

TÉCNICA PARA A OBSERVAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO
TRIATOMA INFESTANS (KLUG, 1834) EM UMA MINIATURA
DE CASA DE PAU-A-PIQUE E SAPE

JOSÉ ROBERTO MAC CORD
PEDRO JURBERG
JORGE S. RAYMUNDO

Com o objetivo de observar e registrar o comportamento do Triatoma infestans quanto a movimentos, posturas e estados fisiológicos, como preconizam os etólogos, foi construída uma réplica de uma casa de pau-a-pique e sapê com uma proteção externa de acrílico transparente.

Para o registro das atividades empregou-se a cinematografia com lapso de tempo, através de uma filmadora super-8 sincronizada a um flash eletrônico e programada para disparos simultâneos de 1 fotograma a cada 30 segundos. A análise dos dados foi feita com um projetor super-8 e um editor, que permitiu observar cada fotograma.

Com um período de registros durante 6 dias ininterruptos, os resultados permitiram concluir que: a) na ausência de estímulo alimentar, não ocorre atividade locomotora no T. infestans, independente de ser dia ou noite, mesmo com o inseto privado de alimento; b) em presença do estímulo alimentar a atividade locomotora ocorre durante as 24 horas do dia, embora em proporção significativamente maior no período de obscuridade.

Os estudos sobre os triatomíneos têm trazido dados importantes para o levantamento do seu repertório comportamental, como mostra especificamente o trabalho de revisão de Schofield (1979), ou mesmo quando esses estudos são realizados com outro propósito, como a revisão de sistemática feita por Lent & Wygodzinsky (1979).

O estudo do comportamento é realizado sob diferentes aspectos, ora de modo geral (Rodrigues & Ceruzzi-Romeo, 1965), ora em detalhes específicos, tais como o processo de alimentação (Rickman, 1952), a atividade locomotora, a preferência por substrato, o ritmo circadiano (Wiesinger, 1956; Espínola, 1973). No entanto esses trabalhos, por suas técnicas de observação e registro, não possibilitaram uma análise do comportamento em termos de movimentos, posturas e estados fisiológicos como preconiza Cunha (1975), mas tão-somente os resultados finais e ainda tem-se que considerar que aqueles autores utilizaram equipamentos em que as condições de operacionalidade eram, além de restritivas, bastante artificiais.

Para que se pudesse estudar a locomoção e a postura desses insetos, permitindo-se o registro de suas atividades, construiu-se uma réplica reduzida de uma casa de pau-a-pique e sapê, protegida do meio externo por placas de acrílico transparente, tendo uma máquina de cinematografia acoplada ao conjunto.

Para se testar a eficácia do conjunto proposto, idealizou-se um experimento em relação ao estímulo alimentar (pombo) e ao ritmo circadiano, em que a resposta comportamental seria o deslocamento dos triatomíneos em direção ao estímulo de atração durante os períodos claro-escuro. Utilizou-se o Teste dos Sinais (não paramétrico) para a verificação significativa das respostas em relação aos estímulos propostos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Sujeitos*

Foram utilizados 24 exemplares de *Triatoma infestans* provenientes do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz, formando um grupo de 6 machos e 6 fêmeas adultos, 6 ninfas de 5^o estágio e 6 ninfas de 4^o estágio, mantidos em cristalizador e alimentados somente no dia em que foram colocados na miniatura da casa de pau-a-pique e sapê.

2. *Condições Ambientais*

A temperatura no interior da sala manteve-se constante (27°C) através de um aparelho de ar condicionado ligado a um programador de tempo (Cronomat) com acionamento em horários predeterminados. A umidade relativa do ar permaneceu entre 80-85% e a iluminação foi natural, com a luz do dia penetrando através de uma grande janela (180 x 160 cm) para o interior do laboratório, sem contudo incidir diretamente sobre o modelo.

3. *Equipamentos*

3.1. *Réplica Reduzida da Casa de Pau-a-Pique e Sapê*

Construída com barro comum de boa liga, de maneira a produzir, quando completamente seco, frestas com largura suficiente para a entrada de barbeiros (Fig. 1). Como ripas foram usados sarrafos de 1 x 1 cm, cruzados de maneira a fornecer quadriculados (ba) de 12 x 10 cm, aproximadamente. A casa contém três paredes, faltando a parede frontal, do mesmo modo o teto de sapê (t), que tem apenas a parte traseira. Isto possibilita melhor visão do interior da casa, para efeito de observação e filmagem das atividades dos triatomíneos. As paredes foram construídas com 68,5 cm de comprimento, 39,5 cm de largura e 32 cm de altura. Considerando as dimensões do teto, o espaço total ocupado pela casa fica em 78 x 55 x 61 cm.

A réplica da casa está presa a uma base de madeira compensada (b) de 100 x 80 x 1 cm, na qual foram pintados, com tinta branca fosca, quadriculados de 5 x 5 cm, para permitir a observação do nível de locomoção dos insetos. A fixação na base é feita através de parafusos, o que torna possível sua ocasional retirada para contagem de barbeiros, substituição por outro modelo com características diferentes ou outro qualquer propósito.

Sistema Alimentador

No interior da casa, simetricamente disposto, está o sistema alimentador feito de tela de nylon de 1 mm, num vão de 20 x 15 cm (al). Essa tela é passível de troca por baixo da base de madeira, para uma eventual necessidade. O sistema alimentador é completado com a plataforma de elevação do pombo (p). Ali, o pombo é preso pelas asas e pelos pés, por correias, de modo a ficar com o flanco para cima. Caso haja necessidade de ali-

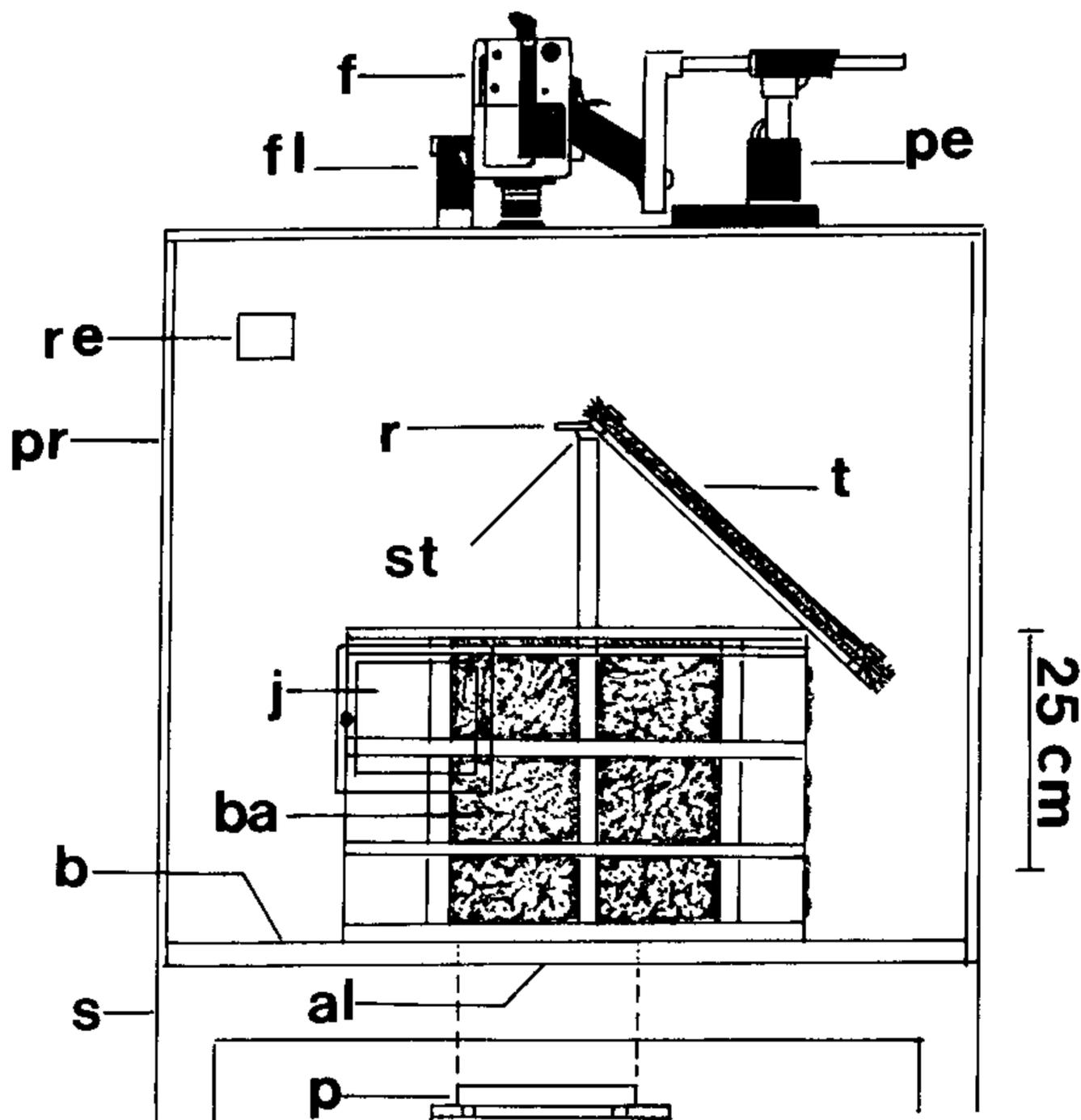


Fig. 1 – Representação esquemática do conjunto casa de pau-a-pique e sapê-filmadora (Vista lateral) – f. filmadora; fl. flash eletrônico; pe. pedestal; re. respirador; pr. proteção externa; b. base de sustentação da casa; r. relógio; st. base de sustentação do teto da casa; t. teto de sapê; j. janela; ba. quadriculados de barro; al. sistema alimentador; p. plataforma que prende o pombo; s. suporte do conjunto.

mentação, o conjunto é então elevado e pressionado contra a tela de nylon, através de parafusos com porcas do tipo “borboleta”, que ajustam a pressão. Assim o flanco e a coxa do pombo, previamente depenados, oferecem boa área para a alimentação dos barbeiros, que estão no chão da casa, através da tela. Não havendo a necessidade da alimentação, mas a permanência do estímulo o pombo não é pressionado contra a tela de nylon, ficando dessa maneira um espaço que impede os barbeiros de o tocarem, apesar de estarem em sua proximidade.

Proteção Externa

Com as dimensões de 100 x 80 x 70 cm, a proteção externa (pr) é feita de chapas de acrílico transparente de 1 cm de espessura que são presas entre si e na base por meio de parafusos, tornando assim o conjunto desmontável. Contém respiradouros (re) de 5 x 5 cm, feitos em tela de nylon de 1 mm, para renovação de ar, situando-se um em cada chapa lateral e dois na chapa traseira. As partes laterais, frontal e de fundos do envoltório contêm ainda uma janela (j) de 15 x 15 cm cada, também de acrílico, para permitir o manuseio interno da casa.

Suporte do Conjunto

A casa e seu envoltório externo repousam num suporte de madeira (s) com as dimensões de 100 x 80 x 80 cm. A altura de 80 cm é adequada para uma perfeita visualização dos insetos no interior do conjunto e operação dos equipamentos de registros.

O espaço existente por entre os pés do suporte permite fácil manipulação da plataforma do pombo e sistema de alimentação.

3.2. Unidade de Registro Cinematográfico

Consiste numa filmadora (f) super-8, de marca EUMIG-881, com sistema de lapso de tempo fazendo parte de seu próprio mecanismo, o que permite fotocinematografia com intervalos de 1 a 60 segundos. Acoplado à câmara está o flash eletrônico (fl) marca MECABLITZ ligado a esse mecanismo, com intervalos de disparos regulados de acordo com a filmadora. Usa-se como apoio da filmadora, quando colocada sobre a proteção de acrílico transparente, um pedestal (pe) preso à máquina que serve de contra-peso, equilibrando-a perfeitamente e permitindo assim a substituição dos cartuchos das películas sem a necessidade de tirá-la da posição em que está colocada. Para o registro do tempo decorrido de filmagem, coloca-se um relógio de pulso (r) adaptado à base de sustentação do teto (st) da casa, ficando assim incluído no campo de visão da filmadora (Fig. 2) que abrange o chão quadriculado (cq), as paredes laterais internas (pl) da casa e o sistema alimentador (al). Para orientar a seqüência da filmagem durante a projeção, são colocadas no mesmo suporte (st) em que está o relógio, pequenas tiras de papel (tp) onde pode-se anotar a data, o número da sessão, o período e a hora do início da filmagem.

Os sujeitos experimentais (ninfas e adultos) foram colocados na casa após o repasto e deixados durante dez dias, após o que iniciaram-se as filmagens que duraram seis dias ininterruptos. Estes seis dias foram divididos em três fases:

FASE – A – 1^o e 2^o dias antes da colocação do estímulo (pombo) correspondendo à linha de base.

FASE – B – 3^o e 4^o dias com o estímulo (pombo).

FASE – C – 5^o e 6^o dias sem o estímulo.

O estímulo utilizado foi um pombo vivo, que através de um artifício (distância de 2 cm da tela) não permitiu que os triatomíneos se alimentassem, ficando todos em privação alimentar durante todo o experimento.

3.3. Registros Cinematográficos

Através da filmadora colocada em cima da casa, sobre a proteção de acrílico e voltada para baixo, em posição capaz de captar a imagem simultânea das paredes laterais internas e o sistema alimentador, regula-se na marcação P.M.A., focalização infinito, distância da objetiva ao solo da casa em 70 cm, distância do flash ao solo da casa, também 70 cm e com o processo do lapso de tempo, regulado para disparos simultâneos com o flash a cada 30 segundos.

3.4. Análise dos Registros

Foi feita com a utilização de um projetor super-8, marca ELMO VPA, que permite a paralisação da imagem em um único fotograma, o retrocesso e o reinício de uma seqüência ou de todo o filme, quantas vezes forem necessárias. Para um exame mais detalhado dos fotogramas, como a contagem dos barbeiros, recorreu-se a um editor comum para filme super-8, marca HANIMEX E 300, que permite uma melhor visão da seqüência e do fenômeno ocorrido, pois nesse caso, a análise pode ser feita quadro a quadro. Através desse aparelho, a cada 30 minutos marcado no relógio visível na própria película, para-se o fotograma e os indivíduos podem então ser melhor observados e quantificados.

RESULTADOS

FASE A (sem o pombo) (Fig. 3): – O registro cinematográfico iniciou-se às 12h e a atividade locomotora dos insetos, às 21h, quando foi registrada a presença de um único indivíduo. O maior número de triatomíneos (2) surgiu às 4h30, cessando por completo às 5h. No segundo dia, a atividade locomotora iniciou-se às 19h30, quando mostrou o maior número de insetos (4) interrompendo-se às 3h. Às 12h desse mesmo dia encerrou-se a fase A.

FASE B (com o pombo) (Fig. 4): – No primeiro dia, com o pombo colocado às 12h, a atividade locomotora dos barbeiros iniciou-se às 13h, com 2 insetos presentes. A maior concentração ocorreu à 1h30 com um total de 7 insetos e cessou às 7h30 quando não se observou mais qualquer atividade, apesar da permanência do pombo durante todo o experimento. No segundo dia, a atividade locomotora reiniciou-se às 15h com um inseto e a maior concentração deu-se às 2h com 14 insetos presentes, cessando às 6h. O pombo foi retirado às 12h desse mesmo dia.

FASE C (sem o pombo) (Fig. 5): – Não se observou atividade alguma durante dois dias de registro.

De acordo com testes estatísticos, constatou-se que:

1. Não houve diferença significativa entre o 1º e o 2º dias nas várias etapas das fases A (antes da colocação do estímulo), B (na presença do estímulo) e C (após a retirada do estímulo).

2. Não houve diferença significativa entre as fases A e C, quando se comparou as variações do 1º e do 2º dias, porém, quando se comparou a fase B com as fases A e C, houve diferença significativa, tanto para o 1º quanto para o 2º dias.

a. 1º dia – Fase B com Fase A: $P < 0,0001$

– Fase B com Fase C: $P < 0,0001$

b. 2º dia – Fase B com Fase A: $P < 0,001$

– Fase B com Fase C: $P < 0,001$

3. Pelo concluído nos itens 1 e 2, comparou-se:

• Valores mínimos da Fase B com os valores máximos da Fase A, mostrando que não houve diferença significativa: $P > 0,005$.

• Valores mínimos da Fase B com valores máximos da Fase C, mostrando uma diferença significativa de $P < 0,005$.

Porém não se detectou diferença significativa quando comparou-se o máximo da Fase C com o mínimo da Fase A.

DISCUSSÃO

Ao se construir a réplica reduzida da casa de pau-a-pique e sapê para a utilização em laboratório, houve o propósito de diminuir as condições excessivamente artificiais que freqüentemente são impostas aos triatomíneos no estudo do comportamento e também pela impossibilidade da aplicação da técnica de fotocinematografia nas atividades desses insetos em seu habitat natural (silvestre ou domiciliar). Além disso, a técnica aplicada na construção anula os riscos de fuga e diminui consideravelmente a dispendiosa mão-de-obra na elaboração de uma réplica em dimensões reais. O tipo de construção executado proporciona ainda aos barbeiros condições mínimas de sobrevivência e proteção, como a formação de abrigos naturais encontrados nesse tipo de habitação, representados por frestas nas

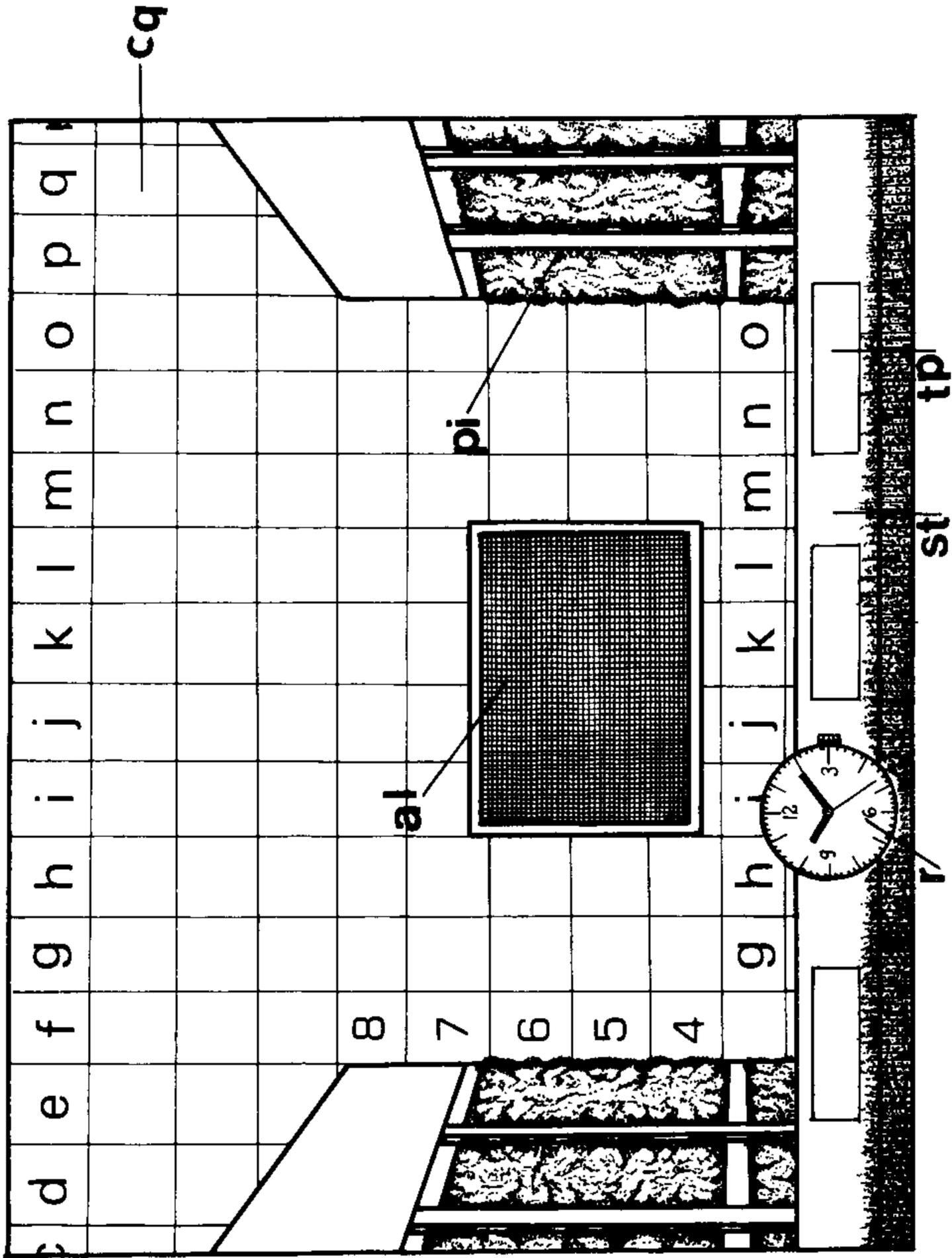


Fig. 2 – Representação esquemática do campo de visão da filmadora – cq. chão quadriculado; al. sistema alimentador; pi. parede lateral interna; r. relógio; st. base de sustentação do teto; tp. tiras de papel para anotações.

paredes de barro, nos portais, nas sustentações de madeira e nos espaços entre a palha que cobre o teto, oferecendo assim diferentes tipos de substratos. Entretanto, admite-se que mesmo assim as condições não são naturais, porém são menos artificiais que as outras técnicas elaboradas até o momento em condições de laboratório.

Para o registro das atividades dos triatomíneos, tem-se recorrido ao actógrafo (Wiesinger, 1956; Espínola, 1973), que apesar de eficiente permite somente a observação

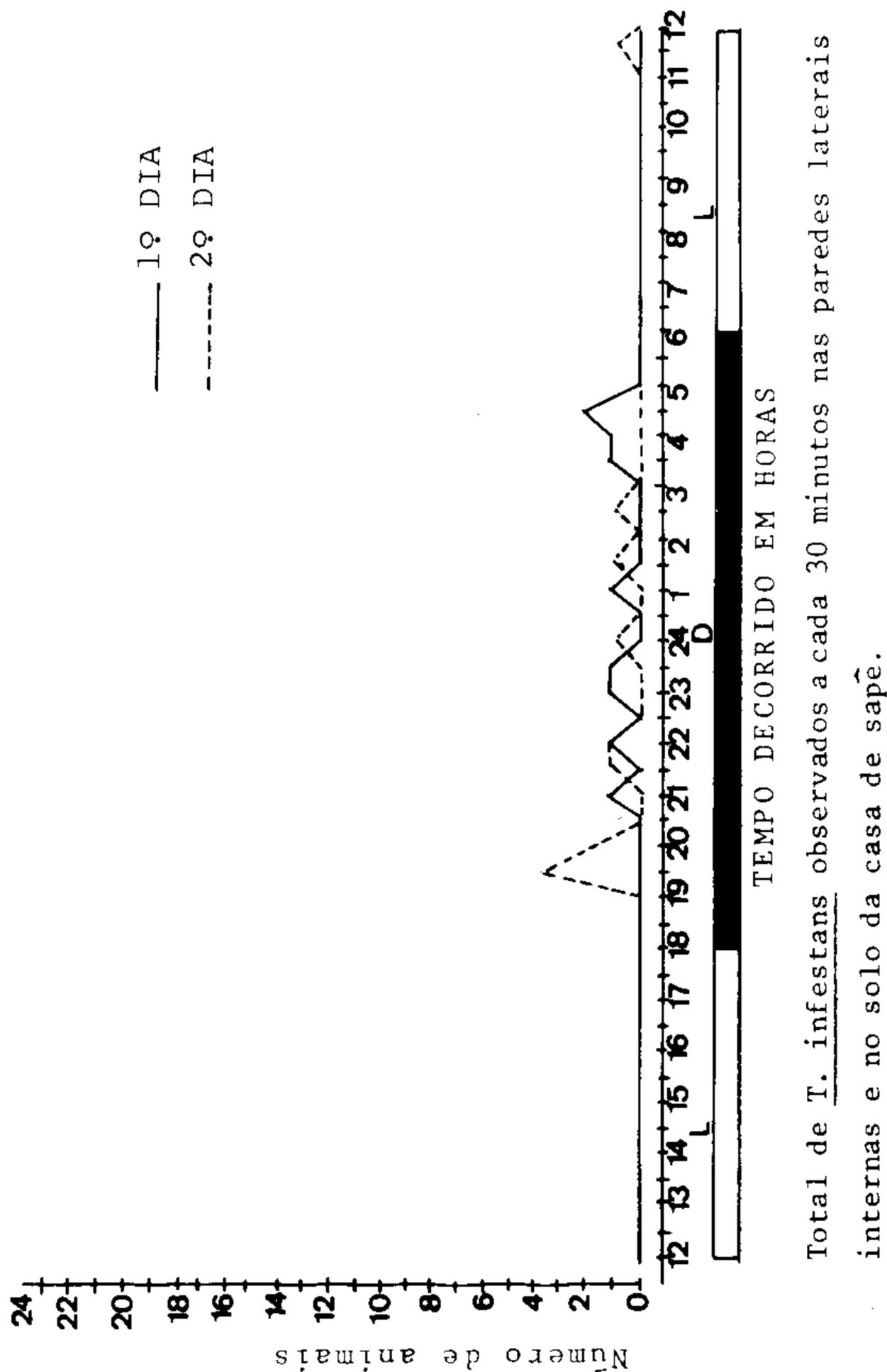


Fig. 3 - FASE A - Triatomíneos (N=24) privados de alimento, antes da colocação do estímulo de atração (pombo).

de um único indivíduo de cada vez, ao contrário da cinematografia com lapso de tempo que permite o registro de vários indivíduos. Edwards (1959) utilizou uma câmara com disparos automáticos e o processo de longa exposição para detectar os movimentos da *Drosophila melanogaster* e pôde registrar a atividade locomotora e a posição desse inseto no interior de uma caixa. Green & Anderson (1961) observando a atividade ambulatória da mosca varejeira, ligaram os circuitos de disparos automáticos de uma câmara foto-

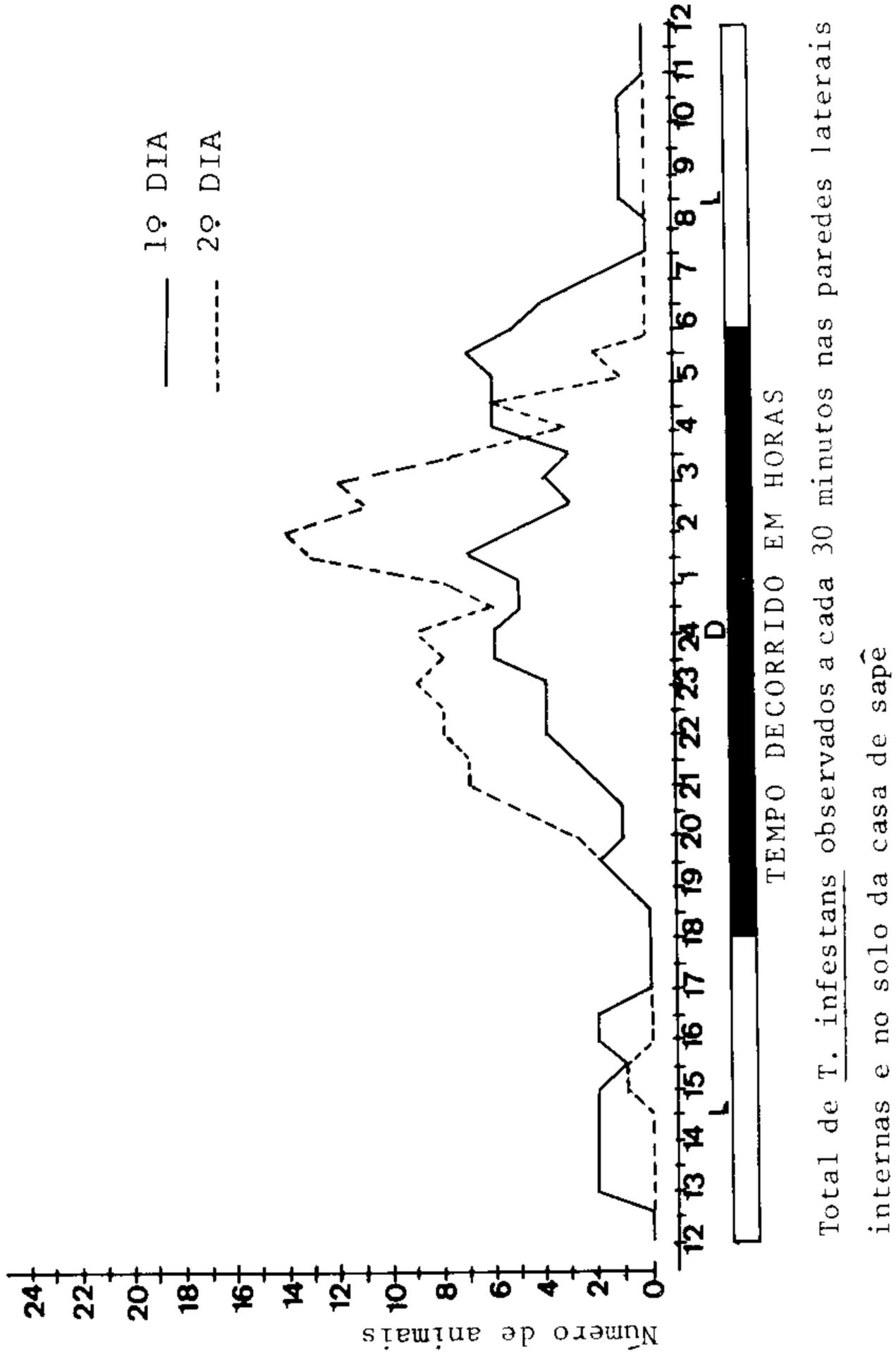


Fig. 4 - FASE B - Triatomíneos (N=24) privados de alimento, em presença do estímulo de atração (pombo).

gráfica a um actógrafo, fazendo com que o movimento registrado por esse aparelho acionasse o equipamento. Schofield (1976) registrando o comportamento do *Triatoma infestans*, utilizou uma filmadora de 16 mm sincronizada a um flash e observou que a luz emitida por esse flash não impressionava a visão do inseto, não interferindo portanto, em suas atividades. No entanto, o lapso de tempo utilizado foi de 5 minutos, com uma evidente perda de registro entre cada fotograma.

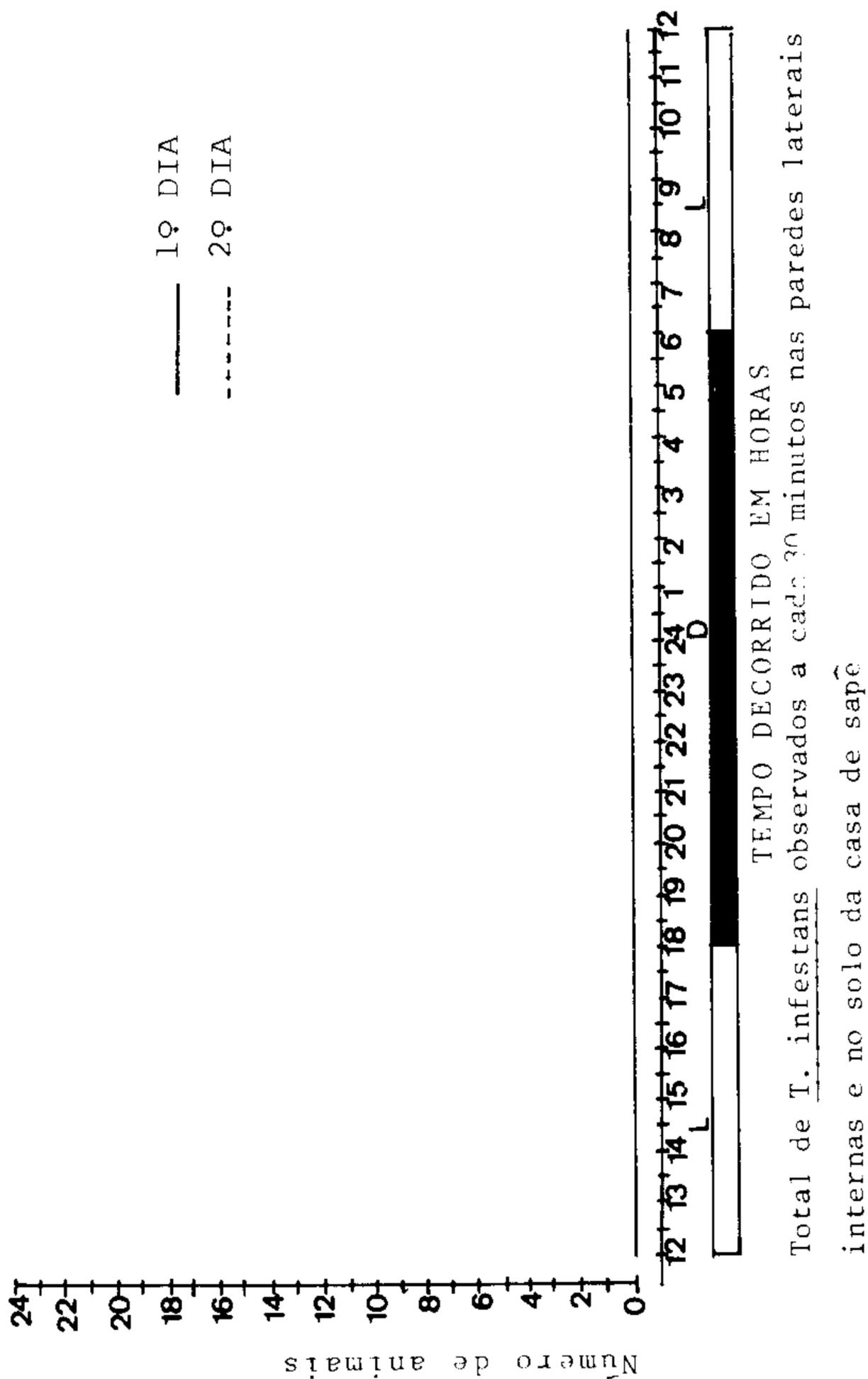


Fig. 5 — FASE C — Triatomíneos (N=24) privados de alimento, após a retirada do estímulo de atração (pombo).

No presente trabalho verificou-se também que o flash eletrônico a intervalos de 30 segundos não interferia no ritmo circadiano dos insetos, visto que as observações diretas sem o flash, feitas pelo observador no interior da sala escura, com iluminação proveniente de luz vermelha (15 watts), mostraram os mesmos padrões comportamentais e na análise da seqüência dos fotogramas não foi evidenciada mudança ou parada brusca de qualquer atividade pelo acionamento do flash.

Na análise dos fotogramas, não foi possível separar as ninfas dos adultos, pelo tamanho, nem os machos das fêmeas, devido à distância mínima da filmadora (70 cm) que não captou distintamente a imagem dos triatomíneos. Por isso os resultados mostram o número total de sujeitos em cada situação apresentada. A fim de evitar esta falta de diferenciação entre os sujeitos experimentais, propõe-se o estudo com grupos homogêneos e separados quanto a sexo e fase de desenvolvimento. Essa impossibilidade de diferenciação entre os exemplares, levou a encarar com reservas as conclusões quanto ao ritmo circadiano. No entanto, os gráficos e os testes estatísticos, considerados como se a amostra fosse homogênea, demonstraram que a atividade noturna só se dá em presença de alimento, cessando na sua ausência. Este resultado, considerando a ressalva acima, está em desacordo com Espínola (1973) e Wiesinger (1956) que utilizando o actógrafo observaram somente a atividade noturna, o que leva a concluir que os registros das atividades feitos por esses autores têm relação com os movimentos dos insetos dentro das frestas, no seu habitat natural e não com deslocamentos para fora dessas frestas como demonstrou a presente técnica.

CONCLUSÕES

Foi possível registrar longas seqüências comportamentais (6 dias ininterruptos) a intervalos de 30 segundos em um modelo onde se podia evidenciar o comportamento de vários exemplares ao mesmo tempo, portanto melhor do que a utilização do actógrafo que permite registrar o comportamento de um único indivíduo.

Os resultados permitem concluir que na ausência do estímulo alimentar (pombo) não ocorre atividade locomotora no *T. infestans*, independente de ser dia ou noite, mesmo com o inseto privado de alimento. E que em presença desse estímulo a atividade locomotora ocorre durante as horas do dia, embora em proporção significativamente maior no período de obscuridade.

SUMMARY

In order to observe and record the behaviour of *Triatoma infestans* in relation to movement, position and physiological state, like the ethologists commend, a mud-walled thatch roofed house within an external transparent acrylic protection was built. To record the bug activity a time-lapse cinematographic technique using a super-8 mm movie camera synchronized to an electronic flash and programmed for simultaneous shots of one photograph every 30 seconds was employed. The analysis of the data was done with a super-8 mm film projector and a movieola editor which allowed the observation of each photograph.

After six days of continuous observation by this method the following statements could be made: a) In the absence of the alimentary stimulus the locomotory activity in *T. infestans* does not occur, being day or night, even if the insect is deprived of its blood-meal, b) In presence of an alimentary stimulus the locomotory activity takes place during 24 hours a day, although in greater significant proportion in the darkness.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Professores Takumi Iguchi da E.N.S.P. pelo auxílio nos testes estatísticos, Otávio S. Pieri do Departamento de Biologia do I.O.C. e José Jurberg, do Departamento de Entomologia do I.O.C., pelas valiosas sugestões apresentadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CUNHA, W.H.A., 1975. O estudo etológico do Comportamento Animal. *Ciênc. e Cult.*, 27(3) :261-268.
- EDWARDS, D.K., 1959. A photographic method for recording activity and behaviour in a group of small animals. *Nature*, 183 :625-626.
- ESPÍNOLA, H.N., 1973. Aspectos do comportamento do *Triatoma infestans* em condições experimentais de laboratório. Tese – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, M.G., Brasil, 206 pp.
- GREEN, G.W. & ANDERSON, D.C., 1961. A simple and inexpensive apparatus for photographing events at pre-set intervals. *Can. Ent.*, 92 (2) :741-745.
- LENT, H. & WYGODZINSKY, P., 1979. Revision of the Triatominae (Reduviidae Hemiptera), and their significance as vector of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 163 :125-520.
- RICKMAN, R.E., 1952. Laboratory culture of Triatominae with observations on behaviour and a new feeding device. *J. Parasitol.*, 38 (3) :210-214.
- RODRIGUEZ, M.E.F. & CERUZI-ROMEIO, O., 1965. Observaciones sobre el comportamiento de *Triatoma infestans* en el laboratorio. *An. Fac. Med. Univ. Montevideo*, 50 :431-433.
- SCHOFIELD, C.J., 1976. Time lapse photographic study of nocturnal behaviour in Triatomine bugs. *Trans. R. Soc. Trop. Hyg.* 70 :12.
- SCHOFIELD, C.J., 1979. The behaviour of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae) a review. *Bull. Ent. Res.*, 69 :363-379.
- WIESINGER, D., 1956. Die Bedeutung der Umweltfaktoren für den Saugakt von *Triatoma infestans*. *Acta Trop.* 13 :94-141.