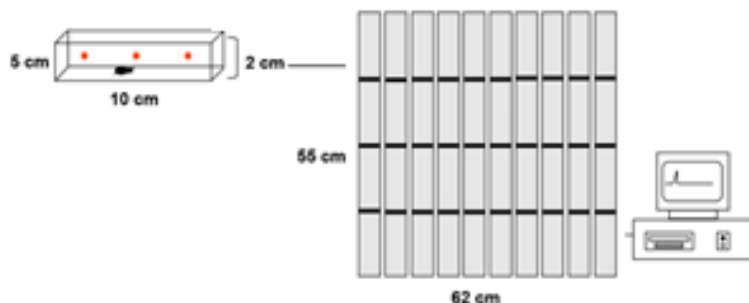
Os ensaios avaliaram a atividade locomotora individual de um mesmo grupo de indivíduos nos seguintes estados fisiológicos e de desenvolvimento:

- ninfas de 5° estágio recém mudadas (2 dias pós muda);
- ninfas de 5° estágio em jejum (30 dias pós muda);
- ninfas de 5° estágio alimentadas 33 dias após a muda (2 dias pós alimentação);
- ninfas de 5° estágio alimentadas (15 dias pós alimentação);
- adultos recém mudados (2 dias pós muda);
- adultos em jejum (15 dias pós muda);
- e adultos alimentados 18 dias após a muda (2 dias pós alimentação).

Entre os ensaios, os triatomíneos foram mantidos individualmente em recipientes de acrílico de 20 ml (42 mm x 24 mm x 37 mm) com papel filtro como substrato, cobertos com malha fina de nylon em uma estufa a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e iluminação de 12:12h (luz:escuridão). A alimentação dos insetos experimentais foi feita em camundongos anestesiados. Antes de serem inseridos no actômetro os insetos foram anestesiados rapidamente por resfriamento e foram pesados em balança analítica e medidos com o auxílio de um micrômetro.

O fundo das arenas foi forrado com papel filtro que serviu como substrato para os insetos e foi trocado entre os ensaios para evitar contaminação química. Os insetos foram liberados individualmente nas arenas com o auxílio de uma pena, para evitar perturbação mecânica e a emissão do conteúdo das glândulas de Brindley, no caso dos adultos (MANRIQUE et al. 2006; SCHOFIELD, 1979; WARD, 1981). Cada ensaio teve duração de 48 horas, sendo que as primeiras 24 horas foram consideradas como período de aclimatização e foram excluídas das análises. A atribuição de cada inseto em uma arena do actômetro foi alternada em cada repetição para evitar um potencial efeito de posição. Os ensaios foram desenvolvidos em fotoperíodo de 12:12h (luz:escuridão) (intensidade da luz = 60 LUX) a  $27,0 \pm 1^\circ\text{C}$ . Os dados obtidos de ninfas que morreram ou apresentaram defeitos após a ecdise foram excluídos das análises. A sexagem dos insetos foi realizada após a muda para o estágio adulto e os machos e fêmeas foram analisados separadamente, para não haver a influência de feromônios sexuais sobre a locomoção (PONTES et al., 2008). No total, foram analisados 81 insetos, em três repetições (n=29, n=19 e n=33).

**FIGURA 1** – Esquema mostrando a configuração do actômetro



**FONTE:** Adaptado de Marlière et al., 2015.

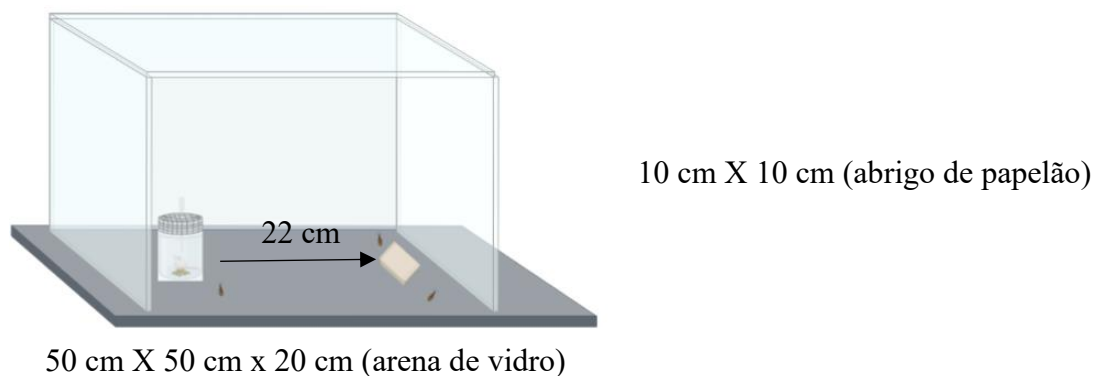
### 3.3 Atividade locomotora orientada e uso de abrigos

Para avaliar a relação entre a atividade locomotora orientada e o uso de abrigos na presença de hospedeiro durante os períodos de fotofase e escotofase, foi realizado primeiramente um registro da atividade locomotora de ninfas de quinto estágio com 25 dias de jejum em actômetro durante 24 horas, nas condições descritas anteriormente. Os insetos foram identificados com marcações individuais utilizando líquido corretivo (inodoro e atóxico, New Magic) aplicado nas pernas e acondicionados individualmente em recipientes de plástico (3 cm × 2,5 cm) contendo papel filtro como substrato.

As ninfas identificadas foram então liberadas em uma arena de vidro (Figura 2; 50 cm x 50 cm x 20 cm) forrada com papel Kraft e que apresentava um abrigo artificial posicionado em uma extremidade na região central da arena, confeccionado de papelão ondulado (peça de 10 cm x 20 cm dobrada ao meio), onde permaneceram por um período de 72 horas para aclimatização. Após esse período, um camundongo (*Swiss Webster*), acomodado dentro de um recipiente (10 cm de altura x 8 cm de diâmetro) que apresentava uma tampa de metal vazada, foi introduzido na arena a uma distância de 22 centímetros do abrigo. O animal recebeu água e alimento *ad libitum* durante todo o período. O recipiente foi envolto com fita dupla face (2,5 cm) para que os insetos que saíssem do abrigo, atraídos pelas pistas físicas (vapor de água, vibrações e calor) e químicas (odores) do hospedeiro, ficassem presos. No final de cada ensaio, os insetos que ficaram presos na fita dupla face foram retirados, identificados pela marcação em suas pernas e acondicionados individualmente em recipientes de plástico (3 cm x 2,5 cm). O mesmo procedimento foi aplicado aos indivíduos que permaneceram livres na arena ou que permaneceram dentro do abrigo. A cada triagem os recipientes (actômetros e arenas) foram higienizados e o substrato foi mudado para evitar contaminação química. Os insetos foram usados apenas uma vez e então descartados.

Para avaliar a saída de insetos durante a noite, os camundongos foram introduzidos na arena às 18:00h e retirados às 10:00h do dia seguinte. Para avaliar os insetos ativos durante o dia, os camundongos foram introduzidos às 08:30h e retirados às 17:30h do mesmo dia. Em cada ensaio foram liberadas 32 ninfas. Foram realizadas cinco repetições para cada experimento (dia e noite).

**FIGURA 2** - Esquema mostrando a disposição do abrigo e do hospedeiro nos ensaios que avaliaram o comportamento de saída do abrigo



**FONTE:** Elaborado pelo autor.

### **3.4 Quantificação de glicose na hemolinfa**

Imediatamente após a finalização dos ensaios de uso de abrigo, insetos que ficaram presos na fita, insetos que ficaram fora do abrigo, mas livres na arena, e insetos que estavam dentro do abrigo foram aleatoriamente selecionados (n entre 12 e 21 para cada ensaio). A quantidade de glicose na hemolinfa foi determinada de acordo com Lu e colaboradores (2019), com modificações. Seis  $\mu\text{l}$  de hemolinfa foram coletados de cada inseto por meio de um corte na tibia do inseto, misturados com 93  $\mu\text{l}$  de uma solução tampão de acetato de sódio 100 mM (pH 5.2) e incubados a 95°C por 10 minutos para inativação de enzimas endógenas. Após o esfriamento, foi adicionado 1  $\mu\text{L}$  de trealase de rim porcino (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, United States) e as amostras foram incubadas durante a noite a 37°C para catalisar a conversão de trealose em glicose. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 13.500 r.p.m a 24°C por 10 minutos e o sobrenadante foi utilizado para a quantificação de glicose. A quantificação foi feita em placa de 96 poços onde se adicionou 200  $\mu\text{l}$ /poço do monoreagente BioClin (Santa Branca, Belo Horizonte, MG, Brasil) e 50  $\mu\text{L}$  do sobrenadante de cada amostra. As placas foram incubadas a 37 °C por 15 min e lidas em espectrofotômetro SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, Jundiaí, São Paulo, Brasil) em comprimento de onda de 505 nm.

### **3.5 Quantificação de triglicérides no corpo gorduroso**

Os mesmos insetos que foram utilizados para a coleta de hemolinfa também tiveram o corpo gorduroso dissecado em solução salina tamponada com fosfato (PBS, NaCl 0,15M em  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  0,01M, pH 7,4). Cada corpo gorduroso foi então pesado, transferido para um microtubo contendo 100  $\mu\text{l}$  de PBS e uma esfera de vidro e foi macerado por 2 minutos (30 mov/seg) em moinho misturador MM 400 (Retsch, Haan, Renânia do Norte-Vestefália, Alemanha). Para a determinação do conteúdo de triglicérides, os ensaios foram conduzidos em triplicatas, utilizando-se 2  $\mu\text{l}$  da amostra homogeneizada em 200  $\mu\text{l}$ /poço de reagente enzimático (Interteck Katal, Campo Belo, São Paulo, Brasil). As amostras foram incubadas a 37°C por 10 minutos e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro SpectraMax Plus 384 (Molecular Devices, Jundiaí, São Paulo, Brasil) em comprimento de onda de 500 nm.

### **3.6 Análises estatísticas**



Os níveis de atividade locomotora dos insetos em diferentes condições nutricionais e de desenvolvimento, foram analisados pelo teste de Wilcoxon pareado, comparando-se a mediana da soma dos movimentos de cada hora dos indivíduos.

Com o objetivo de avaliar a associação da atividade locomotora não orientada, com os níveis de reserva nutricional e com o índice de peso do inseto (peso mg/ comprimento mm) no experimento de saída do abrigo foi utilizada uma Regressão Logística, empregada quando as variáveis dependentes são categóricas e as variáveis independentes são quantitativas. Essa metodologia é a mais utilizada em desfechos binários (dentro e fora do abrigo) devido a sua interpretação intuitiva por Razão de Chances (Odds Ratio). A avaliação da influência dos níveis de reservas nutricionais e do índice de peso do inseto na atividade locomotora não orientada foi verificada utilizando-se um modelo de Regressão Gama, utilizado quando as variáveis são contínua, com função de ligação logarítmica, devido ao comportamento assimétrico positivo desse desfecho de interesse. Os coeficientes estimados foram testados pelo teste de Wald, sendo apresentados também seus respectivos intervalos com 95% de confiança. Para encontrar o conjunto de covariáveis que explicam conjuntamente o desfecho de interesse, foram seguidos dois passos. O primeiro foi ajustar os modelos simples, chamados na prática de univariados. As covariáveis com p-valores menores que 0,20 passaram para a próxima fase, que consistiu em ajustar conjuntamente todas as covariáveis restantes, retirando em cada subpasso aquela menos significava, isto é, com maior p-valor, até encontrar apenas marcadores significativos. A correlação das variáveis ajustadas no modelo múltiplo foi verificada para evitar um problema de multicolinearidade, que ocorre quando duas covariáveis tem correlação significativa positiva e os impede de entrarem juntos no modelo. Deste modo, os valores de razão de chances foram interpretados a partir dos valores encontrados nos modelos simples. Nessa fase, utilizou-se o nível de significância de 5%. As análises foram realizadas utilizando o RStudio versão 4.1.2. (R Core Team 2021, R Foundation of Statistical Computing, Vienna, Austria).

O teste qui-quadrado foi realizado para verificar a influência do sexo, da distribuição dos movimentos e da proporção de saídas do abrigo nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase e escotofase.

O teste de Mann-Whitney foi realizado para comparar o número de movimentos realizados no actômetro dos insetos que saíram e que permaneceram no abrigo.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Atividade locomotora não orientada**

#### 4.1.1 Influência do estágio

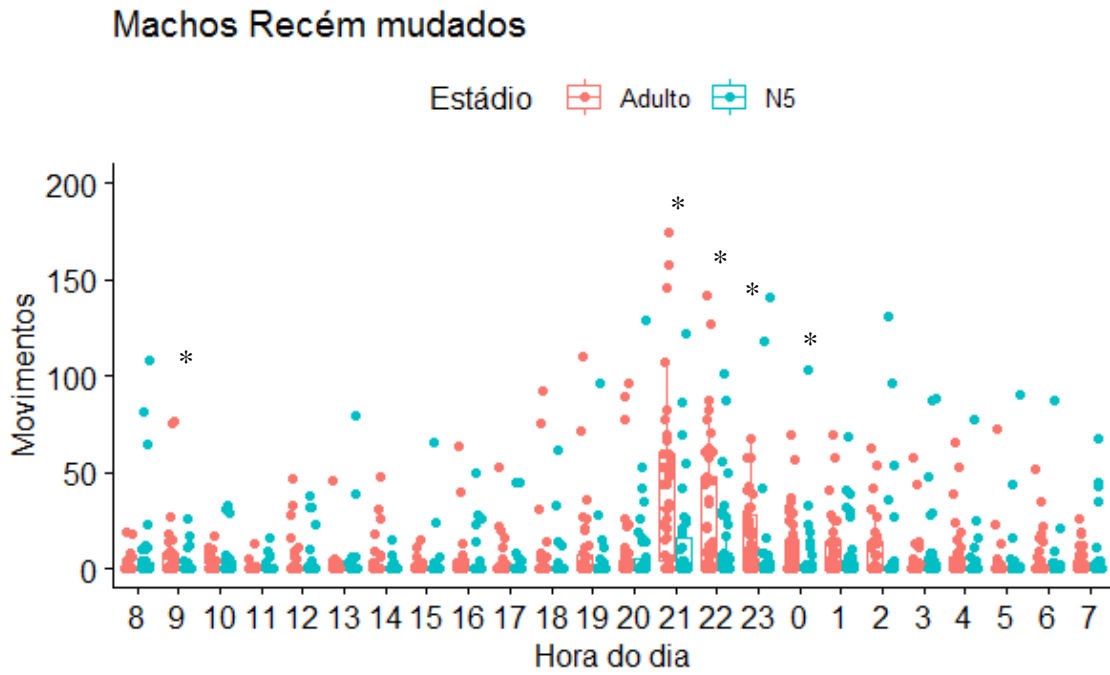
A atividade locomotora não orientada de *R. prolixus* foi registrada por um período de 24 horas. As análises mostraram que houve diferenças nos níveis de atividade entre ninfas e adultos. A figura 3 mostra a mediana e os intervalos interquartílicos do número de movimentos realizados. Os indivíduos adultos, de maneira geral, apresentaram uma atividade locomotora maior do que as ninfas (Figura 3). Os machos adultos recém mudados se moveram mais do que as ninfas machos recém mudadas nos período de 21:00h, 22:00h, 23:00h, 00:00h e 09:00h, (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3A). Já as fêmeas adultas recém mudadas apresentaram atividade aumentada em relação às ninfas fêmeas recém mudadas em quase todo o dia, nos horário de 22:00h, 23:00h, 01:00-03:00h, 05:00h, 09:00h-11:00h e 16:00-19:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3B).

Na condição de jejum, os machos adultos andaram mais do que as ninfas machos durante quase todas as horas do dia, 00:00-05:00h, 10:00-12:00h, 16:00-23:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3C). As fêmeas adultas em jejum também exibiram um maior nível de atividade do que as ninfas fêmeas em jejum na maior parte do dia, 21:00-23:00h, 02:00h, 10:00h, 11:00h, 13:00h e 15:00-19:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3D).

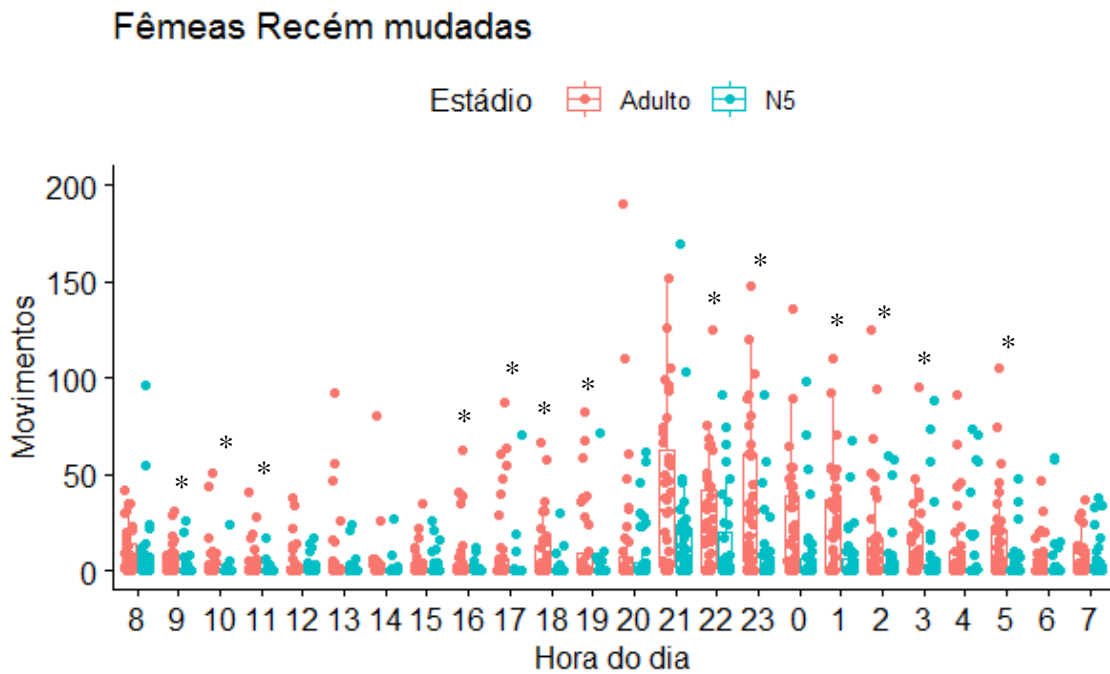
Quando alimentados, entretanto, os machos adultos exibiram um nível de atividade semelhante ao de ninfas machos alimentadas, apresentando uma maior atividade somente às 21:00h, 22:00h, 09:00h e 10:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3E). Nas fêmeas adultas alimentadas a maior atividade em relação às ninfas também foi limitado às primeiras horas da escotofase, 21:00-23:00h, e às 17:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 3F).

**Figura 3** - Efeito do estágio na atividade locomotora não orientada de *R. prolixus*.

**A**

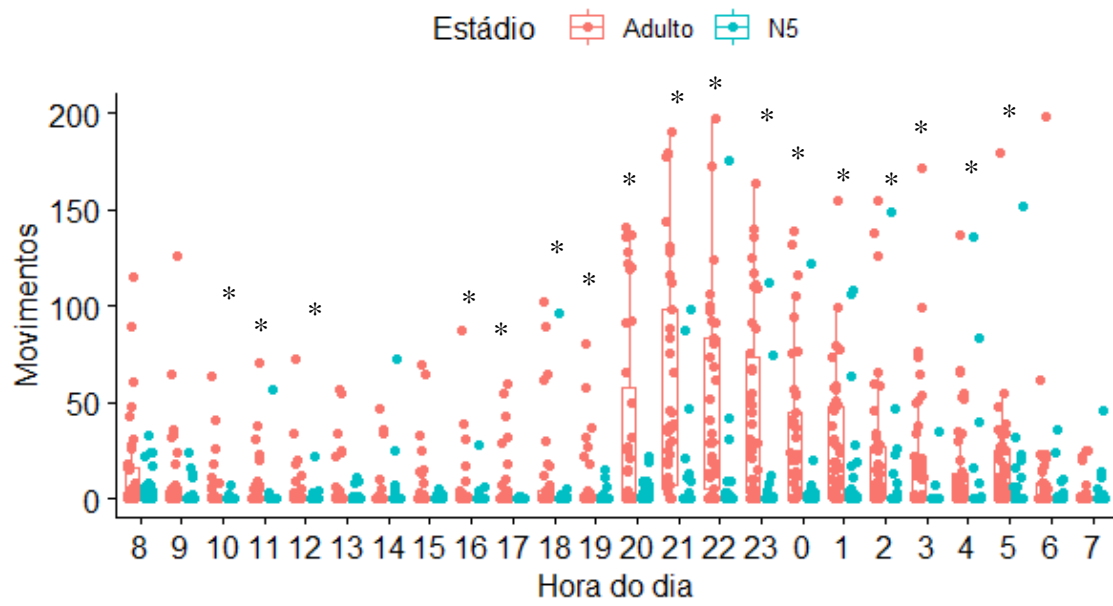


**B**



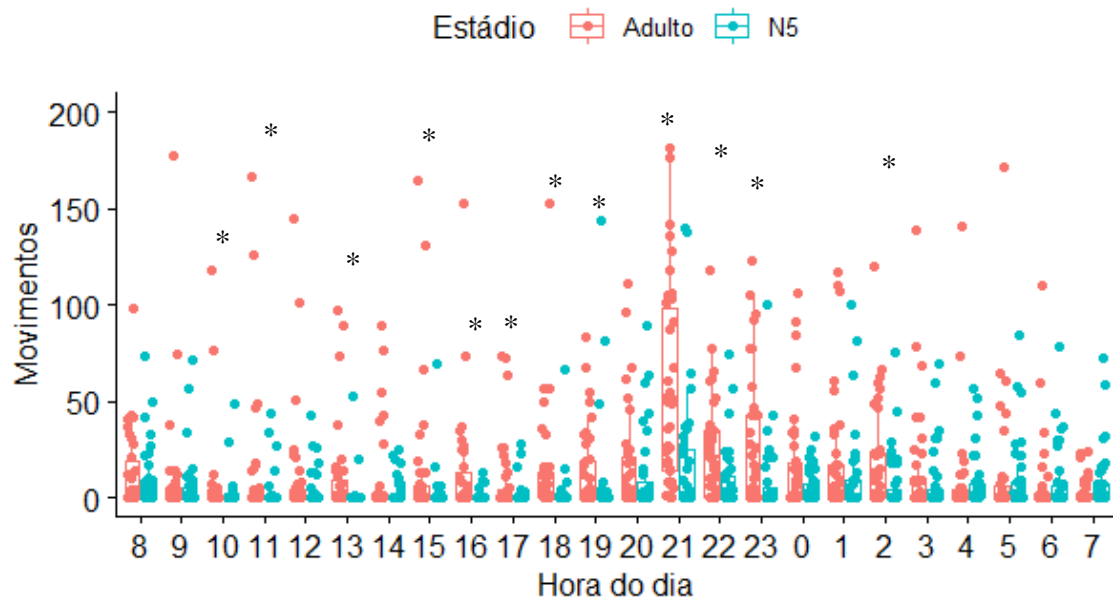
C

## Machos Jejum



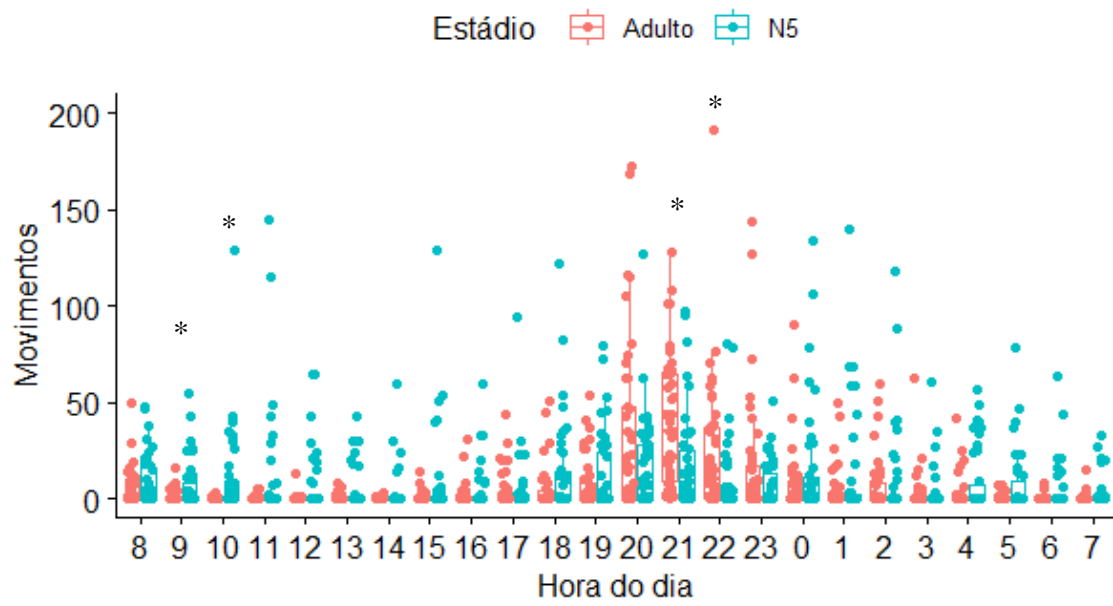
D

## Fêmeas Jejum



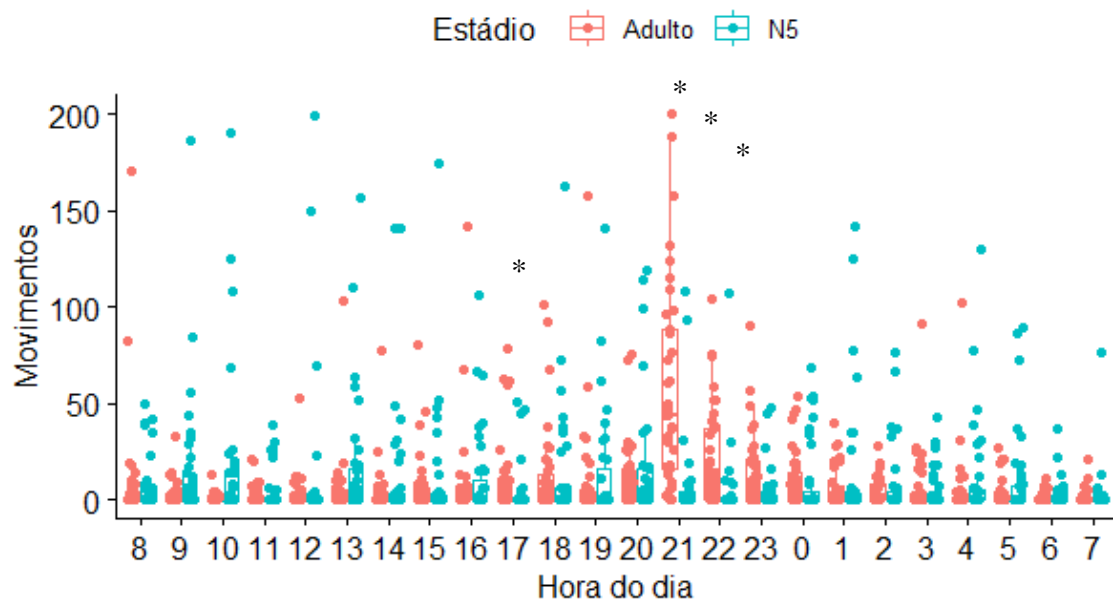
E

## Machos Alimentados



F

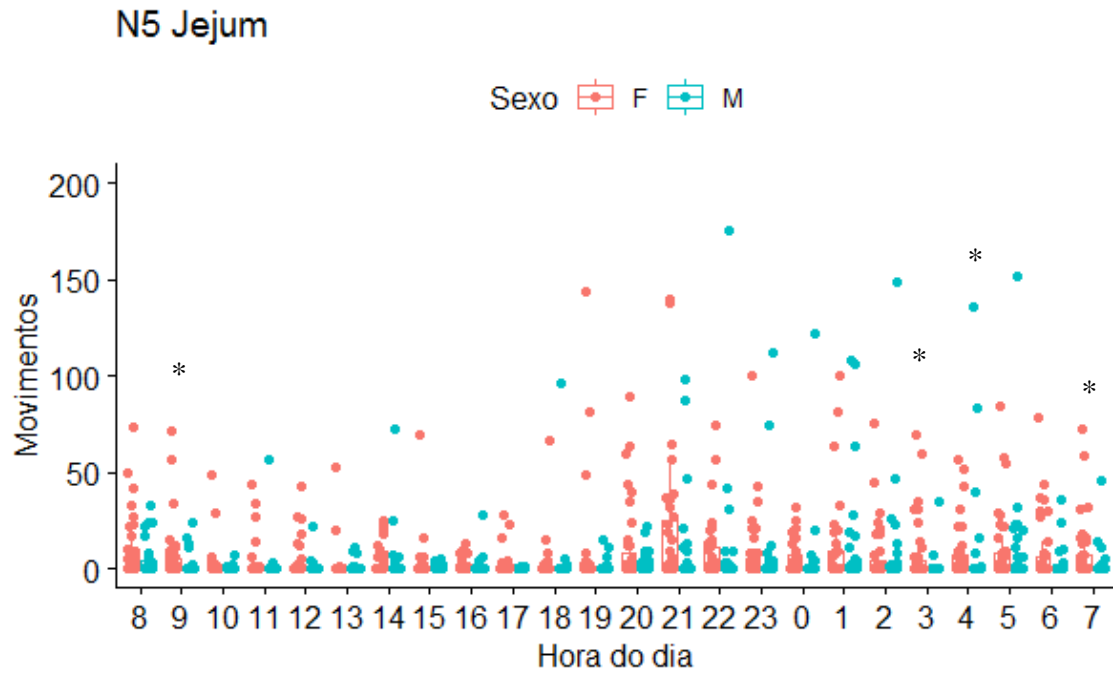
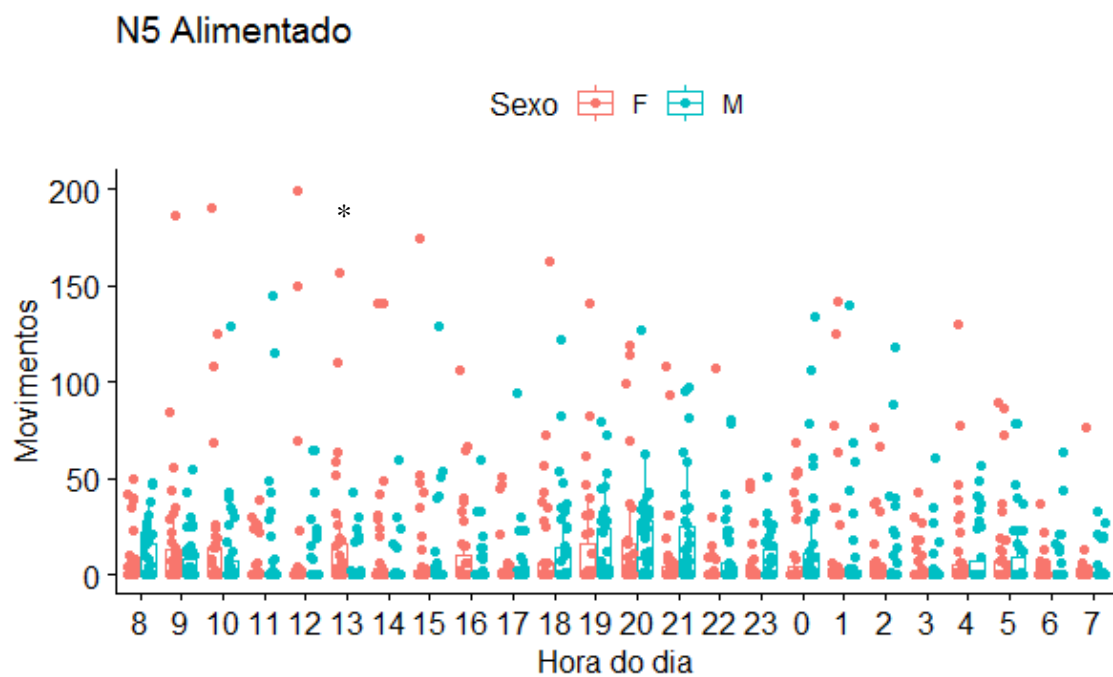
## Fêmeas Alimentadas



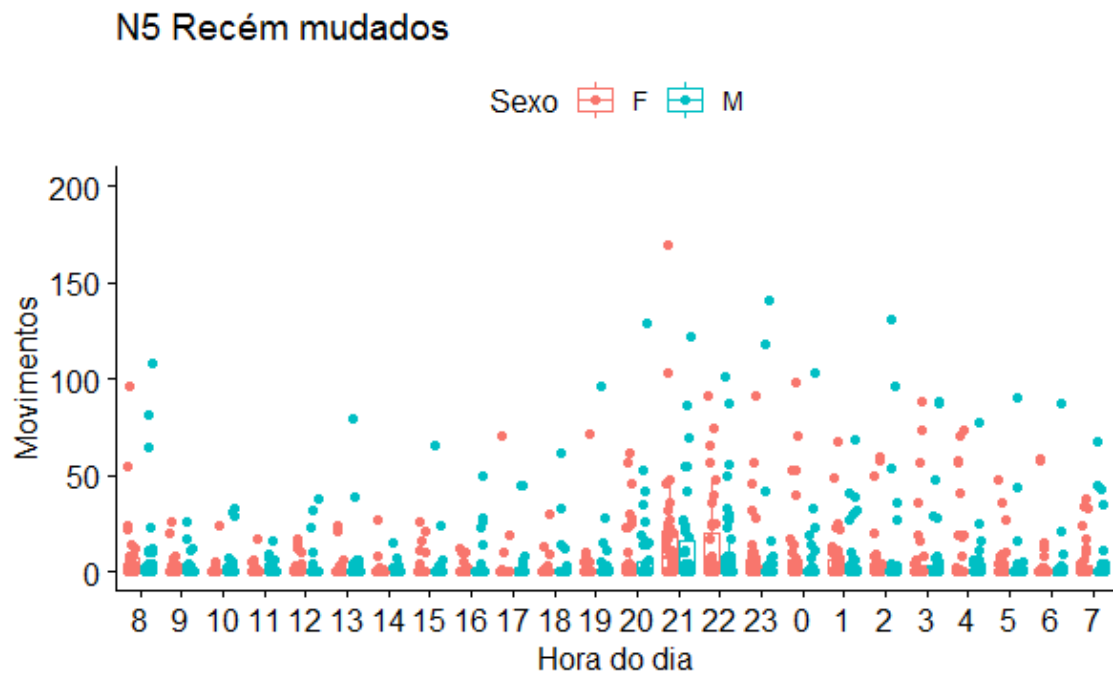
**FONTE:** elaborado pelo autor. Comparação da quantidade de movimentos entre ninfas e adultos nas condições de insetos recém mudados, em jejum e alimentados a partir de experimentos realizados em actômetro (3A-F). Os retângulos representam a mediana do número de movimentos realizados, posicionada entre o primeiro e terceiro quartil. As barras representam os limites superiores e inferiores, respectivamente. Os pontos representam o número de movimentos dos 81 insetos. Os asteriscos indicam as horas com diferença estatística significativa no número de movimentos.

#### **4.1.2 Influência do sexo**

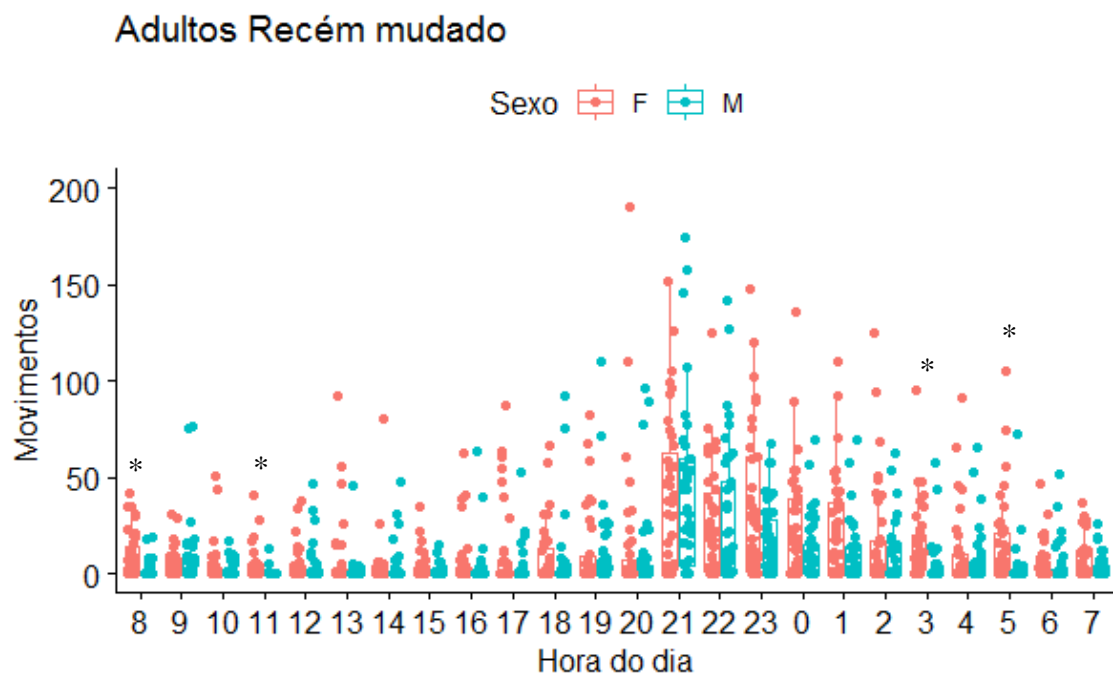
Poucas diferenças foram observadas quando se comparou a atividade locomotora entre os sexos (Figura 4). Com relação às ninfas, as fêmeas em jejum andaram mais do que os machos às 03:00h, 04:00h, 07:00h e 09:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 4A). Para as ninfas alimentadas, as fêmeas andaram mais que os machos apenas no horário de 13:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 4B). Nos indivíduos recém mudados, não houve diferença significativa entre os sexos (Figura 4C). As fêmeas adultas recém mudadas andaram mais que os machos adultos na mesma condição nos horários de 03:00h, 05:00h, 08:00h e 11:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 4D). As fêmeas adultas alimentadas foram mais ativas durante as horas do dia e andaram mais do que os machos adultos alimentados nos horários de 05:00h, 09:00h e 12:00-16:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 4E). Nos indivíduos adultos em jejum, não houve diferença significativa entre os sexos (Figura 4F).

**Figura 4** - Efeito do sexo na atividade locomotora não orientada de *R. prolixus*.**A****B**

C

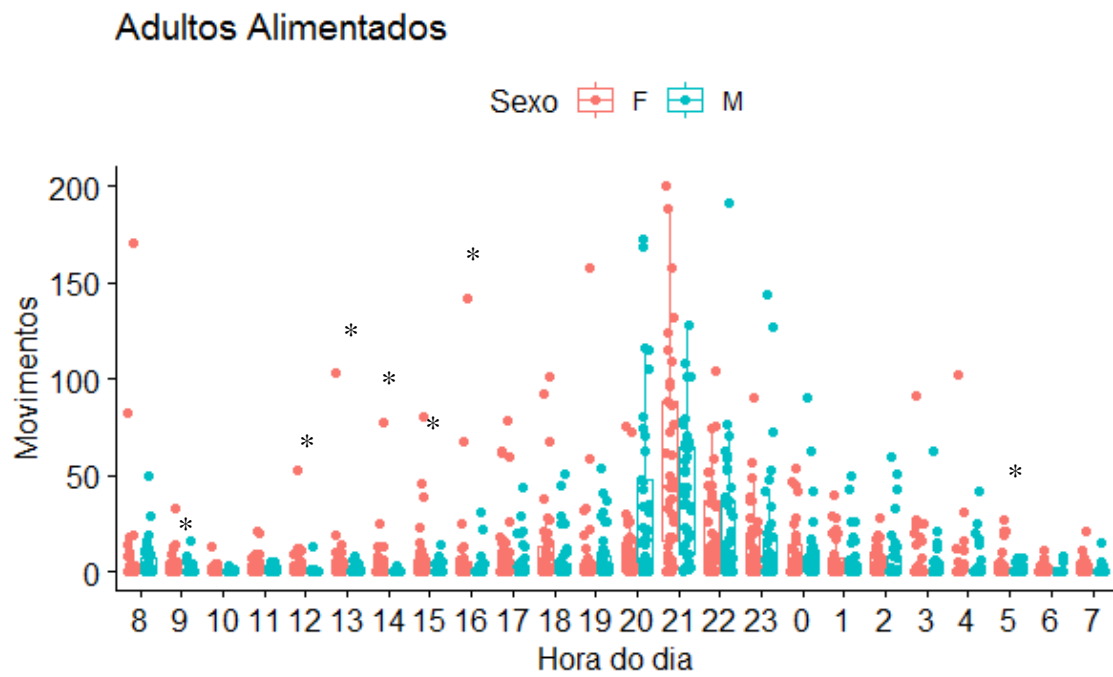


D

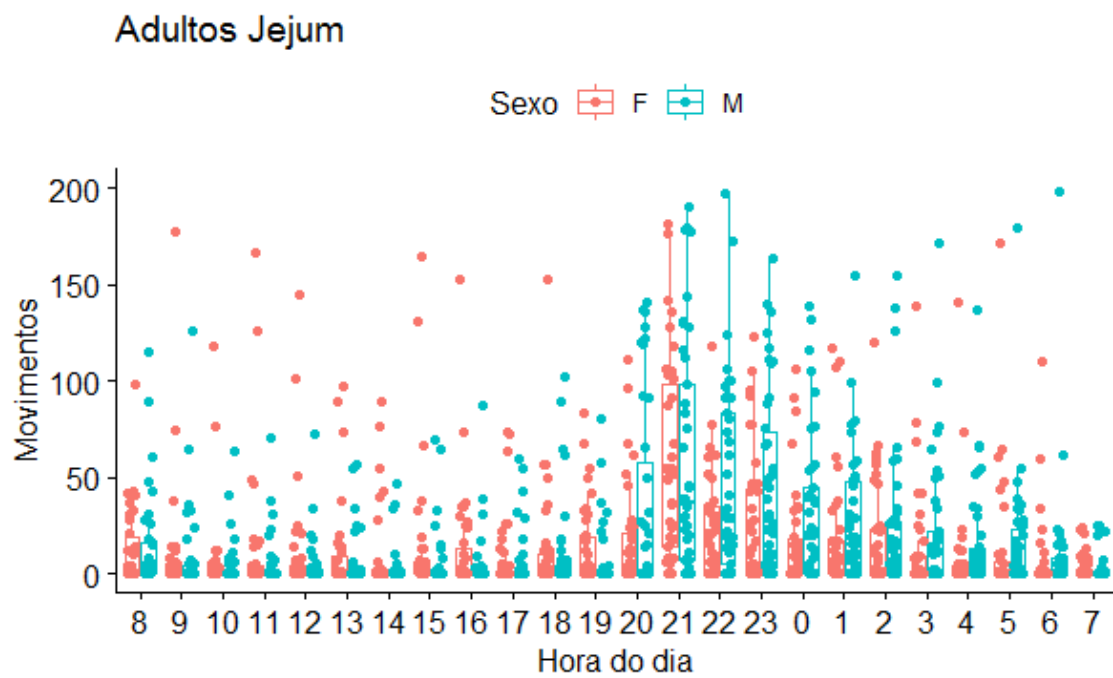




E



F



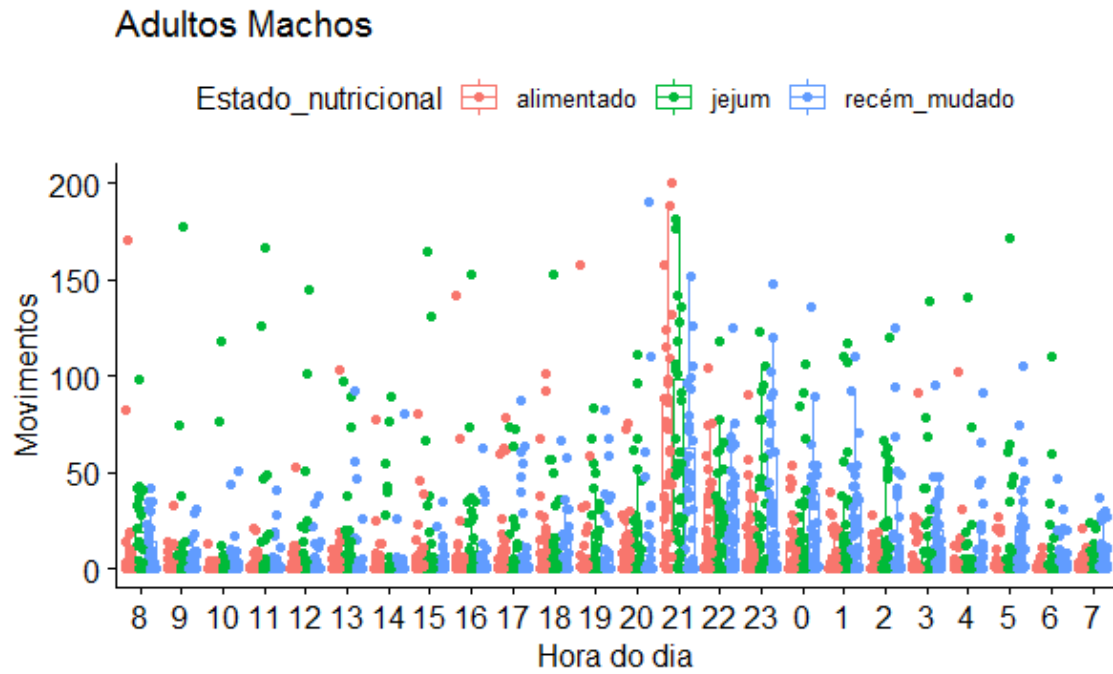
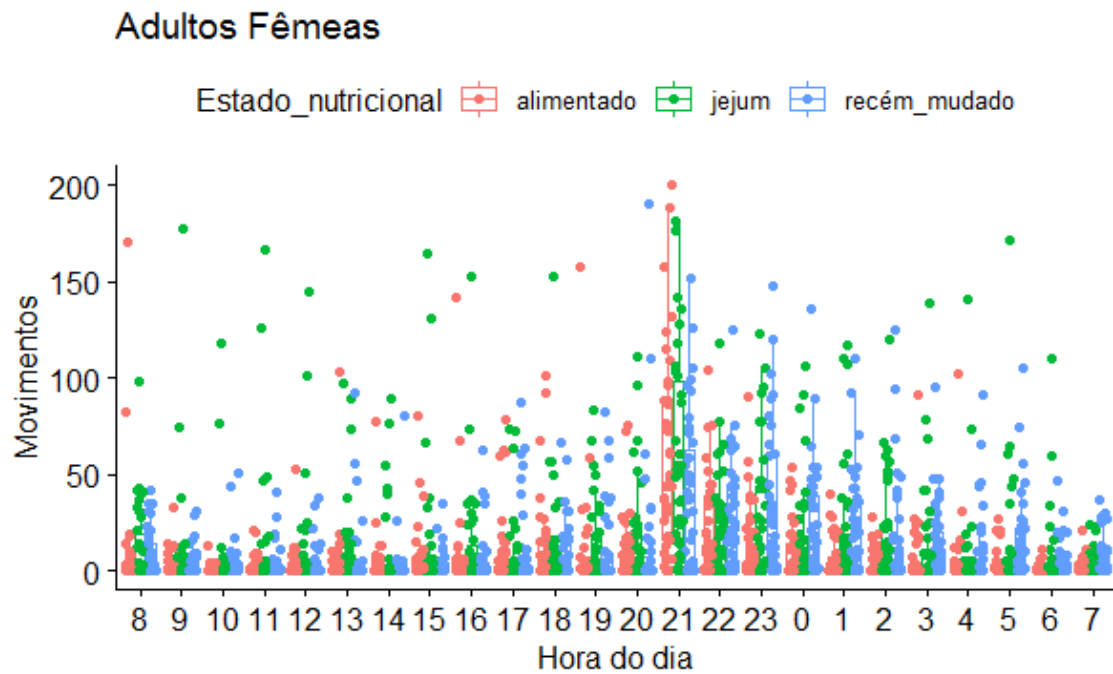
**FONTE:** elaborado pelo autor. Comparação da quantidade de movimentos entre machos e fêmeas de ninfas e de adultos nas condições de insetos recém mudados, em jejum e após a ecdise (4A-F), realizados em actômetro. Os retângulos representam a mediana do número de movimentos realizados, posicionada entre o primeiro e terceiro quartil. As barras representam os limites superiores e inferiores, respectivamente. Os pontos representam o número de movimentos dos 81 insetos. Os asteriscos indicam as horas com diferença estatística significativa no número de movimentos

#### 4.1.3 Influência da alimentação

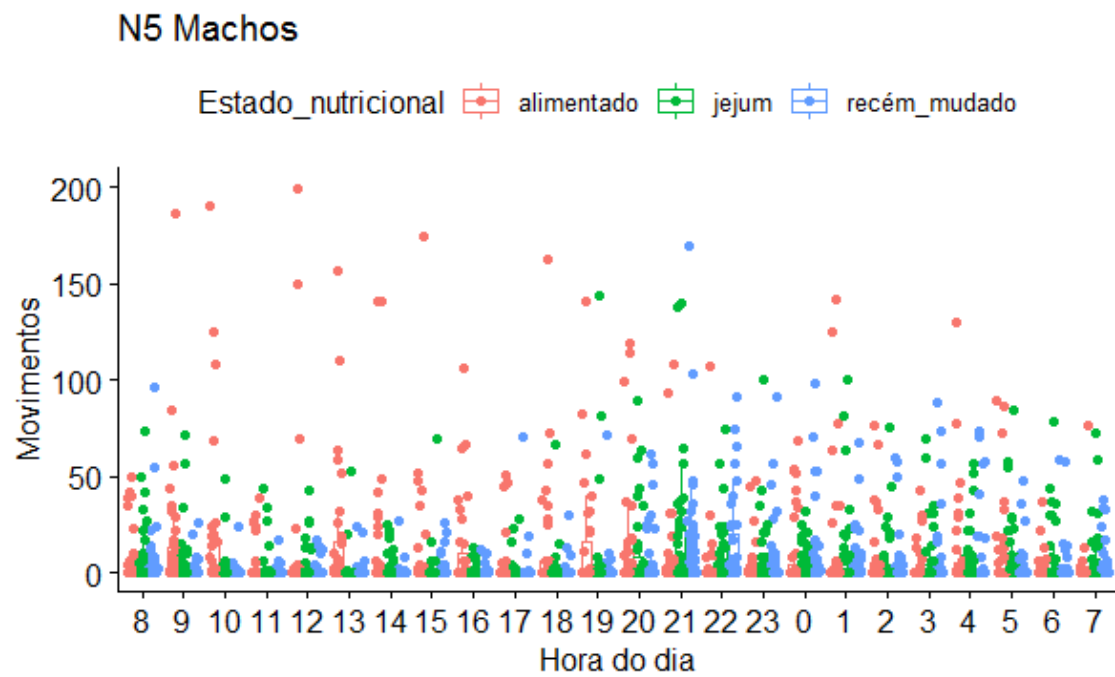
Para os adultos, no geral, indivíduos em jejum andaram mais do que indivíduos alimentados (Figura 5). Com relação aos machos, foram observadas diferenças nos horários de 23:00h, 00:00-06:00h, 10:00h e 12:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5A). Os machos em jejum andaram mais do que machos recém mudados nos horários de 20:00h, 00:00h, 01:00h, 03:00h, 05:00h e 08:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5A). Os machos recém mudados somente andaram mais do que os machos alimentados nos horários de 20:00h, 06:00h, 09:00h e 10:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5A).

A diferença entre as fêmeas em jejum e as fêmeas recém mudadas ocorreu apenas no horário de 05:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5B). As fêmeas recém mudadas andaram mais que as fêmeas alimentadas principalmente nas horas da noite, nos horários de 20:00h, 23:00h, 01:00h, 03:00h e 05:00-07:00 (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5B). As fêmeas adultas em jejum andaram mais do que as fêmeas adultas alimentadas às 08:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5B).

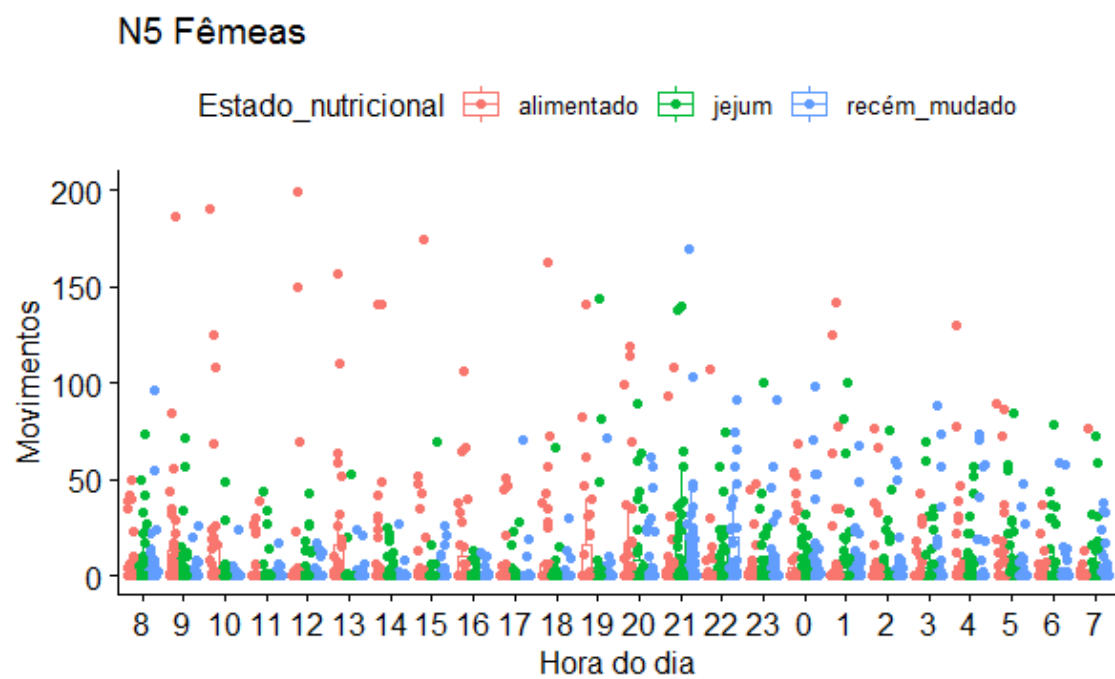
Para as ninfas, uma maior movimentação dos insetos alimentados foi observada durante o dia. Os machos alimentados se moveram mais do que na condição de jejum nos horários de 17:00-20:00h, 00:00h e 09:00-11:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5C). Os machos alimentados se movimentaram mais do que os machos recém mudados nos horários de 18:00h, 19:00h e 20:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5C). As fêmeas alimentadas andaram mais do que aquelas em jejum apenas nos horários de 10:00h e 13:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5D). Em relação às ninfas recém mudadas, as fêmeas alimentadas se movimentaram mais nos horários de 21:00h, 22:00h, 09:00h, 10:00h e 13:00h (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5D). Os machos recém mudados e em jejum não apresentam diferença significativa nos níveis de atividade, exceto no horário de 22:00h em que as ninfas recém mudadas andaram mais (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) (Figura 5C).

**Figura 5** - Efeito da nutrição na atividade locomotora não orientada de *R. prolixus*.**A****B**

C



D



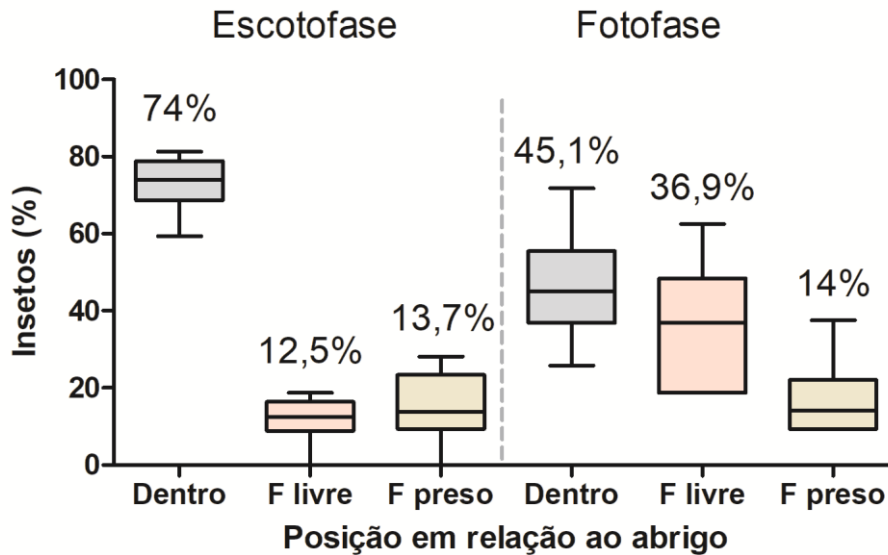
**FONTE:** elaborado pelo autor. Comparação da quantidade de movimentos entre ninfas e de adultos, machos e fêmeas nas condições de insetos recém mudados, em jejum e alimentados (5A-D) realizados em actômetro. Os retângulos representam a mediana do número de movimentos realizados, posicionada entre o primeiro e terceiro quartil. As barras representam os limites superiores e inferiores, respectivamente. Os pontos representam o número de movimentos dos 81 insetos.

## **4.2 Uso de abrigos**

### **4.2.1 Saída do abrigo**

A motivação de saída do abrigo na presença de hospedeiros foi avaliada em duas diferentes condições. Na primeira condição, o hospedeiro foi introduzido na arena antes do início da escotofase e a saída dos insetos foi avaliada após a finalização do período de escuridão. Na segunda, o hospedeiro foi introduzido meia hora depois do início da fotofase e a saída dos insetos foi avaliada depois de 9h de exposição do hospedeiro ainda durante a fase iluminada. A figura 6 mostra a porcentagem de insetos que foram encontrados dentro ou fora do abrigo nos ensaios desenvolvidos durante à noite e durante o dia. A proporção de insetos encontrados fora do abrigo nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase foi maior do que nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase ( $X^2 (1, N= 319) = 22,36, p<0,00001$ ). A mediana da porcentagem de insetos encontrados fora do abrigo foi de 25,0% e 53,3% para os ensaios desenvolvidos durante a escotofase e fotofase, respectivamente (Figura 6). Cerca de 14% dos insetos ficaram presos na fita independentemente do período do dia em que o ensaio foi desenvolvido.

**Figura 6** - Porcentagem de ninfas encontradas dentro do abrigo, livres na arena ou presas na fita, nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase e a fotofase.

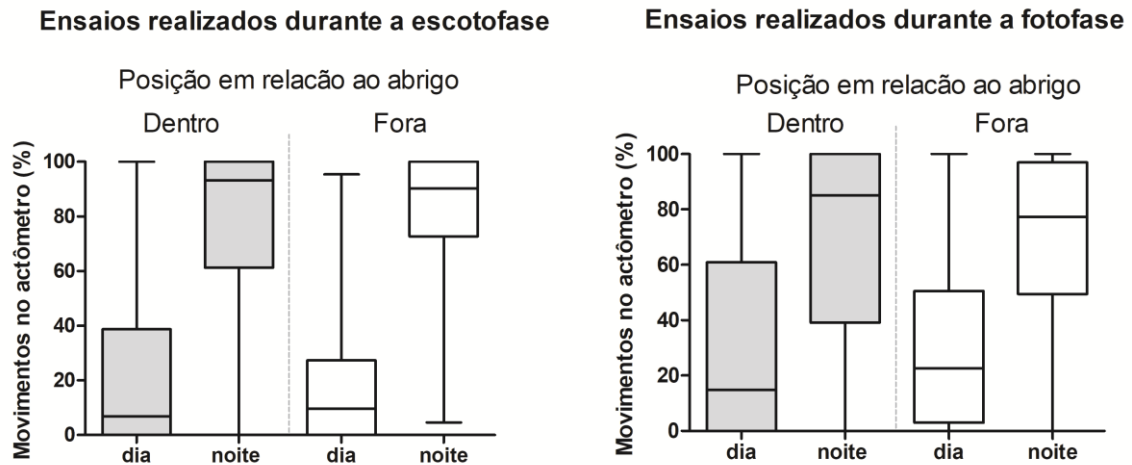


**FONTE:** elaborado pelo autor. Os dados representam a mediana (linha horizontal) da porcentagem de insetos dentro e fora (F) do abrigo de cinco ensaios independentes para cada condição ( $X^2(1, N= 319) = 22,36, p < 0,00001$ ; 25-75%, Max-Min).

#### 4.2.2 Influência da atividade locomotora não orientada na saída do abrigo

O número de movimentos que haviam sido quantificados no actômetro dos insetos que saíram do abrigo não foi diferente do número de movimentos daqueles que foram encontrados dentro do abrigo no final dos ensaios tanto nos ensaios realizados durante a escotofase quanto naqueles realizados durante a fotofase (Mann-Whitney,  $p > 0,05$  para as duas condições). Além disso, também não houve diferença na distribuição dos movimentos entre os períodos de luz e escuridão (Figura 7,  $X^2, p > 0,05$  para as duas condições). As ninfas que foram utilizadas nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase tinham realizado no actômetro mais de 90% dos movimentos durante a noite, independentemente se estavam dentro ou fora do abrigo. Já nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase, a porcentagem de movimentos realizados durante a noite no actômetro foi de 85,1 e 77,4% para insetos que ficaram dentro e fora do abrigo, respectivamente.

**Figura 7** - Porcentagem de movimentos em relação ao total realizados durante o dia e à noite dos insetos que ficaram dentro e fora do abrigo em ensaios realizados durante a escotofase e a fotofase.

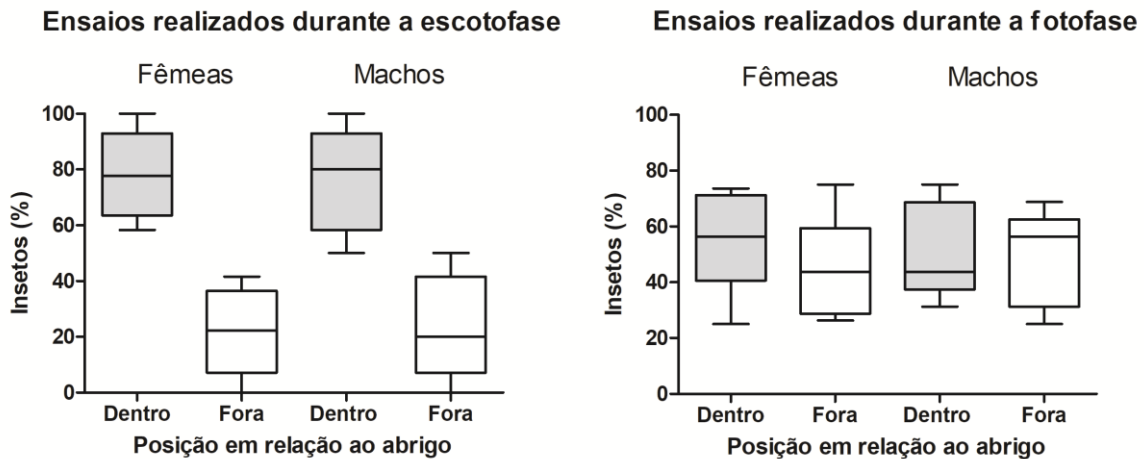


**FONTE:** elaborado pelo autor. Os dados representam a mediana (linha horizontal) da porcentagem de movimentos em relação ao total de insetos dentro e fora do abrigo de cinco ensaios independentes para cada condição ( $X^2$ ,  $p > 0,05$  para as duas condições; 25-75%, Max-Min).

#### 4.2.3 Influência do sexo na saída do abrigo

Não foram observadas diferenças significativas nas proporções de machos e de fêmeas que foram encontrados dentro e fora dos abrigos, independente do período em que os ensaios foram desenvolvidos ( $X^2$ ,  $p > 0,05$  para todas as comparações). Nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase, as porcentagens médias de fêmeas e de machos encontrados dentro dos abrigos foram de  $76,4 \pm 8,5$  e  $78,0 \pm 7,1$  %, respectivamente (Figura 8). Nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase, as porcentagens médias de fêmeas e de machos encontrados dentro dos abrigos foram de  $51,1 \pm 7,7$  e  $55,9 \pm 8,4$  %, respectivamente (Figura 8).

**Figura 8** - Porcentagem de insetos separados por sexo em relação ao total de insetos e sua posição em relação ao abrigo nos ensaios realizados durante a escotofase e a fotofase.



**FONTE:** elaborado pelo autor. Os dados representam a mediana (linha horizontal) da porcentagem de movimentos em relação ao total de insetos dentro e fora do abrigo de cinco ensaios independentes para cada condição ( $X^2$ ,  $p > 0,05$  para todas as comparações; 25-75%, Max-Min).

#### 4.2.4 Influência de reservas energéticas na saída do abrigo

##### 4.2.4.1 Ensaios realizados durante a escotofase

Para avaliar se a decisão de sair do abrigo está relacionada com a quantidade de reservas energéticas que o inseto possui, foi realizada uma amostragem aleatória de insetos que estavam dentro e fora do abrigo no final dos ensaios para quantificar os níveis de triglicérides e de glicose (obtido depois da hidrólise das moléculas de trealose). Utilizando-se todos os parâmetros, isto é, índice de peso, níveis de glicose e triglicérides e movimentos realizados durante 24 horas no actômetro pelos insetos avaliados no abrigo no período noturno, foi ajustado um modelo de Regressão Logística simples, onde cada variável foi analisada separadamente. A tabela 1 mostra os modelos simples ajustados, onde foi observado que nenhum dos fatores foi significativo para a saída do inseto do abrigo de acordo com os valores de p teste de Wald.



**Tabela 1-** Modelo de Regressão logística simples para análise de fatores que influenciam a saída de abrigo nos ensaios realizados durante a escotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) - Estimativa	Valor-p
Índice peso (peso/comprimento)	0,160	[-0,621; 0,941]	0,688
Quantidade de triglicérides (log)	0,284	[-0,182; 0,751]	0,232
Quantidade de glicose (nmol/ul)	-0,337	[-1,342; 0,668]	0,511
Número movimentos 24h (log)	0,098	[-0,102; 0,298]	0,338

**FONTE:** elaborado pelo autor.

#### 4.2.4.2 Ensaios realizados durante a fotofase

O mesmo tipo de análise foi realizado com os dados obtidos nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase. O modelo de Regressão Logística simples, analisando-se cada variável separadamente, mostrou que as variáveis índice de peso, e quantidade de triglicérides e de glicose apresentaram valores de  $p < 0,2$  (Tabela 2). A variável quantidade de glicose foi eliminada no segundo passo de ajuste, o que era esperado, uma vez que na análise simples seu valor de  $p$  era 0,17. Quando as variáveis quantidade de triglicérides e índice de peso foram analisadas no modelo múltiplo, houve uma perda da significância provavelmente devido a um problema de multicolinearidade (Tabela 3). O teste de correlação de Spearman entre o índice de peso e a quantidade de triglicérides foi de 0,55, com  $p$ -valor menor que 0,001, indicando a existência de uma correlação significativa positiva entre os dois fatores, o que os impede de entrarem juntos no modelo. Dessa forma, os valores de razão de chances foram interpretados a partir dos valores encontrados nos modelos simples. Assim, quando o valor dos triglicérides é aumentado em 20%, por exemplo, a chance do inseto de sair do abrigo é 1,21 maior do que permanecer dentro dele, ou seja, 21% mais chances, com intervalo de 95% de confiança entre [1,04; 1,41] ( $p = 0,013$ ). E quando o índice de peso é aumentado em uma unidade, o inseto tem 5,2 vezes mais chances de sair do abrigo, com intervalo de 95% de confiança entre [1,35; 19,82] ( $p = 0,016$ ).

**Tabela 2** - Modelo de Regressão logística simples para análise de fatores que influenciam a saída de abrigo nos ensaios realizados durante a fotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) Estimativa	- Valor-p
Índice peso (peso/comprimento)	1,65	[0,306; 2,987]	0,016
Quantidade de triglicérides (log)	1,06	[0,226; 1,903]	0,013
Quantidade de glicose (nmol/ul)	1,87	[-0,822; 4,565]	0,173
Número movimentos 24 h (log)	0,10	[-0,102; 0,298]	0,338

**FONTE:** elaborado pelo autor.

**Tabela 3** - Modelo de Regressão logística múltipla para análise de fatores que influenciam a saída de abrigo nos ensaios realizados durante a fotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) Estimativa	- Valor-p
Índice peso (peso/comprimento)	0,997	[-0,568; 2,563]	0,212
Quantidade de triglicérides (log)	0,742	[-0,224; 1,70]	0,133

**FONTE:** elaborado pelo autor.

#### 4.2.5 Influência de reservas energéticas na atividade locomotora não orientada

##### 4.2.5.1 Ensaios realizados durante a escotofase

Os efeitos dos níveis de triglicérides, de glicose e do índice de peso sobre a atividade locomotora espontânea também foram analisados. Para isso utilizou-se um modelo de regressão gama com função de ligação logarítmica. A tabela 4 apresenta os modelos simples ajustados, onde se observou um valor de  $p < 0,2$  para duas variáveis, o que permitiu que elas fossem analisadas conjuntamente em um modelo múltiplo. A análise do modelo múltiplo (tabela 5) mostrou que os níveis de glicose e o índice de peso influenciaram na quantidade de movimentos que os insetos realizaram durante o período noturno. O valor positivo das estimativas indica que quanto maior o inseto e a quantidade de glicose, maior o nível de atividade do inseto.

**Tabela 4** - Modelo de Regressão Gama simples para análise de fatores que influenciam a atividade locomotora não orientada nos ensaios realizados durante a escotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) - Estimativa	Valor-p
Índice peso (peso/comprimento)	0,667	[0,082; 1,251]	0,028
Quantidade de triglicérides (log)	0,165	[-0,159; 0,489]	0,321
Quantidade de glicose (nmol/ul)	0,855	[0,232; 1,478]	0,009

**FONTE:** elaborado pelo autor.

**Tabela 5** - Modelo de Regressão Gama múltiplo para análise de fatores que influenciam a atividade locomotora não orientada nos ensaios realizados durante a escotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) Estimativa	- Valor-p
Quantidade de glicose (nmol/ul)	0,821	[0,1884; 1,4537]	0,013
Índice de peso	0,726	[0,1899; 1,2619]	0,010

**FONTE:** elaborado pelo autor.

#### 4.2.5.2 Ensaios realizados durante a fotofase

A tabela 6 apresenta os modelos simples ajustados para a análise dos efeitos dos níveis de triglicérides e de glicose e do índice de peso sobre a atividade locomotora espontânea nos ensaios desenvolvidos durante o dia. Os valores de  $p > 0,2$  mostraram que nenhum dos fatores analisados foi significativo para a atividade locomotora espontânea.

**Tabela 6** - Modelo de Regressão Gama simples para a análise de fatores que influenciam a atividade locomotora não orientada nos ensaios realizados durante a fotofase.

Variável	Estimativa	IC (95%) Estimativa	- Valor-p
Índice peso (peso/comprimento)	0,064	[-0,691; 0,818]	0,869

Quantidade de triglicérides (log)	0,019	[-0,43; 0,468]	0,933
Quantidade de glicose (nmol/ul)	0,531	[-1,15; 2,211]	0,538

**FONTE:** elaborado pelo autor.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Atividade locomotora não orientada

Os resultados mostraram que, no geral, os adultos apresentaram uma atividade locomotora espontânea maior do que as ninfas de quinto estágio. As diferenças começaram a partir da ecdise e ficaram bem evidentes nos insetos em jejum. *Rhodnius prolixus* é uma espécie de triatomíneo que pode ser encontrada tanto no ambiente silvestre quanto no doméstico. As populações silvestres normalmente são encontradas em palmeiras, associadas a esconderijos de mamíferos, marsupiais e répteis, e ninhos de aves. Nesses ambientes, *R. prolixus* apresenta características de micropredador oportunista, buscando ativamente e alimentando-se de diversos hospedeiros (ABAD-FRANCH e GURGEL-GONÇALVES, 2021). A coleta frequente de ninfas em jejum nos ambientes silvestres através do uso de armadilhas indica que as ninfas, que não possuem asas, se mantêm nesses microambientes durante os períodos de ausência de hospedeiros (NOIREAU e DUJARDIN, 2010). Já os triatomíneos adultos podem se dispersar através do voo, motivados pelo jejum e/ou amadurecimento sexual (LAZZARI, PEREIRA e LORENZO, 2013). Assim, as diferenças observadas sugerem que existam estratégias distintas de locomoção em ninfas e adultos, na qual os indivíduos adultos mantêm seus níveis de atividade não orientada elevados quando em jejum para facilitar sua dispersão para novos ambientes, enquanto as ninfas mantêm níveis mais baixos a fim de economizar reservas energéticas para aumentar as taxas de sobrevivência durante os longos períodos de jejum. Além disso, a menor resistência ao jejum por parte dos adultos (ROJAS CORTÉZ e GONÇALVES, 1998) poderia fazer com que a necessidade de dispersar aparecesse mais precocemente nessa fase. De fato, vários estudos têm mostrado que existem correlações entre o início do voo e o estado nutricional de triatomíneos. Lehane e Schofield (1982) observaram que quanto menor o índice nutricional de *T. infestans*, maior era o número de insetos iniciando o voo. McEwen e Lehane (1993) obtiveram resultados semelhantes em *T. sordida*, mostrando que o jejum

estimulou a locomoção dos indivíduos. Castillo-Neyra e colaboradores (2015) avaliaram o comportamento de *T. infestans* na presença constante de hospedeiros e após a sua remoção. Os autores observaram uma redução de 19,7% dos insetos no abrigo associado ao hospedeiro após dez dias da sua retirada, os quais aumentaram suas taxas de dispersão para forragearem. Di Iorio e Gürtler (2017) avaliaram a influência da condição nutricional na tendência de dispersão pelo voo em indivíduos adultos de *T. infestans* e observaram que os insetos presentes no peridomicílio com uma baixa condição nutricional, ou seja, em jejum, possuíam uma maior probabilidade de dispersão pelo voo, resultando na reinfestação de domicílios.

A alimentação diminuiu os níveis de atividade dos adultos, sendo que as mudanças foram muito mais pronunciadas nos machos. Uma redução na atividade de machos adultos imediatamente após a alimentação também foi observada para *T. infestans* (SETTEMBRINI, 1984). Diversos estudos têm mostrado que os odores liberados pelas glândulas metasternais das fêmeas de triatomíneos são capazes de induzir os machos a deixar o abrigo, iniciar o voo, exibir anemotaxia modulada por odor e aumentar os níveis de atividade locomotora (VITTA et al., 2009; ZACHARIAS et al., 2010; MAY-CONCHA et al., 2013; PONTES et al., 2014). Assim, a significativa redução dos níveis de atividade dos machos após a alimentação poderia ser decorrente da ausência de feromônios sexuais. Estudos comparando a atividade locomotora não orientada na presença e ausência de feromônios sexuais são necessários para confirmar essa hipótese.

No presente estudo, não foram observadas diferenças na atividade locomotora entre machos e fêmeas adultos em jejum. Um resultado semelhante foi encontrado em um estudo que avaliou a saída do abrigo de adultos de *R. prolixus* em jejum, mesmo que as fêmeas tenham apresentado uma maior taxa de saída espontânea do abrigo no início da escotofase (PONTES et al., 2014). Entretanto, no nosso estudo as fêmeas adultas andaram mais do que os machos logo após a muda e quando alimentadas, especialmente durante as horas da fotofase. Abrahan, Gorla e Catalá (2011) estudaram a dispersão ativa em triatomíneos de campo e observaram que as fêmeas de *T. infestans* se dispersavam mais caminhando do que os machos. Além disso, as fêmeas capturadas em armadilhas de solo possuíam uma melhor condição nutricional do que as coletadas por armadilhas de captura de voo. Assim, os autores sugeriram que a dispersão de fêmeas pela caminhada possa ser uma estratégia adaptativa nos casos de indivíduos portando ovos e/ou um elevado volume de reserva sanguínea, onde o voo seria dificultado. Nesse contexto, as diferenças entre machos e fêmeas encontradas no presente estudo poderiam estar

relacionadas com uma maior capacidade de dispersão via caminhada nas fêmeas recém mudadas e alimentadas.

Com relação à atividade locomotora não orientada das ninfas, de maneira geral e como já mencionado anteriormente, um baixo nível de atividade locomotora foi observado em todas as condições fisiológicas analisadas. Os níveis se mantiveram especialmente baixos logo após a ecdise e no jejum de 30 dias, diferentemente do observado por Núñez (1982), onde ninfas de quinto estágio de *R. prolixus* não exibiram atividade locomotora logo após a ecdise, mas aumentaram seus níveis de atividade com o aumento do jejum, mesmo na ausência de pistas de hospedeiro. Interessantemente, e similar ao que aconteceu com as fêmeas adultas, a movimentação nesse estágio aumentou significativamente após a alimentação, principalmente nas horas do dia. Essas diferenças reforçam a ideia de que haja uma estratégia de economia de reservas energéticas pelos indivíduos em jejum, como já discutido anteriormente, quando não existem sinais da presença de hospedeiros. Poucas diferenças foram observadas entre os sexos, se destacando as fêmeas em jejum que andaram mais do que os machos nessa mesma condição. O estudo de Marlière et al. (2020) mostrou que existem diferenças nos perfis de atividade entre ninfas machos e ninfas fêmeas de *R. prolixus* em jejum. No referido estudo, os diferentes perfis de atividade foram influenciados pelo sexo dos insetos e pela expressão do gene *Rpfor*. Além disso, uma correlação negativa entre a expressão desse gene e a atividade total de machos sugeriu que o gene module os níveis de atividade locomotora não orientada nesses insetos.

## 5.2 Uso de abrigos

O abrigo é um local finamente avaliado e selecionado pelos triatomíneos. De maneira geral, a permanência dos insetos nos abrigos é modulada por vários fatores que incluem acentuadas tigmotaxia (tendência que os triatomíneos apresentam de se manterem em contato com o substrato e coespecíficos) e fototaxia negativa, associadas com ausência de atividade (revisado por LAZZARI 2021). Entretanto, é importante ressaltar que a exploração dos abrigos é bastante variável entre as diferentes espécies (MOTA e LORENZO, 2012; MOSQUERA e LORENZO, 2020a). Em *T. infestans*, por exemplo, esses comportamentos que mantêm os insetos dentro do abrigo são reforçados por sinais químicos presentes nas fezes e na cutícula de coespecíficos (LORENZO FIGUEIRAS e LAZZARI, 1998; FIGUEIRAS e LAZZARI, 2000; FIGUEIRAS, KENIGSTEN e LAZZARI, 1994), enquanto em espécies do gênero *Rhodnius* parece não haver tal marcação com sinais de agregação (MOSQUERA e LORENZO, 2020b).

No presente estudo, nos ensaios desenvolvidos durante o período noturno, a maior parte dos insetos foi encontrada dentro do abrigo e aproximadamente 25% deles estavam fora no momento da finalização dos ensaios, proporção semelhante à obtida em estudos prévios realizados em condições semelhantes (FERREIRA, GUARNERI e LORENZO, 2019). É importante ressaltar que a contagem dos insetos foi feita cerca de duas horas após o início da fotofase, e sabendo-se que os triatomíneos normalmente retornam ao abrigo no final da escotofase (LORENZO e LAZZARI, 1998, MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2021, 2022), esses resultados não refletem exatamente a movimentação dos insetos durante a noite. Trabalhos anteriores mostraram que, no caso de *R. prolixus*, a proporção de insetos encontrada fora do abrigo na presença de sinais de hospedeiro ao longo da escotofase pode chegar a valores próximos de 40% (FERREIRA, GUARNERI e LORENZO, 2019; MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2021, 2022). Entretanto, o número de insetos que decide sair do abrigo deve ser menor, visto que um mesmo indivíduo pode entrar e sair várias vezes ao longo da noite.

Interessantemente, nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase, mais da metade dos insetos foi encontrada fora do abrigo quando os ensaios foram finalizados, o que ocorreu ainda durante o período de luz. *Rhodnius prolixus* apresenta uma intensa fototaxia negativa (MARLIÉRE et al., 2015) associada a uma elevada tolerância a altas densidades no interior de abrigos, provavelmente decorrente de uma forte tigmotaxia (MOSQUERA e LORENZO, 2020b). Sendo assim, esse resultado é interessante e bastante relevante, porque demonstra que a presença do hospedeiro é capaz de se sobrepor às características comportamentais que mantêm os insetos dentro dos abrigos durante o dia. Já foi demonstrado que a resposta dos triatomíneos a alguns odores emitidos por hospedeiros é reduzida durante o dia como, por exemplo, a resposta a CO<sub>2</sub> (BARROZO e LAZZARI, 2004). Deste modo, é provável que outros sinais, cuja percepção do inseto não seja controlada por ritmos circadianos, possam atrair os insetos nos períodos de luz. Além disso, existem algumas evidências de que os triatomíneos podem sincronizar seu ritmo de atividade com o ritmo de atividade do hospedeiro, como já mostrado para *T. infestans* (LOPES et al., 2018). Como já mencionado, *R. prolixus* vive em diferentes espécies de palmeiras associado a hospedeiros de hábitos noturnos e diurnos dentre os quais estão aves, mamíferos, lagartos e lagartixas, o que justificaria a plasticidade da espécie em forragear tanto de dia quanto à noite (ABAD-FRANCH e GURGEL-GONÇALVES, 2021). No presente estudo foram utilizados camundongos como fonte de estímulo de hospedeiro. Esses animais apresentam hábitos noturnos (CHORILLI, MICHELIN e SALGADO, 2007), o que poderia ter contribuído para a saída dos insetos do abrigo, desde que existam diferenças

perceptíveis na quantidade ou qualidade dos sinais emitidos pelo hospedeiro durante os períodos de repouso ou atividade.

Independentemente do número de insetos encontrados fora do abrigo, foi encontrada uma mesma proporção de indivíduos (~14%) presos nas fitas coladas no frasco que continha o hospedeiro nos ensaios desenvolvidos durante o dia e a noite. Esse resultado indica que mesmo que um número alto de indivíduos decida sair do abrigo, apenas uma proporção pequena se arrisca a tentar a alimentação. Isso sugere que exista alguma estratégia para evitar que um número grande de indivíduos se aproxime do hospedeiro ao mesmo tempo. Já foi demonstrado que o comportamento de catação (*grooming*) de diversos animais é diretamente proporcional ao nível de ataque de dípteros hematófagos como tabanídeos (DAVIES, 1990) e mosquitos (EDMAN, WEBBER e KALE, 1972; WAAGE e NONDO, 1982). Também já foi mostrado que a percepção a picadas de *R. prolixus* é densidade-dependente (SCHOFIELD, WILLIAMS e MARSHALL, 1986). De fato, um aumento no número de insetos que saem do abrigo e decidem se alimentar, como o observado durante a infecção de *R. prolixus* pelo parasito *Trypanosoma rangeli*, eleva significativamente as taxas de predação sofridas por esses insetos (MARLIÉRE, LORENZO e GUARNERI, 2022). Deste modo, sugerimos que a reduzida proporção de insetos que tenta se alimentar possa ser uma estratégia para diminuir os riscos de predação. Entretanto, é preciso levar em consideração que o fato de os insetos terem ficado presos na fita e não terem se alimentado pode representar um viés para o estudo e ensaios futuros permitindo a alimentação dos indivíduos que se aproximarem do hospedeiro são necessários para confirmar esses resultados.

Sabendo-se que apenas uma proporção dos indivíduos presentes em um abrigo vai sair mesmo com a presença de sinais emitidos por um hospedeiro, a próxima questão seria entender o que dispara a decisão pela saída. Duas hipóteses foram testadas no presente estudo. A primeira levou em consideração o nível de atividade não orientada expressa pelos indivíduos e a segunda, os seus níveis de reservas energéticas. O pico de atividade não orientada expresso pelos triatomíneos durante as primeiras horas da escotofase tem sido relacionado com a saída do abrigo e busca pelo hospedeiro (LAZZARI 2021). Entretanto, os resultados do presente estudo indicaram que os níveis de atividade expressos pelos insetos no actômetro não influenciaram a sua saída do abrigo em nenhum dos períodos avaliados. Entretanto, nos ensaios desenvolvidos durante a fotofase, os insetos que estavam fora do abrigo concentraram cerca de 25% dos seus movimentos no actômetro durante a fotofase, contra cerca de 15% daqueles que estavam dentro do abrigo. Apesar de não significativo, esse aumento de atividade diurna poderia sugerir algum



tipo de predisposição para uma maior tolerância a ambientes iluminados. Os resultados também mostraram que insetos maiores e com maiores quantidades de trealose na hemolinfa foram aqueles que mais se movimentaram no actômetro. Entretanto, essa relação somente apareceu nos ensaios que foram realizados durante a escotofase. Diferenças entre os ensaios, que incluem a quantificação das amostras em horários diferentes (no início da fotofase para os ensaios desenvolvidos durante a noite e no final da fotofase para os ensaios desenvolvidos durante o dia) poderiam explicar as diferenças observadas nesses resultados. Ensaios analisando se a quantidade de glicose presente na hemolinfa varia ao longo do dia são necessários para confirmar essa ideia. Além disso, vale ressaltar que os ensaios tiveram um intervalo de 7-8 dias entre o registro da atividade locomotora não orientada e a quantificação da glicose. Mesmo assim, podemos sugerir que os níveis de trealose circulante estejam influenciando nos níveis de atividade expressos, já que a locomoção que utiliza trealose como uma das fontes de energia para os músculos, pode aumentar os gastos energéticos de *R. prolixus* em quase duas vezes em comparação com os gastos em repouso (SHUKLA et al., 2015; LEIS e LAZZARI, 2021). Esses resultados diferem dos achados por Settembrini (1984), que observou uma correlação negativa entre o índice de peso e atividade em *T. infestans*. Interessantemente, na ausência de pistas de hospedeiro, um aumento do jejum de 7 para 42 dias em *T. infestans*, elevou tanto as taxas de saída do abrigo quanto sua atividade na área livre da arena (LORENZO e LAZZARI, 1998). Essas diferenças reforçam a ideia de que as espécies de triatomíneos exibem diferentes padrões de exploração de abrigos.

A quantificação das reservas nutricionais nos ensaios desenvolvidos durante a escotofase não mostrou diferenças entre insetos encontrado dentro ou fora do abrigo. Já os ensaios realizados durante a fotofase mostraram que os insetos maiores e com mais reservas de triglicerídeos foram aqueles que decidiram sair do abrigo. Isso sugere que, em *R. prolixus*, não haja uma pressão de déficit nutricional para a saída do abrigo. De fato, Ferreira, Guarneri e Lorenzo (2019) não observaram um aumento no número de saídas do abrigo de ninfas de *R. prolixus* quando o jejum aumentou de 30 para 60 dias. Uma vez que os triatomíneos podem passar por longos períodos de jejum, é possível sugerir que insetos com baixas condições energéticas se engajem menos no forrageamento, ou necessitem de sinais adicionais para dispararem a saída do abrigo, como por exemplo, o retorno de indivíduos alimentados, como sugerem alguns ensaios preliminares ainda não publicados. Entretanto, é importante relembrar que os insetos utilizados na quantificação desse experimento foram aqueles que estavam dentro ou fora do abrigo no final dos ensaios. Dessa forma, é possível que alguns insetos que decidiram

sair, mas não se alimentar, e voltaram para o abrigo, tenham sido contabilizados como indivíduos que não saíram, o que, como já mencionado, gera um viés nos resultados. Assim, para confirmar esses resultados, serão realizados novos experimentos onde os insetos serão capturados assim que saiam do abrigo, evitando a possibilidade de retorno.

## 6 CONCLUSÕES

Nossos resultados mostraram que a atividade locomotora não orientada de *R. prolixus* é modulada por diferentes fatores que incluem o estágio evolutivo, o sexo e a condição nutricional dos indivíduos. Aparentemente, os níveis de atividade locomotora não orientada não influenciam na decisão do inseto em iniciar o forrageamento. Os resultados também sugerem que o principal fator que modula a saída dos abrigos de ninfas de *R. prolixus* em jejum é a presença do hospedeiro uma vez que os insetos que saem do abrigo o fazem independentemente do período do dia, do sexo, e dos níveis de atividade não orientada. Finalmente, a quantificação de reservas energéticas na hemolinfa e no corpo gorduroso sugere que indivíduos com mais trealose circulante são os que expressam maiores níveis de atividade não orientada e aqueles com mais reserva de gordura são os mais propensos a iniciar o forrageamento.

## REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH; Fernando; GURGEL-GONÇALVES Rodrigo. The ecology and natural history of wild Triatominae in the Americas. In **Triatominae-The Biology of Chagas Disease Vectors**. Springer, p. 387-445, 2021.
- ABRAHAN, Luciana Beatriz; ELADIO, David Gorla, CATALÁ; Silvia Susana. Dispersal of *Triatoma infestans* and other Triatominae species in the arid Chaco of Argentina: flying, walking or passive carriage? The importance of walking females. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 232-239, 2011.
- ALEVI, Kaio Cesar Chaboli et al. Trends in taxonomy of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): from Linnaean to integrative taxonomy. **Pathogens**, v. 10, n. 12, p. 1627, 2021.
- ANTONIO-CAMPOS, Alberto et al. Presence of *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae) in Oaxaca, Mexico, ten years after the certification of its elimination. **Journal of Vector Ecology**, v. 44, n. 2, p. 293-295, 2019.
- ARRESE, Estela Laura; SOULAGES, Jose Luis. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. **Annual review of entomology**, v. 55, p. 207, 2010.
- ATELLA, Geórgia Correa; GONDIM, Kátia Calp; MASUDA, Hatisaburo. Loading of lipophorin particles with phospholipids at the midgut of *Rhodnius prolixus*. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 30, n. 4, p. 337-350, 1995.
- BARROZO, Romina B; LAZZARI, Claudio Ricardo. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. **Chemical senses**, v. 29, n. 4, p. 319-329, 2004.
- BASKURT, Oguz K.; MEISELMAN, Herbert J. Blood rheology and hemodynamics. In: **Seminars in thrombosis and hemostasis**. Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.:+ 1 (212) 584-4662, 2003. p. 435-450.
- BODIN, Aurélie; VINAUGER, Clément; LAZZARI, Claudio Ricardo. Behavioural and physiological state dependency of host seeking in the blood-sucking insect *Rhodnius prolixus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, n. 15, p. 2386-2393, 2009.
- CANDY, D. J.; KILBY, B. A. The biosynthesis of trehalose in the locust fat body. **Biochemical Journal**, v. 78, n. 3, p. 531, 1961.
- CASTILLO-NEYRA Ricardo et al. Host-seeking behavior and dispersal of *Triatoma infestans*, a vector of Chagas disease, under semi-field conditions. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 1, p. 3433, 2015.
- CHAPMAN, Reginald Frederick. **The insects: structure and function**. Cambridge university press, 1998.

CHARDONNET, Floriane et al. Food searching behaviour of a Lepidoptera pest species is modulated by the foraging gene polymorphism. **Journal of Experimental Biology**, v. 217, n. 19, p. 3465-3473, 2014.

CHORILLI, Marlus; MICHELIN, Daniel C.; SALGADO, Hérica Regina Nunes. **Animais de laboratório: o camundongo**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v., 28, n. 1, 2007.

COELHO Heloisa S. et al. Lipophorin density variation during oogenesis in *Rhodnius prolixus*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 35, n. 3, p. 301-313, 1997.

COURA, José Rodrigues. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions-A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 2014; 110, 277-282.

DAVIES, C.R. Interrupted feeding of blood-sucking insects: causes and effects. **Parasitology Today**, v. 6, n. 1, p. 19-22, 1990.

DI IORIO, Osvaldo; GÜRTLER, Ricardo E. Seasonality and temperature-dependent flight dispersal of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) and other vectors of Chagas disease in western Argentina. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 5, p. 1285-1292, 2017.

EDMAN, J. D. WEBBER L.A., KALE H.W. Effect of mosquito density on the interrelationship of host behavior and mosquito feeding success. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 21, n. 4, p. 487-91, 1972.

ELLIOT, Simon L.; RODRIGUES, Juliana de Oliveira; LORENZO, Marcelo Gustavo, MARTINS-Filho Olindo A.; GUARNERI, Alessandra Aparecida. Trypanosoma cruzi, etiological agent of Chagas disease, is virulent to its triatomine vector *Rhodnius prolixus* in a temperature-dependent manner. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 3, p. e0003646, 2015.

FALVO, Marianel L.; LORENZO FIGUEIRAS, Alicia N.; MANRIQUE, Gabriel. Spatio-temporal analysis of the role of faecal depositions in aggregation behaviour of the triatomine *Rhodnius prolixus*. **Physiological Entomology**, v. 41, n. 1, p. 24-30, 2016.

FELLETT, Maria Raquel et al. Aparecida. Effects of infection by *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* on the reproductive performance of the vector *Rhodnius prolixus*. **PloS one**, v. 9, n. 8, p. e105255, 2014.

FERREIRA, Luciana Lima et al. A standardizable protocol for infection of *Rhodnius prolixus* with *Trypanosoma rangeli*, which mimics natural infections and reveals physiological effects of infection upon the insect. **Journal of invertebrate pathology**, v. 105, n. 1, p. 91-97, 2010.

FERREIRA, Raquel Aparecida; GUARNERI, Alessandra Aparecida; LORENZO, Marcelo Gustavo. Activity and shelter-related behavior in *Rhodnius prolixus*: The role of host odours. **Acta tropica**, v. 196, p. 150-154, 2019.

FERREIRA, Raquel Aparecida; LORENZO, Marcelo Gustavo; LAZZARI, Claudio Ricardo. Triggering the proboscis extension reflex (PER) in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 132, p. 104249, 2021.

FIGUEIRAS, A.N. Lorenzo; KENIGSTEN, A.; LAZZARI, Claudio Ricardo. Aggregation in the haematophagous bug *Triatoma infestans*: chemical signals and temporal pattern. **Journal of Insect Physiology**, v. 40, n. 4, p. 311-316, 1994.

FIGUEIRAS, Alicia Nieves Lorenzo; LAZZARI, Claudio Ricardo. Temporal change of the aggregation response in *Triatoma infestans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 889-892, 2000.

FRIEND, W. G.; SMITH, J. J. B. Feeding in *Rhodnius prolixus*: mouthpart activity and salivation, and their correlation with changes of electrical resistance. **Journal of insect Physiology**, v. 17, n. 2, p. 233-243, 1971.

GALVÃO, Cleber. Vetores da doença de Chagas no Brasil. 2014.

GIL-SANTANA, H.R. et al. *Panstrongylus noireaudi*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. 2022.

GUERENSTEIN, Pablo G.; LAZZARI, Claudio R. Host-seeking: how triatomines acquire and make use of information to find blood. **Acta tropica**, v. 110, n. 2-3, p. 148-158, 2009.

HASHIMOTO, Ken; SCHOFIELD, Christopher J. Elimination of *Rhodnius prolixus* in central America. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2012.

HU, J.S. et al. Mechanisms of TiO<sub>2</sub> NPs-induced phoxim metabolism in silkworm (*Bombyx mori*) fat body. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 129, p. 89-94, 2016.

LAVOPIERRE, M. M. J. Feeding mechanism of blood-sucking arthropods. **Nature**, v. 208, n. 5007, p. 302-303, 1965.

LAVOPIERRE, M. M. J.; DICKERSON, G.; GORDON, R. M. Studies on the Methods of Feeding of Blood-sucking Arthropods: I—The Manner in Which Triatomine Bugs Obtain Their Blood-Meal, as Observed in the Tissues of the Living Rodent, with Some Remarks on the Effects of the Bite on Human Volunteers. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 53, n. 2, p. 235-250, 1959.

LAZZARI, Claudio Ricardo. Circadian organization of locomotion activity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. **Journal of insect physiology**, v. 38, n. 11, p. 895-903, 1992.

LAZZARI, Claudio Ricardo. Orientation towards hosts in haematophagous insects: an integrative perspective. **Advances in insect physiology**, v. 37, p. 1-58, 2009.

LAZZARI, Claudio Ricardo. The behaviour of kissing Bugs. **Triatominae-The Biology of Chagas Disease Vectors**, p. 215-238, 2021.

LAZZARI, Claudio Ricardo; NÚÑEZ, Josué Antonio. The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. **Journal of Insect Physiology**, v. 35, n. 6, p. 525-529, 1989.

LAZZARI, Claudio Ricardo; PEREIRA, Marcos Horácio; LORENZO, Marcelo Gustavo. Behavioural biology of Chagas disease vectors. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 34-47, 2013.

LEHANE, Mike J. **The biology of blood-sucking in insects**. Cambridge University Press, 2005.

LEHANE, M. J.; SCHOFIELD, C. J. Flight initiation in *Triatoma infestans* (Klug)(hemiptera: reduviidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, n. 3, p. 497-510, 1982.

LEHANE, M. J.; SCHOFIELD, C. J. **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, n. 3, p. 497-510, 1982.

LEIS, Miguel; LAZZARI, Claudio Ricardo. Blood as fuel: the metabolic cost of pedestrian locomotion in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Experimental Biology**, v. 224, n. 1, p. jeb227264, 2021.

LENT, Herman; WYGODZINSKY, Pedro. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of the American museum of Natural History**, v. 163, n. 3, p. 123-520, 1979.

LORENZO FIGUEIRAS, Alicia N.; LAZZARI, Claudio R. Aggregation behaviour and interspecific responses in three species of Triatominae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 133-137, 1998.

LOPEZ, Pablo Martins et al. Circadian system responses to nocturnal and diurnal hosts in the kissing bug, *Triatoma infestans*. **Chronobiology International**, v. 35, n. 10, p. 1402-1412, 2018.

LORENZO, Marcelo Gustavo; LAZZARI, Claudio Ricardo. The spatial pattern of defaecation in *Triatoma infestans* and the role of faeces as a chemical mark of the refuge. **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 9, p. 903-907, 1996.

LORENZO, Marcelo Gustavo; LAZZARI, Claudio Ricardo. Activity pattern in relation to refuge exploitation and feeding in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Acta tropica**, v. 70, n. 2, p. 163-170, 1998.

LORENZO, Marcelo Gustavo; LAZZARI, Claudio Ricardo. Temperature and relative humidity affect the selection of shelters by *Triatoma infestans*, vector of Chagas disease. **Acta tropica**, v. 72, n. 3, p. 241-249, 1999.

LU, Kai et al. Adipokinetic hormone receptor mediates trehalose homeostasis to promote vitellogenin uptake by oocytes in *Nilaparvata lugens*. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 1904, 2019.

MANFRUELLI, Pascal et al. A mosaic analysis in *Drosophila* fat body cells of the control of

antimicrobial peptide genes by the Rel proteins Dorsal and DIF. **The EMBO journal**, v. 18, n. 12, p. 3380-3391, 1999.

MANRIQUE, Gabriel et al. Chemical communication in Chagas disease vectors. Source, identity, and potential function of volatiles released by the metasternal and Brindley's glands of *Triatoma infestans* adults. **Journal of chemical ecology**, v. 32, n. 9, p. 2035-2052, 2006.

MARLIÉRE, Newmar Pinto et al. Trypanosomes modify the behavior of their insect hosts: effects on locomotion and on the expression of a related gene. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 8, p. e0003973, 2015.

MARLIÉRE, Newmar Pinto, LORENZO, Marcelo Gustavo; GUARNERI, Alessandra Aparecida. *Trypanosoma cruzi*-infected *Rhodnius prolixus* endure increased predation facilitating parasite transmission to mammal hosts. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 7, p. e0009570, 2021.

MARLIÉRE, Newmar Pinto, LORENZO, Marcelo Gustavo; GUARNERI, Alessandra Aparecida. *Trypanosoma rangeli* infection increases the exposure and predation endured by *Rhodnius prolixus*. **Parasitology**, v. 149, n. 2, p. 155-160, 2022.

MARLIÉRE, Newmar Pinto et al. **Co-existing locomotory activity and gene expression profiles in a kissing-bug vector of Chagas disease**. *Journal of Insect Physiology*. 2020:104021.

MARLIÉRE, Newmar Pinto et al. Co-existing locomotory activity and gene expression profiles in a kissing-bug vector of Chagas disease. **Journal of insect physiology**, v. 122, p. 104021, 2020.

MAY-CONCHA, I. et al. Volatile compounds emitted by *Triatoma dimidiata*, a vector of Chagas disease: chemical analysis and behavioural evaluation. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n. 2, p. 165-174, 2013.

MCEWEN, P. K.; LEHANE, M. J. Factors influencing flight initiation in the triatomine bug *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 14, n. 4, p. 461-464, 1993.

MOSQUERA, Katherine Duran; LORENZO, Marcelo Gustavo. Species-specific patterns of shelter exploitation in Chagas disease vectors of the genus *Rhodnius*. **Acta tropica**, v. 205, p. 105433, 2020a.

MOSQUERA, Katherine Duran; LORENZO, Marcelo Gustavo. Triatomines of the genus *Rhodnius* do not mark shelters with feces. **Journal of chemical ecology**, v. 46, n. 9, p. 865-870, 2020b.

MOTA, Theo; LORENZO, Marcelo Gustavo. Lack of segregation between two species of Chagas disease vectors. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 87, n. 1, p. 109, 2012.

NOIREAU, François; DUJARDIN, Jean-Pierre. Biology of triatominae. In: **American trypanosomiasis**. Elsevier, 2010. p. 149-168.

NÚÑEZ, Josué A. Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, n. 2, p. 253-262, 1982.

OLIVEIRA, Pedro L.; GENTA, Fernando Abad. Blood digestion in triatomine insects. In: **Triatominae-The Biology of Chagas Disease Vectors**. Springer, Cham, 2021. p. 265-284.

PAHO, Pan American Health Organization. Neglected infectious diseases in the Americas: success stories and innovation to reach the neediest. General Publications [online] Dec 2016 [capturado 11 Fevereiro 2020]. Disponível em: <http://www.paho.org/neglected-infectious-diseases-stories>.

PINHEIRO, Eloan et al. Chagas disease: review of needs, neglect, and obstacles to treatment access in Latin America. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, p. 296-300, 2017.

PIPKIN SR, Alan C. Domiciliary reduviid bugs and the epidemiology of Chagas' disease in Panama (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Journal of Medical Entomology**, v. 5, n. 1, p. 107-124, 1968.

PONTES, Gina Barcelos et al. Metasternal gland volatiles and sexual communication in the triatomine bug, *Rhodnius prolixus*. **Journal of chemical ecology**, v. 34, n. 4, p. 450-457, 2008.

PONTES, Gina Barcelos et al. Female odours promote the activation of sheltered kissing bug *Rhodnius prolixus* males and modulate their orientation. **Medical and veterinary entomology**, v. 28, n. 3, p. 257-263, 2014.

RABINOVICH, Jorge Eduardo et al. Probability of *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, 2001.

RIBEIRO, José M.C.; FRANCISCHETTI, Ivo M.B. Role of arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. **Annual review of entomology**, v. 48, p. 73, 2003.

ROCA, Marcelo J.; LAZZARI, Claudio R. Effects of relative humidity on the haematophagous bug *Triatoma infestans*: hygropreference and eclosion success. **Journal of Insect Physiology**, v. 40, n. 10, p. 901-907, 1994.

ROJAS CORTÉZ, Mirko G.; GONÇALVES, Teresa Cristina M. Resistance to starvation of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) under laboratory conditions (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 549-554, 1998.

ROQUE, André Luiz et al. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. 2008.

SARAIVA, Felipe B. et al. Blood meal drives de novo lipogenesis in the fat body of *Rhodnius prolixus*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 133, p. 103511, 2021.

SCHOFIELD, Christopher Joseph. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. **Bulletin of Entomological Research**, v. 69, n. 3, p. 363-379, 1979.



SCHOFIELD, Christopher Joseph; GRIJALVA, Mario J.; DIOTAIUTI, Liléia. Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas en países "no endémicos": la posibilidad de transmisión vectorial fuera de América Latina. **Rev Argent Zoonosis Enferm Infecc Emerg**, v. 11, n. Suppl 1, p. 20-27, 2009.

SCHOFIELD, Christopher Joseph; GALVÃO, Cleber. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. **Acta tropica**, v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009.

SCHOFIELD, C. J.; WILLIAMS, N. G.; MARSHALL, TF de C. Density-dependent perception of triatomine bug bites. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 80, n. 3, p. 351-358, 1986.

SETTEMBRINI, Beatriz P. Circadian rhythms of locomotor activity in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of medical entomology**, v. 21, n. 2, p. 204-212, 1984.

SHUKLA, Ekta et al. Insect trehalase: physiological significance and potential applications. **Glycobiology**, v. 25, n. 4, p. 357-367, 2015.

SILVA-OLIVEIRA, Gleidson et al. Insulin receptor deficiency reduces lipid synthesis and reproductive function in the insect *Rhodnius prolixus*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1866, n. 2, p. 158851, 2021.

SOKOLOWSKI, Marla B. Drosophila: genetics meets behaviour. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 2, p. 879-890, 2001.

TEJERA, Enrique. Un nouveau flagellé de *Rhodnius prolixus*, *Trypanosoma* (ou Crithidia) *rangeli* n. sp. **Le Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 13, p. 527-530, 1920.

VALLEJO, Gustavo Vallejo et al. *Trypanosoma cruzi* population variability in Colombia: possible co-evolution in different vector species. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. Suppl 2, p. 27-34, 2009.

VITTA Ana C. et al. Behavioral and electrophysiological responses of *Triatoma brasiliensis* males to volatiles produced in the metasternal glands of females. **Journal of chemical ecology**, v. 35, n. 10, p. 1212-1221, 2009.

WAAGE, J. K.; NONDO, J. Host behaviour and mosquito feeding success: an experimental study. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 1, p. 119-122, 1982.

WALKER, P.A. The structure of the fat body in normal and starved cockroaches as seen with the electron microscope. **Journal of Insect Physiology**, v. 11, n. 12, p. 1625-1631, 1965.

WARD, J.P. A comparison of the behavioural responses of the haematophagous bug, *Triatoma infestans*, to synthetic homologues of two naturally occurring chemicals (n-and iso-butyric acid). **Physiological Entomology**, v. 6, n. 3, p. 325-329, 1981.

WHO, World Health Organization 2020. Chagas disease (American trypanosomiasis) [online] Fevereiro 2020 [capturado 11 Fevereiro 2020]. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).

WIGGLESWORTH, Vicent Brian; GILLETT, J.D. The function of the antennae in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and the mechanism of orientation to the host. **Journal of Experimental Biology**, v. 11, n. 2, p. 120-139, 1934.

ZACHARIAS, Claudia A. et al. Flight initiation by male *Rhodnius prolixus* is promoted by female odors. **Journal of chemical ecology**, v. 36, n. 4, p. 449-451, 2010.

ZANDAWALA, Meet et al. Adipokinetic hormone signalling system in the Chagas disease vector, *Rhodnius prolixus*. **Insect molecular biology**, v. 24, n.2, p. 264-276, 2014.

ZELEDÓN, Rodrigo; RABINOVICH, Jorge Eduardo. Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. **Annual review of entomology**, v. 26, n. 1, p. 101-133, 1981.

ZIEGLER, Rolf; VAN, Antwerpen Rik. Lipid uptake by insect oocytes. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 36, n. 4, p. 264-272, 2006.

ZHOU, Yi Jun; FUKUMURA, Keisuke; NAGATA, Shinji. Effects of adipokinetic hormone and its related peptide on maintaining hemolymph carbohydrate and lipid levels in the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 82, n. 2, p. 274-284, 2018.