

MORFOLOGIA COMPARADA DE PUPAS E PEÇAS BUCAIS DO ÚLTIMO INSTAR LARVAL DE SEIS ESPÉCIES DE FLEBOTOMÍNEOS DO GÊNERO *Lutzomyia* (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE).

Danielle Portela de ALMEIDA¹; Toby Vincent BARRETT²; Ronildo Baiatone ALENCAR³

¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Orientador CPEN /INPA; ³Co-orientador- Doutorando INPA/CPEN

1. Introdução

Os flebotomíneos são pequenos dípteros nematóceros pertencentes à família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Têm importância médico-veterinária, pois algumas espécies dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* são vetoras de vírus, bactérias e protozoários causadores de doenças no homem e outros animais (Young e Duncan, 1994), isto torna suas identificações de fundamental importância para se avaliar a susceptibilidade a parasitas, a sensibilidade a substâncias tóxicas e a eventual importância epidemiológica (Marcondes *et al.*, 2001). São holometábolos, seus ovos são escuros, elípticos e alongados e apresentam na sua superfície saliências que conferem típicos padrões por espécies ou complexo de espécies (Ward e Ready, 1975; Zimmerman *et al.*, 1977; Fausto *et al.*, 2001). As larvas em geral são pequenas e raramente ultrapassam 5 mm de comprimento no último estágio; possuem aspecto vermiforme e cerdas caudais longas no último segmento abdominal; seus corpos são recobertos por numerosas cerdas, que comumente são utilizadas em estudos de quetotaxia; são compostas de cabeça, três segmentos torácicos e nove segmentos abdominais. São anfipnêusticas, com os espiráculos abrindo-se no protórax e no oitavo segmento abdominal (Forattini, 1973; Ward, 1976a; Kettle, 1990). As pupas possuem também cerdas distribuídas pelo corpo, as quais variam quanto à forma e tamanho; estas cerdas possuem importância taxonômica e sistemática, como as cerdas pré-alares e as cerdas abdominais dorsais. (Forattini, 1973).

A identificação dos flebotomíneos está baseada principalmente nos caracteres morfológicos internos e externos dos adultos. Entretanto, em muitos casos, estes caracteres são insuficientes para separar espécies irmãs ou espécies estreitamente relacionadas. Por outro lado, as formas imaturas dos flebotomíneos apresentam vários caracteres morfológicos que, conjuntamente, podem ser empregados em estudos taxonômicos e filogenéticos (Ward e Ready, 1975; Zimmerman *et al.*, 1977; Trouillet, 1979; Arrivillaga *et al.*, 1999; Fausto *et al.*, 2001).

Com o uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Leite *et al.* (1991) demonstraram em detalhes estruturas de relevante importância taxonômica de pupas como a forma e tamanho das cerdas pré-alares, a superfície do tubérculo mesonotal e a forma das cerdas abdominais. Mukhopadhyay e Ghosh (2000) observaram diferenças em muitas estruturas das antenas e peças bucais de larvas de quarto estágio de espécies de flebotomíneos da Índia. Mas recentemente, Pessoa *et al.* (2008) registrou diferenças marcantes nas antenas e cerdas sobre o tórax entre duas espécies estreitamente relacionadas e revelou que caracteres das peças bucais podem ser úteis nos estudos sistemáticos e filogenéticos.

Apesar do potencial da MEV como ferramenta taxonômica para identificação de flebotomíneos estreitamente relacionados e revelação de novas estruturas que podem ser utilizadas em estudos filogenéticos, ainda são poucas as espécies que têm seus imaturos estudados.

Este estudo teve como objetivo descrever as peças bucais das larvas de 4º estágio de *Lutzomyia scaffi*, *L. dendrophyla*, *L. dispar*, *L. rorotaensis*, *L. maruaga* e *L. samueli* e pupas de *L. samueli* e *L. maruaga* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae).

2. Material e Métodos

Origem do material biológico- Todo material biológico usado neste estudo é resultante de imaturos criados em condições de laboratório devidamente preservados, cujos adultos parentais foram coletados na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM (*Lutzomyia scaffi* e *L. dendrophyla*); Serra do Cachorro, Oriximiná, PA (*Lutzomyia rorotaensis*); Caverna Furna Funda, Picos, PI (*Lutzomyia dispar* e *L. samueli*) e Caverna Maruaga, Presidente Figueiredo, AM (*Lutzomyia maruaga*).

O estudo descritivo foi realizado a partir das exúvias de pupas e exúvias de larvas de último instar.

Montagem de lâmina permanente- As exúvias pupais e as exúvias do último instar larval foram amolecidas em hidróxido de potássio (KOH) a 10% durante meia hora a 50 °C. A separação foi cuidadosamente realizada com o auxílio de microscópio estereoscópico e de estiletos. A exúvia pupal foi montada em lâmina permanente com fluido de Berlese. A cápsula cefálica extraída da exúvia larval foi mantida no KOH por mais uma hora a 100 °C. Após este período, a cápsula cefálica foi dissecada sob microscópio estereoscópico para separar as peças bucais que também foram montadas em lâminas com fluido de Berlese.

Observação e desenho sob microscópio óptico- O material foi analisado, desenhado e fotografado sob microscópio óptico em objetivas de 10x, 40x e 100x. Os desenhos foram realizados com o auxílio de câmara clara. No total foram analisadas dez pupas e dez peças bucais completas de cada uma das seis espécies estudadas. Esta etapa do estudo foi realizada no Laboratório de Triatominae, Flebotominae e Fauna Nidícola da Coordenação de Pesquisas em Entomologia/INPA.

Terminologia - A terminologia adotada para descrever as peças bucais dos imaturos de flebotomíneos seguiu Forattini (1973) e Arrivillaga *et al.* (1999). Para a quetotaxia das pupas foram adotados Abonnenc (1956) e Forattini.

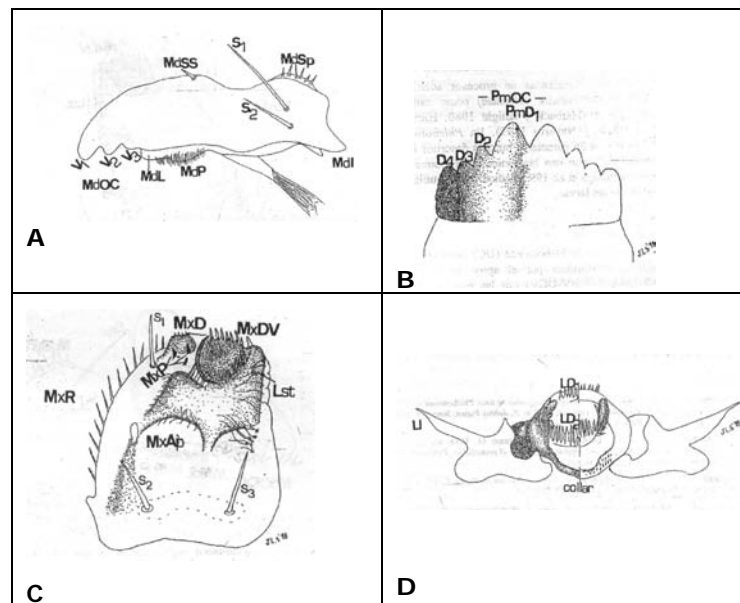


Figura 1: Peças bucais de larvas de 4º estágio. **A-** Mandíbula (V1, V2 e V3- dentes ventrais; S1 e S2- cerdas mandibulares; MdsP- área Espinosa; MdL- lóbulo mandibular; MdP- pêlos mandibulares; Mdl- quilha de inserção). **B-** Mento (D1, D2, D3 e D4- dentes do postmento). **C-** Maxila (MxD- dentes apicais maxilares; MxDV- dentes ventrais maxilares; MxP- placas maxilares; MxAp- apêndice maxilar; S1, S2 e S3- cerdas maxilares). **D-** Lígula (LD1- dentes pequenos; LD2- dentes grandes; LI- inserções). Fonte: Arrivillaga *et al.* (1999)

3. Resultados e discussão

Descrição das peças bucais de larvas de 4º estágio

Lutzomyia samueli- a mandíbula teve todas as estruturas identificadas e apresentou-se quitinizada com três dentes arredondados. O mento apresentou 6 dentes desenvolvidos. A maxila mostrou-se com aspecto hialino, suas estruturas também foram identificadas. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Lutzomyia maruaga- a mandíbula teve suas estruturas identificadas, assim com *L. samueli* apresentou-se de forma quitinizada com três dentes arredondados. O mento diferentemente de *L. samueli* apresentou 8 dentes desenvolvidos, sendo o 4º dente de difícil visualização. A maxila mostrou-se com aspecto hialino, suas estruturas também foram identificadas. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Lutzomyia scaffi- a mandíbula de *L. scaffi* apresentou-se esclerotizada e com os dentes bem definidos. O mento apresentou 8 dentes dentes desenvolvidos e bem definidos. A maxila

mostrou-se com aspecto hialino, suas estruturas também foram identificadas. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Lutzomyia dendrophyla- diferente das demais espécies a maxila de *L. dendrophyla* apresentou-se levemente esclerotizada, mostrando três dentes arredondados e bem definidos. O mento diferente das demais espécies apresentou-se levemente esclerotizados com 8 dentes desenvolvidos e bem definidos. A maxila apresentou-se mais transparente que as demais espécies. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Lutzomyia rorotaensis- a mandíbula de *L. rorotaensis* apresentou-se levemente esclerotizada assim com em *L. dendrophyla*, mostrando uma estrutura cortante formada por três fortes dentes arredondados e bem definidos. O mento mostrou-se levemente esclerotizado, com 8 dentes bem definidos. A maxila mostrou-se com aspecto hialino, suas estruturas também foram identificadas. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Lutzomyia dispar- a mandíbula de *L. dispar* apresentou-se esclerotizada, mostrando uma estrutura cortante formada por três fortes dentes arredondados e bem definidos. O mento de apresentou-se esclerotizado, na margem anterior, notou-se a existência de 8 dentes desenvolvidos e bem definidos, dispostos simetricamente aos pares. A maxila mostrou-se com aspecto hialino, suas estruturas também foram identificadas. A lígula apresentou dentes quitinizados.

Descrição das pupas de *L. maruaga* e *L. samueli*.

As pupas destas espécies apresentam grosseiramente características muito similares as das espécies já descritas por Barreto (1941), Carneiro e Sherlock (1964) e Abonnenc (1956). Apresentam-se constituídas de duas porções distintas: cefalotórax e abdômen. O cefalotórax é constituído pela cabeça, protórax, mesotórax e metatórax, os quais são dificilmente individualizados. O abdômen apresenta levemente a forma de um "S" e é constituído de nove segmentos, os quais são levemente achatados dorso-ventral. Os segmentos abdominais têm tamanhos decrescentes à medida que se aproximam da extremidade caudal. Os cinco primeiros segmentos abdominais são parcialmente recobertos pelas asas. O último segmento abdominal é modificado pela composição das estruturas genitais do futuro adulto. O sexo da pupa só é determinada quando retirada a exúvia do último estágio larval.

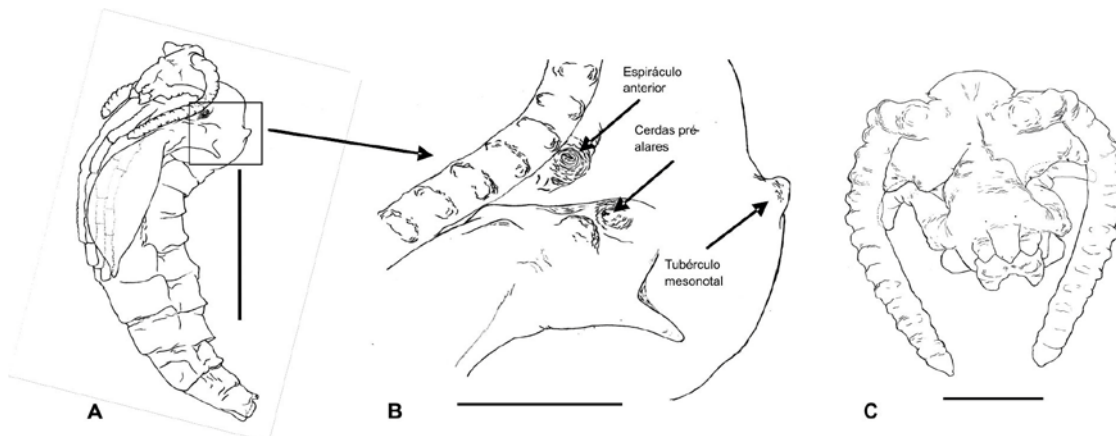


Figura 2: *Lutzomyia maruaga*. A – Vista lateral da pupa. Barra = 0,5 mm. B – Detalhe do tórax mostrando o espiráculo e as cerdas pré-alares subdesenvolvida. Barra = 100 µm. C = Vista frontal da cabeça. Barra = 100 µm.

A pupa de *Lutzomyia maruaga* apresenta praticamente todas as cerdas descritas para outras espécies de flebotomíneos, porém com tamanhos diferentes. As cerdas pré-alares, por exemplo, são pouco desenvolvidas e em número de três como nas descrições de Abonnenc (1956). Nas descrições de Forattini (1973), estas são representadas por apenas duas cerdas. Os espiráculos anteriores são visivelmente bem desenvolvidos comparados com o tamanho da pupa. Na cabeça são observados diversos tubérculos, além das antenas e palpos curvados anteriormente e cerdas.

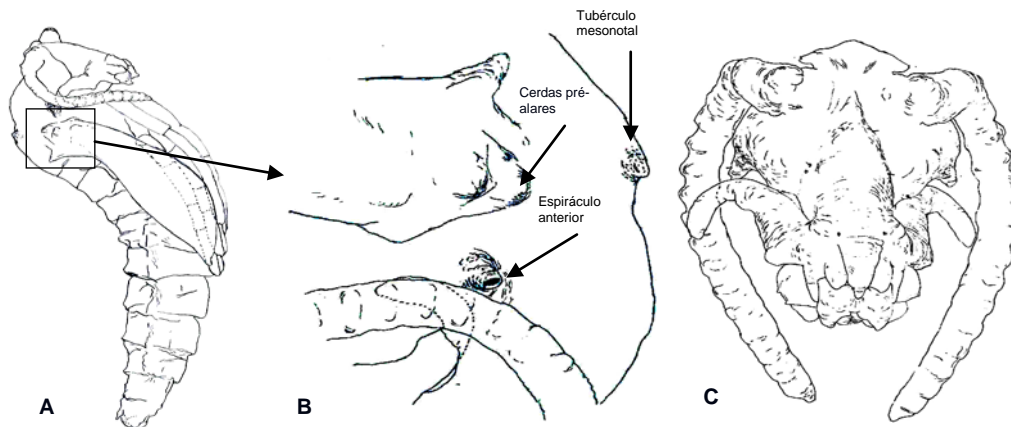


Figura 3: *Lutzomyia samueli*. A – Vista lateral da pupa. B – Detalhe do tórax mostrando o espiráculo e as cerdas pré-alares subdesenvolvida. C = Vista frontal da cabeça.

A pupa de *L. samueli* mostrou-se extremamente similar a de *L. maruaga*, apesar de ter sido ligeiramente menor. As estruturas que mais chamam a atenção quanto a semelhança entre as pupas dessas duas espécies são os espiráculos anteriores fortemente desenvolvidos e as cerdas pré-alares subdesenvolvida. Também são encontrados diversos tubérculos, principalmente, nas regiões da cabeça e tórax.

4. Conclusão

O estudo de morfologia comparada das peças bucais de larvas de 4º estágio de *L. scaffi*, *L. dendrophyla*, *L. dispar*, *L. rorotaensis*, *L. maruaga* e *L. samueli* revelou diferenças significativas, embora essas espécies sejam semelhantes. Detalhes marcantes foram encontrados nas pupas de *L. samueli* e *L. maruaga*. Contudo, faz-se necessário observar um maior número de exemplos para confirmar os padrões de agrupamento registrados.

5. Referências

- Aboonnenc, E. 1956a. L'oeuf et les formes pré-imaginales de deux phlébotomes africains: *P. antennatus* var. *occidentalis* Theodor, 1933 et *P. dubius* Parrot, Mornet et Cadenat, 1945.
- Arrivillaga, J.; Navarro, J.C.; Feliciangeli, M.D. 1999. Morfologia y quetotaxia del tagma cefálico larval de *Lutzomyia* França 1924 (Diptera: Psychodidae): Proposición de um sistema de nomenclatura. *Boletín de Entomología Venezolana*. 14: 1-13.
- Fausto, A.M.; Feliciangeli, M.D.; Maroli, M.; Mazzini, M. 2001. Ootaxonomic investigation of five *Lutzomyia* species (Diptera, Psychodidae) from Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 197-204.
- Forattini, O. P. 1973. Entomologia Médica: 4, Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses Bartonelose.
- Kettle, D.S. 1990. *Medical and Veterinary Entomology*, Cab International, UK, pp. 658.
- Marcondes, C.B. et al, 2001. O descuido com a taxonomia pode desvalorizar um trabalho científico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(6): 599-600.
- Mukhopadhyay, J.; Ghosh, K. 2000. Morphology of Larval Antennae and Mouthparts of Four Indian Sand Flies.
- Ward, R.D. e Ready, P. 1975. Chorionic sculpturing of some sandfly eggs (Diptera: Psychodidae). *J. Ent. A.*, 50: 127-134.
- Ward, R.D. 1976a. A revised numerical chaetotaxy for neotropical Phlebotomine sandfly larvae (Diptera: Psychodidae). *Systemat. Ent.*, 1: 89-94.
- Young, D.G. e Duncan, M.A. 1994. Guide of the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, 54: 1-881.
- Zimmerman, J.H.; Newson, H.D.; Hooper, G.R.; Christensen, H.A. 1977. A comparison of the egg surface structure of six antropophilic phlebotomine sand flies (*Lutzomyia*) with the scanning electron microscope (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 13: 574-579.