

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisa René Rachou
Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias

Ecologia e Sistemática de *Cavernicola pilosa* Barber,
1937 (Hemiptera, Reduviidae)

por

Maria Angélica de Oliveira

Belo Horizonte

Junho de 2005

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisa René Rachou
Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias

Ecologia e Sistemática de *Cavernicola pilosa* Barber, 1937
(Hemiptera, Reduviidae)

por

Maria Angélica de Oliveira

Dissertação apresentada para obtenção de título de Mestre em
Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Dra. Liléia Gonçalves Diotaiuti

Belo Horizonte

Junho de 2005

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas – Centro de Pesquisa René Rachou, sob orientação da Dra. Liléia Diotaiuti, pesquisadora titular, e colaborações do Dr. Rodrigo Lopes Ferreira, professor na Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais e Dr. Maurício Antônio Carneiro, professor adjunto no Departamento de Geologia da Universidade Federal de Ouro Preto.

Morre lentamente quem não viaja,
quem não lê,
quem não ouve música,
quem não encontra graça em si mesmo.

Morre lentamente
quem destrói seu amor próprio,
quem não se deixa ajudar.

Morre lentamente
quem se transforma em escravo do hábito
repetindo todos os dias os mesmos trajetos,
quem não muda de marca,
não se arrisca a vestir uma nova cor
ou não conversa com quem não conhece.

Morre lentamente
quem evita uma paixão e seu redemoinho de emoções,
justamente as que resgatam o brilho dos olhos
e os corações aos tropeços.

Morre lentamente
quem não vira a mesa quando está infeliz com
o seu trabalho, ou amor,
quem não arrisca o certo pelo incerto para ir
atrás de um sonho
quem não se permite, pelo menos uma vez na vida,
fugir dos conselhos sensatos...

Pablo Neruda

A meu filho.

AGRADECIMENTOS

Não é possível expressar a gratidão que sinto por todos que participaram deste trabalho, que, injustamente, assino sozinha. Elaborei uma lista daqueles que no momento me vêm à memória, mas estou certa de que há outros que colaboraram, com palavras e gestos de carinho e amizade. A todos agradeço, também, por me terem ensinado que nenhuma obra é realizada por uma só pessoa, e é bom saber que nunca estamos sós.

À Dra. Liléia Diotaiuti, pelo incentivo, amizade, apoio e orientação, não só neste trabalho, mas em todos os momentos do nosso dia a dia.

A Jorge Luiz de Souza, por ter trazido até nós o primeiro exemplar dos triatomíneos que se tornaram objeto deste estudo, por ter nos apresentado à caverna, por ser nosso amigo e, sobretudo, pelo entusiasmo e espírito investigativo com que participou das visitas à Caverna Boa Esperança.

A Rita de Cássia Moreira de Souza pela grande ajuda nas análises morfométricas, na obtenção de imagens e nos estudos de infecção dos *Cavernicola* por tripanossomatídeos, pelo companheirismo, amizade e estímulo, constantes em anos de convívio.

A Rosana de Oliveira Alves, pelo fornecimento da cepa Y de *Trypanosoma cruzi cruzi*, o que possibilitou estudos comparativos com o *T. cruzi marinkellei*.

A Érika Carime Borges, pela valiosa orientação nos estudos de morfometria, pela amizade e apoio constantes.

A Alexandre Silva de Paula, pelas indicações para a pesquisa bibliográfica.

A Marcelo Gustavo Lorenzo, pelos esclarecimentos quanto à técnica de medição de temperatura e umidade.

A Maria Inês de Oliveira Mascarenhas, pela amizade e pela competência nos serviços de secretaria prestados.

A Rodrigo Redondo, pela identificação dos morcegos encontrados na Caverna Boa Esperança.

Ao Dr. Egler Chiari, pelo generoso fornecimento do meio para cultivo de tripanossomatídeos.

Ao Centro de Pesquisa René Rachou, pelo apoio logístico.

Aos colegas do Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas do Centro de Pesquisa René Rachou, Fernando, Dr. João Carlos, Evandro, João Paulo, Carlota, Raquel, Gina, Ana Cristina, Marcos, Theo, Thessa, Violeta, D. Maria, Jordana, Sílvia Ermelinda, Sílvia Basques, Grasielle, Ivan e Diogo, pelo companheirismo, respeito, dedicação, compromisso e demais atributos de uma verdadeira equipe de trabalho.

Finalmente agradeço a meu filho, Juliano, que tanta compreensão teve com minhas ausências.

O *Cavernicola pilosa* Barber, 1937 tem sido encontrado em cavernas e ocos de árvores, com ampla distribuição geográfica, sempre em estrita associação com morcegos, sendo vetor de esquizotripanose de morcegos.

Os espécimes estudados aqui são oriundos de um foco natural encontrado em uma caverna no Distrito de Taquaruçu, município de Palmas, Tocantins (10°22.921'S e 48°03.587'O). O clima desta região de cerrado é caracterizado por um período de elevados índices de precipitação pluviométrica, em torno de 250 mm mensais, com umidade relativa do ar de 83%, e outro de baixos índices, quando a umidade relativa do ar chega a 50%, e temperatura média anual variando de 24 a 26°C. O clima no interior da caverna se mantém estável, a temperatura variando de 25 a 28°C e a umidade de 80 a 95%. A caverna, constituída de canga ferruginosa em fragmentos de variadas dimensões e formas, soldados por hidróxido de ferro, é atravessada por um riacho e habitada por milhares de quirópteros de quatro espécies (*Anoura geoffroyi*, *Phyllostomus hastatus*, *Carollia perspicillata* e *Pteronotus parnellii*). A presença de água e de grandes quantidades de guano garantem a sobrevivência de dezenas de espécies de artrópodes das classes Arachnida, Myriapoda e Insecta. O *C. pilosa* foi encontrado em locais distantes das entradas, em ausência de luz detectável, onde a temperatura varia de $24,88 \pm 0,9^\circ\text{C}$ à $27,07 \pm 1,05^\circ\text{C}$ e a umidade de $80,56 \pm 4,71\%$ à $91,89 \pm 1,36\%$. Todos os indivíduos foram encontrados nas paredes, acima de um metro de altura até o teto, onde ficavam as colônias de morcegos. Estes, provavelmente, são a principal fonte de alimentação e de infecção dos triatomíneos por *Trypanosoma cruzi marinkellei*, assim como os prováveis agentes de dispersão do *C. pilosa*.

A descrição do *Cavernicola lenti* por Barrett & Arias, em 1985, trouxe a necessidade de redefinir o gênero *Cavernicola*, cuja diagnose foi baseada em uma única espécie, o *C. pilosa*. Propomos aqui alterações no conjunto de características que definem o gênero *Cavernicola* e a tribo Cavernicolini, considerando detalhes morfológicos do *C. lenti* (da nova espécie) que não se adequam às características atribuídas ao gênero e à tribo.

ABSTRACT

The triatomine bug *Cavernicola pilosa* Barber, 1937 has a large geographic distribution and has been found in caves and hollow trees, always in strict association with bats, being vector of bats' esquizotripanose.

The specimens studied in this work derive from a natural site found inside a cave located in Taquaruçu district, Palmas city, Tocantins state (10°22.921'S and 48°03.587'W), Brazil. The climate of this savana region is characterized by one period of high rain indices (around 250mm monthly) and relative air humidity about 83%, and another period of low rain indices, in which the relative air humidity reaches 50%. The annual average temperature ranges from 24 to 26°C.

The climate in the internal side of the cave keeps relatively steady, with temperature ranging from 25 to 28°C and relative humidity between 80 and 95%. The cave is constituted by iron fragments of different dimensions and forms ("canga") joined by iron hidroxide. A stream crosses the cave, which is inhabited by thousands of bats that belong to four different species (*Anoura geoffroyi*, *Phyllostomus hastatus*, *Carollia perspicillata* and *Pteronotus parnellii*). The presence of water and great amounts of bat guano guarantees the survival of fifty three arthropod species which belong to the classes: Arachnida, Myriapoda and Insecta. The places where *C. pilosa* was found are distant from the entrances of the cave. At this places there is no detectable light and the temperature ranges from 24,88 + 0,9°C to 27,07 + 1,05°C, while the humidity ranges from 80,56 + 4.71% to 91,89 + 1,36%. All the specimens had been found on the walls, since one meter above the floor until the ceiling, where the colonies of bats were located. Probably, these bats are the main source of feeding and *Trypanosoma cruzi marinkellei* infection to *C. pilosa*, as well as the probable dispersion agents of *C. pilosa*.

Cavernicola lenti description by Barrett & Arias (1985) brought the necessity to redefine the genus *Cavernicola*, since diagnosis was based on a single species, *C. pilosa*.

In the present work, we propose alterations in the set of characteristics which define the *Cavernicola* genus and the Cavernicolini tribe, considering morphologic details of the *C. lenti* (new species) that were not adequate to the characteristics firstly attributed for the genus and the tribe.

LISTA DE FIGURAS

1. Locais de captura de Cavernicolini.	3
2. Xenodiagnóstico do morcego: maneira de contenção dos morcegos enquanto os <i>R. prolixus</i> se alimentavam sobre eles.	14
3. Cabeça de <i>C. pilosa</i> , em vista dorsal, com indicações das medidas tomadas para as análises morfométricas.	16
4. Cabeça de <i>C. pilosa</i> , em vista lateral, com indicações das medidas tomadas para as análises morfométricas.	17
5. (a) Ovos de <i>C. pilosa</i> cimentados na parede da caverna. (b) <i>C. pilosa</i> : ovos cimentados na parede da caverna, fêmea, macho e ninfa. (c) ovos de <i>C. pilosa</i> no papel de filtro.	23
6. Ovo e fezes cimentados por uma fêmea de <i>C. pilosa</i> no pêlo de camundongo anestesiado e oferecido para repasto sanguíneo.	23
7. <i>C. pilosa</i> . (a) macho, com nervura anômala na membrana do hemélitro; (b) cabeça em vistas dorsal e lateral; (c) hemélitro normal.	30
8. <i>C. pilosa</i> , Genitália masculina. (a): porção final do abdome em vista dorsal; (b) porção final do abdome em vista ventral; (c) parâmeros; (d) falo, vista ventral; (e) falo, vista dorsal; (f) falo, vista lateral; (g) falo distendido, vista ventral; (h) falo distendido, vista dorsal; (i) processo mediano do pigóforo, vista ventral.	31
9. <i>C. pilosa</i> , Genitália externa feminina. (a) porção final do abdome em vista ventral; (b) porção final do abdome em vista dorsal; (c) gonocoxito e gonapófise do 8 ^o segmento; (d) gonapófise do 8 ^o segmento; (e) e (f): gonocoxito do 9 ^o segmento, vistas interna e interna; (g) e (h): gonapófise do 9 ^o segmento.	32
10. <i>C. pilosa</i> em vista dorsal (a) e ventral (b).	32
11. <i>C. lenti</i> em vista dorsal (a) e ventral (b).	33
12. Cabeça de <i>C. pilosa</i> mostrando a sutura arqueada e o ocelo.	33
13. Pronoto (a) e escutelo (b) de <i>C. pilosa</i> .	33
14. Prosterno de <i>C. pilosa</i> sem o sulco estridulatório.	34
15. Porção distal do abdome da fêmea de <i>C. pilosa</i> dorsal (a) e ventral (b).	34
16. Porção distal do abdome do macho de <i>C. pilosa</i> dorsal (a) e ventral (b).	34
17. Hemélitros de <i>C. pilosa</i> .	34
18. Perfil de Guillaumin de <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> .	35
19. Representação esquemática (quantile Box plots) da distribuição dos indivíduos de <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> por sexo analisado para o primeiro componente principal comum (CPC1).	37

20. Mapa fatorial dos dois primeiros componentes principais comuns (CPC1 e CPC2) derivados das dimensões da cabeça de <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> , machos e fêmeas.	38
21. Mapa fatorial dos componentes canônicos, derivados das dimensões da cabeça de <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> , machos e fêmeas.	38
22. Ambiente externo, no entorno da caverna, mostrando a vegetação de cerrado no período chuvoso (a) e no período seco (b).	39
23. Ambiente externo acima da caverna, mostrando a vegetação no período chuvoso (a) e no período seco (b).	39
24. Formações rochosas no entorno e no interior da caverna.	41
25. Dados de temperatura e umidade relativa do ar, obtidos em diferentes pontos do interior da caverna pelos sensores HOBO H08, durante a estação chuvosa (29/11 à 01/12).	43
26. Croqui da Caverna Boa Esperança (10°20.192'S, 48°03.587'O, Palmas, TO), onde foram capturados os <i>C. pilosa</i> .	46
27. Entrada do riacho pelo teto da caverna (a) e poço (b).	47
28. Partes do percurso do riacho na caverna.	48
29. Salão do riacho (a) e saída do riacho pela abertura sudoeste da caverna (b).	49
30. Salão do riacho e entrada da galeria positiva.	50
31. Galeria positiva.	51
32. <i>Mesabolivar</i> sp.	58
33. <i>Loxoceles portoi</i> predando um <i>C. pilosa</i> adulto.	58
34. Toca-armadilha de <i>Ariadna</i> sp no local de ocorrência de <i>C. pilosa</i> .	59
35. Opilionida, Gonileptidae.	59
36. Amblypygi.	60
37. Coleoptera, Carabidae.	61
38. <i>Lutzomyia</i> sp.	61
39. Ensífera, Phalangopsidae.	61
40. <i>C. pilosa</i> fêmea (a); macho (b); macho, fêmea, ninfa e ovos (c).	61
41. <i>Blaberus</i> sp, no mesmo local de ocorrência do <i>Phyllostomus hastatus</i> .	62
42. Fotos da caverna no ponto onde foram capturados os <i>C. pilosa</i> durante o período chuvoso (galeria positiva).	63
43. Ilustração do <i>C. pilosa</i> retirada da descrição original de Barber (1937), mostrando a nervura espúria, não delimitando a célula quadrada.	71
44. Asa de <i>A. venator</i> (Harpactorinae) mostrando a célula quadrada corial delimitada por nervuras transversas entre as nervuras cubital e pós-cubital.	71
45. Asa de <i>C. pilosa</i> mostrando a célula quadrada na membrana delimitada pela nervura transversa.	71

LISTA DE TABELAS

1. Localização e tempo de permanência dos sensores HOBO 08 para medidas de temperatura e umidade.	19
2. Valores de p (ANOVA) para <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> .	36
3. Valores de p (ANOVA) para machos e fêmeas de <i>C. pilosa</i> e <i>C. lenti</i> .	36
4. Medidas de temperatura e umidade relativa do ar, tomadas com termo higrômetro digital, em julho (estação seca).	42
5. Medidas instantâneas de temperatura e umidade relativa do ar, tomadas com termo higrômetro digital, em 29 de novembro (estação das chuvas).	44
6. Médias das medidas de temperatura e umidade obtidas em diferentes pontos da caverna pelos sensores HOBO 08 durante a estação chuvosa.	44
7. Caracteres diferenciais entre a tribo Cavernicolini (Triatominae, Reduviidae) e a subfamília Harpactorini (Reduviidae).	69

1. Introdução	1
1.1. Objetivos	9
1.1.1. Objetivo geral	9
1.1.2. Objetivos específicos	9
2. Metodologia	10
2.1. Aspectos biológicos do <i>Cavernicola pilosa</i> em laboratório	11
2.1.1. Capturas	11
2.1.2. Colonização do <i>C. pilosa</i> e do <i>C. lenti</i>	12
2.1.3. Infecção do <i>C. pilosa</i> por tripanossomatídeos	13
2.2. Estudos de morfologia clássica	15
2.3. Morfometria	15
2.4. Caracterização do ambiente natural do <i>C. pilosa</i>	18
3. Resultados	21
3.1. Aspectos biológicos do <i>C. pilosa</i> em laboratório	22
3.1.1. Colonização do <i>C. pilosa</i> e do <i>C. lenti</i>	22
3.1.2. Infecção do <i>C. pilosa</i> por tripanossomatídeos	24
3.2. Estudos morfológicos	24
3.2.1. Redescrição de <i>Cavernicola pilosa</i> Barber, 1937	24
3.2.2. Redescrição da tribo e do gênero	28
3.3. Morfometria	35
3.3.1. Análise univariada	35
3.3.2. Análise multivariada	37
3.3.2.1. Análise dos componentes principais comuns	37
3.3.2.2. Análise discriminante	38
3.4. Caracterização do ambiente natural do <i>C. pilosa</i>	39
3.4.1. Aspectos biogeográficos	39
3.4.2. Croqui da caverna	45
3.4.3. Fauna identificada	52
3.4.4. Distribuição do <i>C. pilosa</i> na caverna	63
4. Discussão	64
5. Conclusões	75
6. Referências Bibliográficas	78
7. Anexos	84

1. INTRODUÇÃO

1. Introdução

Os triatomíneos são reduvídeos hematófagos, agrupados como subfamília devido à hematofagia e alterações morfológicas decorrentes deste hábito (Lent & Wygodzinsky, 1979). Das 135 espécies de 18 gêneros e 6 tribos desta subfamília, 124 espécies de 17 gêneros e 4 tribos ocorrem nas Américas do Norte, Central e do Sul, entre as latitudes 42N e 46S (Galvão et al., 2003; Schofield, 1994). Várias espécies de triatomíneos colonizam o domicílio e peridomicílio humanos, encontrando habitat favorável em frestas nas paredes e telhado de casas na área rural e periferia das grandes cidades. Nesta situação têm o homem e animais domésticos como fonte de repasto sangüíneo, podendo transmitir a estes um protozoário flagelado, o *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) através de fezes infectantes depositadas na pele do hospedeiro no momento da picada (WHO, 2005). O homem e muitas outras espécies de mamíferos silvestres e domésticos constituem reservatório, havendo um fluxo entre os triatomíneos intradomiciliares e peridomiciliares, e entre os triatomíneos peridomiciliares e silvestres (Borges et al., 2005). Além disso, os triatomíneos são capazes de transmitir o *T. cruzi* em todos os estádios de seu desenvolvimento, mantendo a infecção por toda a vida (Schofield, 1994). A Doença de Chagas ocorre somente no Continente Americano, com ampla distribuição nas Américas Central e do Sul, em uma área que se estende do México ao norte da Argentina. É endêmica em 21 países, afetando de 16 a 18 milhões de pessoas e 100 milhões - 25% da população da América Latina - estando sob risco de infecção (WHO, 2005).

O *Cavernicola pilosa* foi descrito por Barber em 1937, a partir de sete espécimes adultos e cinco ninfas coletados em cavernas freqüentadas por grande número de morcegos no Panamá. Apesar de a espécie ser muito diferente dos demais membros de Triatominae, o autor não teve dúvidas em colocar o novo gênero nesta subfamília (Barber, 1937), o que foi aceito posteriormente por vários autores, a saber: Usinger, 1939 e 1944; Lima, 1940; Neiva & Lent, 1941 (Lent & Jurberg, 1969). Usinger (1944) comentou mais amplamente a posição filogenética e taxonômica do gênero, na época monotípico, criando a tribo Cavernicolini, separando os típicos Triatomini das tribos Bolboderini e Cavernicolini, com base no tamanho dos ocelos e posição destes em relação à sutura arqueada da cabeça.

O *C. pilosa* sempre foi encontrado em estrita associação com morcegos, em cavernas ou troncos de árvores de regiões tropicais úmidas do Panamá e América do Sul (Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela), em altitudes que variam de 140 a 1160 metros (Barber, 1937; Dias et al., 1942; Marinkelle, 1966; Pipkin, 1968; D'Alessandro et al., 1971; Lent & Wygodzinsky, 1979) (figura 1). Há, porém, três achados em regiões



Figura 1: Locais de captura de Cavernicolini. Adaptado de: Lent & Wygodzinsky, 1979; Carcavallo et al., 1999.

- ★ *Cavernicola pilosa* Barber, 1937: **Brasil** (Pará, Mato Grosso, Espírito Santo, Bahia, Paraná). **Colômbia** (Cundinamarca, Meta, Tolima e Valle). **Equador** (Pastaza). **Panamá**. **Peru** (Loreto). **Venezuela** (Cojedes, Portuguesa, Táchira, Lara, Território Amazonas).
- ✱ *Cavernicola lenti* Barrett & Arias, 1985: **Brasil** (Amazonas).

tropicais secas: um em oco de árvore nos Estados de Portuguesa e Cojedes, Venezuela (Carcavallo et al., 1976); o segundo achado consistiu de uma fêmea morta, que estava sobre o peitoril do terraço de um domicílio habitado, provavelmente caída do sótão

(Gomes & Pereira, 1977); o terceiro achado deu-se em março de 1989, em uma casa abandonada, colonizada por morcegos, no município de Luz, Minas Gerais, Brasil (Diotaiuti, dados não publicados). Somente um autor considera o *C. pilosa* um visitante circunstancial de domicílios habitados por humanos, baseado em dois achados,

correspondentes a um exemplar adulto para cada captura intradomiciliar realizada em área rural do Panamá (Pipkin, 1968).

A estrita associação do *C. pilosa* com morcegos sugere que estes constituem a única fonte de alimentação para este triatomíneo na natureza. São várias as espécies de morcegos encontradas em associação com o *C. pilosa*, frugívoros, insetívoros e o hematófago *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810) (Dias et al., 1942; Marinkelle, 1966; Carcavallo et al., 1976; D'Alessandro et al., 1971). Segundo alguns autores, o *C. pilosa* recusa qualquer outra fonte de sangue no laboratório (Marinkelle, 1966 e Carcavallo et al., 1976).

Vários artrópodes hematófagos têm sido assinalados na literatura compartilhando simultaneamente o mesmo nicho ecológico com o *C. pilosa*, alimentando-se também em morcegos. Dias et al. (1942) encontrou *Latrocimex spectans* Lent, 1941 (Cimicidae), *Cimex limai* Pinto, 1927 (Cimicidae) e *Ornithodoros dunnii* Matheson, 1925 (Argasidae); Carcavallo et al. (1976) encontrou *Cryptophysoderes* sp (Physoderinae, Reduviidae).

A infecção do *C. pilosa* por tripanossomatídeos foi estudada inicialmente por Emmanuel Dias (Dias et al., 1942), que o incriminou como vetor de *Schizotrypanum* de morcegos, após tê-lo encontrado albergando várias espécies deste subgênero. Também foram encontradas, no intestino do triatomíneo, critídias e tripanossomos metacíclicos morfologicamente semelhantes ao *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909) que não provocavam infecção detectável em camundongos e cobaias. Tal achado foi confirmado por D'Alessandro et al. (1971), que assinalaram a ocorrência de *C. pilosa* e morcegos infectados em áreas da Colômbia sem nenhuma outra espécie infectada, humanos inclusive. Tais *Schizotrypanum* também não causaram infecção permanente em nenhum triatomíneo vetor de *T. cruzi* (Dias et al., 1942). Marinkelle, 1966 e D'Alessandro, 1971, afirmam ter isolado *T. cruzi* de fezes de *C. pilosa*, mas a identificação foi unicamente por critérios morfológicos. Em 1978, Baker et al. estudaram as cepas *T. (S.) cruzi* isoladas de morcegos latino-americanos morfologicamente idênticas ao *T. (S.) cruzi*, mas que diferiam por sua reduzida infectividade para camundongos e triatomíneos, e na sua composição antigênica. Encontraram um padrão similar (mas não idêntico) na densidade do DNA nuclear e cinetoplástico e alguma infectividade para triatomíneos. Com base nestas diferenças, propuseram que o *T. (S.) cruzi* isolado de morcegos latino-americanos fosse tratado como *Trypanosoma*

(Schizotrypanum) cruzi marinkellei, enquanto que o *T. (S.) cruzi* sensu stricto passasse a ser denominado *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi cruzi* (Chagas, 1909).

São diversas as técnicas de biosistemática utilizadas para estudos comparativos entre espécies e populações de diferentes insetos. Dentre as técnicas morfológicas, a morfometria constitui-se importante parâmetro na taxonomia de triatomíneos, podendo ser utilizada para:

- diferenciação de populações de diferentes regiões geográficas (Casini et al., 1995; Dujardin et al., 1997a, b; Harry et al., 1992; Dujardin et al., 1998; Barbosa, 1998; Borges et al., 2000);
- monitoramento do processo adaptativo de populações silvestres ao domicílio (Dujardin et al., 1998; Borges et al., 2005);
- estudos de padrão de reinfestação das casas por triatomíneos silvestres após eliminação das populações domésticas pelo uso de inseticida, identificando a origem dos insetos reinfestantes e permitindo calcular o fluxo gênico entre diferentes populações (Dujardin, 1997a);
- em estudos filogenéticos (Dujardin et al., 1999; Schofield & Dujardin, 1999).

As tentativas de colonização do *C. pilosa*, além de logisticamente inviáveis, produziram colônias com duração suficiente para rápida observação do ciclo biológico, isolamento de tripanossomatídeos hospedeiros do triatomíneo e infecção destes por outros tripanossomatídeos (Marinkelle, 1966; Carcavallo et al., 1976). Marinkelle, 1966, manteve *C. pilosa* em recipientes de bambu, em umidade relativa de 95-99%, alimentados em camundongos recém-nascidos. Carcavallo et al., 1976, manteve *C. pilosa* em frascos pequenos, estes colocados em frascos maiores, herméticos, que continham água, mantendo assim umidades que se aproximavam da saturação, em temperaturas variando entre 26 e 32°C e alimentados sobre morcegos. Em nosso laboratório só foi possível o estabelecimento de uma colônia após algumas tentativas com diferentes protocolos, visando sempre adequações aos recursos disponíveis, o que torna exequível a manutenção de *C. pilosa* em qualquer laboratório com infra-estrutura mínima.

A ampla distribuição geográfica do *C. pilosa* poderia sugerir uma grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes, o que contraria a dificuldade de colonização em laboratório, que sugere alta especialização. Outro indício de especialização é o tamanho das colônias encontradas, formadas por centenas de indivíduos (Carcavallo et al., 1976). O encontro de um foco natural de *C. pilosa* em uma caverna localizada na Fazenda Boa Esperança, município de Palmas, Tocantins, habitada por milhares de morcegos, deu início a este trabalho. A descrição desta caverna que abriga uma colônia formada por milhares de *C. pilosa*, neste caso seu habitat natural, forneceria informações à cerca das necessidades básicas para sobrevivência deste

triatomíneo. Portanto, determinamos aqui as condições climáticas da caverna (temperatura e umidade), com ênfase nos pontos onde a colônia de *C. pilosa* se concentra, a fauna associada ao *C. pilosa*, suas possíveis fontes de alimento, a área da caverna (tamanho, forma, presença de coleção d'água), a formação geológica e localização da colônia de *C. pilosa* em relação às aberturas da caverna para o ambiente externo.

1.1. OBJETIVOS

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo geral

Caracterizar o *C. pilosa* quanto a aspectos relacionados à sua ecologia e morfologia.

1.1.2. Objetivos específicos

1.1.2.1. Caracterizar a Caverna Boa Esperança (Palmas, Tocantins), foco do *C. pilosa*.

- Descrever geologicamente a caverna.
- Determinar as características climáticas (temperatura e umidade) dos locais de ocorrência do *C. pilosa* na caverna.
- Identificar a fauna associada ao *C. pilosa*.
- Determinar a distribuição do *C. pilosa* na caverna.

1.1.2.2. Revisar a tribo Cavernicolini e o gênero *Cavernicola* a partir de características morfológicas e morfométricas.

2. METODOLOGIA

2. Metodologia

2.1. Aspectos biológicos do *Cavernicola pilosa* em laboratório

2.1.1. Capturas

A caverna onde foi encontrado o foco natural de *C. pilosa*, localiza-se no Distrito de Taquaruçu, município de Palmas, cerca de 70 Km distante da sede do município, em uma propriedade particular, a Fazenda Boa Esperança (denominação adotada por nós para a caverna), a 10°22.921' S e 48°03.587' O, altitude de 504 m.

Foram feitas duas excursões à caverna, a primeira em julho, em plena estação seca, a segunda em dezembro, durante a estação chuvosa. Apesar de a primeira visita ter sido mais uma excursão de reconhecimento, nesta foram capturados 49 exemplares de *C. pilosa* e 9 morcegos. Os *C. pilosa* foram capturados nas paredes da Caverna Boa Esperança, com auxílio de penas de galinha e pinças de aço inoxidável flexível. Os espécimes foram acondicionados em potes plásticos opacos (capacidade para 300 ml), forrados no fundo com papel de filtro, contendo um pedaço de cartolina dobrado formando uma sanfona que foi colocada verticalmente, ligando o fundo do pote à tampa, a qual era de cortes de meia de nylon (feminina), presos com elástico. Para o traslado, estes potes foram acondicionados em uma caixa plástica hermética contendo pedaços de flanela umedecidos. Os morcegos foram capturados em diferentes pontos da caverna – nos locais de ocorrência de *C. pilosa* e onde estes não ocorriam - com auxílio de um puçá, com cabo de bambu, aro de aço inoxidável e cone em tecido de nylon. Foi retirado sangue destes morcegos para esfregaços sangüíneos e para o xenodiagnóstico, no local de captura, após o que os morcegos foram sacrificados, imersos em álcool e transportados em potes plásticos até Belo Horizonte, para identificação por especialista. A fauna cavernícola, com exceção dos morcegos e triatomíneos, não foi coletada, mas registrada através de fotografias.

Uma vez que não obtivemos sucesso na colonização dos exemplares de *C. pilosa* da primeira captura, procedemos a uma segunda coleta a qual foi conduzida com metodologia idêntica à da primeira, diferindo unicamente por esta ter acontecido durante a estação chuvosa. Na segunda visita à caverna não foi coletado nenhum espécime com exceção de 44 exemplares de *C. pilosa*, 14 fêmeas, 7 machos e 23 ninfas.

Para as excursões à caverna e demais procedimentos de risco executados neste trabalho foram seguidas as normas de biossegurança determinadas pela Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ (Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ, 1998).

Os *C. lenti* foram provenientes da colônia mantida pelo Dr. Toby Vincent Barrett no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA – Manaus. Esta colônia foi iniciada em novembro de 1983, a partir de adultos e ninfas e ovos coletados no interior de uma grande árvore oca, viva, às margens do Rio Uatumã, Amazonas, Brasil. Devido ao fracasso da nossa primeira tentativa de colonização, o Dr. Barrett no cedeu, pela segunda vez, dez casais de *C. lenti*, em setembro de 2004, com os quais iniciamos a colônia que é mantida até então em nosso laboratório.

2.1.2. Colonização do *C. pilosa* e do *C. lenti*

Nossa primeira tentativa de colonização do *C. pilosa* foi a partir de 49 exemplares (12 fêmeas, 10 machos e 27 ninfas) capturados nas paredes da Caverna Boa Esperança durante a estação seca. No laboratório, os potes foram abertos para contagem dos exemplares, e mantidos em sala aclimatada ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade relativa do ar). Eram alimentados semanalmente sobre camundongos (*Mus musculus*, raça Swiss Webster), anestesiados com thiopental 0,02%, na dose de 2,5 μl por quilo de peso do camundongo. Os camundongos anestesiados eram colocados sobre o tecido de nylon que tampava o pote durante um período de cerca de 4 horas.

Os 44 exemplares de *C. pilosa* provenientes da segunda captura, foram tratados de maneira diferente no laboratório. Desta vez foram acondicionados em potes maiores, de acrílico marrom transparente, com o fundo forrado com papel de filtro e tampa de tecido de algodão preso com elástico e fita adesiva. A sanfona de cartolina foi substituída por pedaços de papel de filtro amassados até quase formarem uma esfera, o que fornecia aos barbeiros vários esconderijos e substrato para oviposição. Os camundongos Swiss Webster eram anestesiados com thiopental, imobilizados entre duas telas de nylon com trama de 1,5 mm e colocados no fundo do pote por um período de cerca de 4 horas, sendo este repasto oferecido em 3 dias alternados da semana (segundas, quartas e sextas-feiras). Os potes permaneciam dentro de caixa plástica de 50 x 35 x 30 cm, com tampa hermética, em cujo interior era mantida umidade relativa sempre superior a 80%, através de placas de petri com algodão embebido em água. As caixas eram acondicionadas em estufa ou sala aclimatada a $26 \pm 1^\circ\text{C}$.

Os *C. lenti* foram mantidos, a princípio, em potes com capacidade para 300 ml, com fundo forrado com papel de filtro e pedaços de madeira autoclavada para servir de esconderijo e substrato de oviposição para os barbeiros, e tampa de tecido de algodão preso com fita adesiva e gominha. Era oferecido, semanalmente, repasto sanguíneo em camundongos anestesiados com o mesmo protocolo que para o *C. pilosa*, com a diferença de que os camundongos eram colocados dentro do pote, ao invés de sobre a tampa. Tais potes eram mantidos em sala aclimatada ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade

relativa do ar). Assim como para o *C. pilosa*, o número de ovos na colônia diminuiu gradativamente, até a extinção desta. Daí, o protocolo foi mudado também para o *C. lenti*, sendo mantidos, até então, protocolos idênticos para as duas espécies.

2.1.3. Infecção do *C. pilosa* por tripanossomatídeos

Para constatação de infecção por tripanossomatídeos nos morcegos foi feito xenodiagnóstico com ninfas de terceiro estágio de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 oriundos de colônia mantida no Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas do Centro de Pesquisas René Rachou. As ninfas foram levadas até a caverna e postas para se alimentar nos morcegos imobilizados em uma de nossas mãos (as asas seguras atrás do polegar e dos dedos indicador, anelar e mínimo, enquanto as costas do morcego ficavam apoiadas na palma da mão e dedo médio), a outra mão (ou o polegar e o dedo mínimo) segurando o pote contendo as dez ninfas (figura 2). Após 30 minutos de exposição, os potes com barbeiros foram retirados, e foi coletada uma gota de sangue da asa do morcego para esfregaço sanguíneo, o qual foi fixado com metanol no local e corado com Giemsa no laboratório, posteriormente. As lâminas foram examinadas ao microscópio óptico a um aumento de 1000X, com objetiva de imersão. Os morcegos utilizados foram soltos no mesmo ponto de captura imediatamente após a coleta da gota de sangue. Os barbeiros foram transportados nos mesmos potes utilizados para repasto sobre os morcegos, acondicionados em caixa plástica com tecidos de algodão umedecidos, depois mantidos no laboratório em sala aclimatada ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade relativa do ar). O conteúdo intestinal dos barbeiros foi extraído por compressão abdominal, 34 a 45 dias depois do repasto, diluído em solução salina (NaCl 0,89%) e examinado entre lâmina e lamínula ao microscópio óptico, aumento de 160X, para visualização de tripanossomatídeos. Em caso de resultado positivo, o conteúdo intestinal era extraído por compressão abdominal, de forma que as gotas de fezes caíam diretamente nos tubos de cultura com 1ml de LIT (Liver Infusion Triptose) (anexo 1). Este material era homogeneizado e transferido para tubos de cultura com meio NNN (McNeal, Novy e Nicolle) (anexo 1) o qual consiste de uma fase sólida (ágar-sangue) e uma fase líquida (meio LIT), acrescido de 10% de soro fetal bovino inativado em banho-maria a 56°C por 30 minutos. Todo este procedimento foi executado no ambiente estéril de capela de fluxo laminar. As culturas foram mantidas em estufa a 26°C , examinadas e repicadas semanalmente, tendo sido mantidas por até cinco meses.

Nove exemplares de *C. pilosa* tiveram seu conteúdo intestinal examinado para constatação de infecção por tripanossomatídeos com o mesmo protocolo utilizado para os *R. prolixus*. Os tripanossomatídeos isolados foram mantidos em meio NNN, com repiques semanais, por até cinco meses.



Figura 2: Xenodiagnóstico do morcego: maneira de contenção dos morcegos enquanto os *R. prolixus* se alimentavam sobre eles.

Na ocasião do isolamento de tripanossomatídeos do *C. pilosa*, o conteúdo intestinal positivo de um dos barbeiros foi diluído em solução salina 0,89% e inoculado intraperitonealmente (inóculo cego) em cinco camundongos (*Mus musculus*, raça Swiss Webster) de cerca de 25 gramas. Foi feito o acompanhamento da parasitemia a partir do terceiro dia do inóculo até o 35º dia, através de exame a fresco de gota de sangue retirada da ponta da cauda, sendo examinados cerca de 100 campos, entre lâmina e lamínula ao microscópio óptico, aumento de 160X, segundo metodologia de Brener (1961).

Foram também inoculados camundongos C3H, isogênicos, por serem mais susceptíveis ao *T. cruzi* do que a raça Swiss Webster (Bloom & Barry, 1979; Tarleton et al., 1981). Cinco camundongos C3H de cerca de 13 gramas foram inoculados intraperitonealmente com 0,5 ml de solução salina contendo cerca de 50.000 tripomastigotas retirados de um dos tubos de cultura iniciada a partir de tripanossomatídeos isolados do conteúdo intestinal de *C. pilosa*. Estes camundongos tiveram a parasitemia acompanhada por 25 dias através de exame de sangue a fresco, da mesma forma que para os camundongos suíços. Ao 25º dia de infecção, os camundongos foram sacrificados e seu sangue semeado em tubos de cultura com meio NNN. Os tubos foram examinados a partir do 2º dia da semeadura, e a hemocultura mantida por dois meses.

2.2. Estudos de morfologia clássica

Para os estudos de morfologia de *C. pilosa* foram utilizados 39 indivíduos adultos, 22 fêmeas e 17 machos, sendo 21 fêmeas e 17 machos da geração parental, e 1 fêmea da primeira geração. Os indivíduos utilizados neste estudo não foram sacrificados – eram retirados já mortos da colônia e montados em alfinete entomológico. Para os estudos de morfologia da outra espécie do gênero, *C. lenti*, foram utilizados 34 exemplares adultos, 19 fêmeas e 15 machos, montados em alfinete entomológico. Estes espécimes estão depositados na Coleção de Triatomíneos do LATEC – CPqRR – FIOCRUZ, sob os números:

C. pilosa (fêmeas): 2143, 2144, 2145, 2149, 2150, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438.

C. pilosa: machos: 2146, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2454, 2453.

C. lenti (fêmeas): 2210, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2482, 2483, 2484, 2478, 2479, 2480, 2481.

C. lenti (machos): 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2485, 2486, 2487.

Para as observações e medições, foi utilizado o sistema computadorizado de imagens KS/300, modelo Kontron Eletronic GMBH, marca Carl Zeiss.

2.3. Morfometria

Nos estudos de morfometria o *C. pilosa* foi comparado com o *C. lenti*. Foram utilizados 30 exemplares de cada espécie (15 machos e 15 fêmeas), mortos e montados em alfinete entomológico. Os *C. pilosa* foram todos de geração parental. Os exemplares de *C. lenti*, são de colônia mantida desde 1983 e de geração desconhecida. O tamanho da amostra foi determinado segundo metodologia de Dujardin, que estipula que o número de indivíduos de cada grupo comparado deve ser, no mínimo, duas vezes e meia maior que o número de medições (Dujardin et al., 1998). Estes espécimes estão depositados na Coleção de Triatomíneos do LATEC – CPqRR – FIOCRUZ, sob os números:

C. pilosa (fêmeas): 2143, 2144, 2145, 2149, 2150, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431.

C. pilosa: machos: 2146, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453.

C. lenti (fêmeas): 2210, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2482, 2483, 2484.

C. lenti (machos): 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2485, 2486, 2487.

Utilizou-se, para a obtenção das medidas, o sistema computadorizado de análise de imagens KS 300, modelo Kontron Eletronic GMBH, marca Carl Zeiss, aumento de 32X.

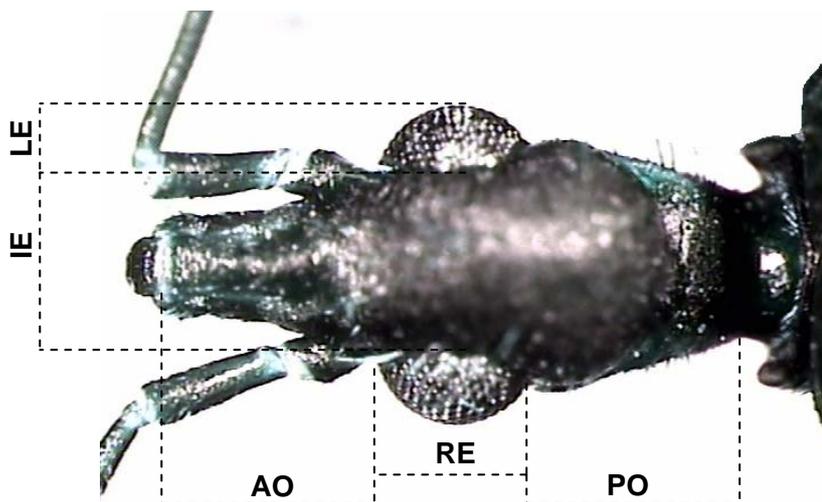


Figura 3: Cabeça de *C. pilosa*, em vista dorsal, com indicações das medidas tomadas para as análises morfométricas. AO= distância anteocular; RE= comprimento do olho; PO= distância pós-ocular; IE= distância interocular; LE= largura do olho.

Foram realizadas cinco medições da cabeça em vista dorsal, a saber: comprimento das regiões anteocular (AO), pós-ocular (PO) e do olho (RE), largura do olho (LE) e distância interocular (IE); e uma medição da cabeça em vista lateral, correspondente a relação do comprimento da cabeça pela altura (WE/HC) (figuras 3 e 4).

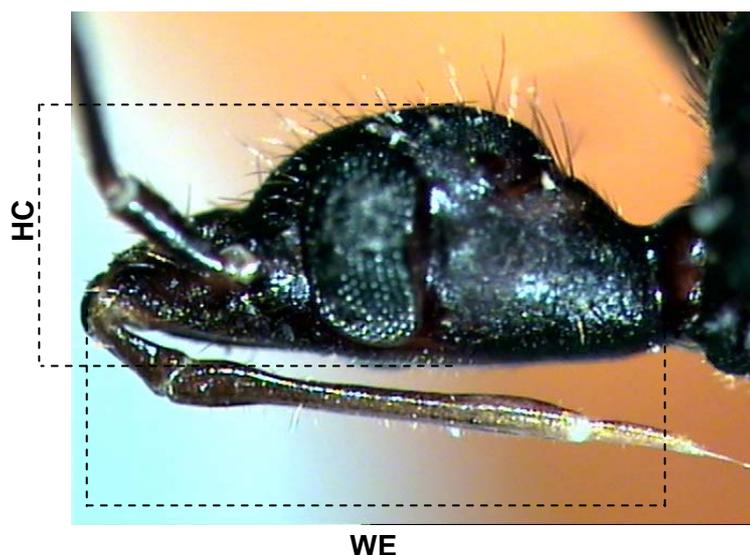


Figura 4: Cabeça de *C. pilosa*, em vista lateral, com indicações das medidas tomadas para as análises morfométricas. WE= comprimento da cabeça; HC= altura da cabeça. Foi utilizado nas análises o valor obtido pela relação WE/HC.

As medidas obtidas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) pelo teste de Tukey, com o programa Minitab release 13.20, demonstrando a sua distribuição normal. O mesmo programa foi ainda utilizado para a análise das variâncias dos grupos estudados (espécies e sexos), comparando as médias dos valores das medições para cada caráter. Os valores das medidas foram transformados em logaritmos naturais e submetidos às análises univariada (perfil de Guillaumin) (Guillaumin, 1972) e multivariada (análise dos componentes principais e análise discriminante). O perfil de Guillaumin permite a comparação das médias de cada caráter, de cada grupo, fornecendo informações acerca do tamanho geral de um grupo em relação a outro. Para esta análise univariada foi utilizado o programa Microsoft Office Excel 2003. A análise multivariada (Dujardin et al., 1998) foi realizada através dos programas NTSYS-pc (Rohlf, 1998) e JMP (SAS Institute, 1995). Para tal, foi feita a análise dos componentes principais comuns (ACPC), que é um método que examina as diferentes matrizes de variância-covariância, fazendo uma combinação de todas as variáveis medidas, originando novas variáveis ou fatores. Foi feita a análise dos componentes principais e análise discriminante. Os indivíduos das duas espécies e sexos foram analisados para o primeiro componente principal (CPC1), que é uma variável de tamanho global. Uma outra forma de análise é a que considera os dois primeiros componentes principais comuns (CPC1 e CPC2), e é apresentada em um mapa fatorial onde cada polígono representa um grupo. Esta análise fornece informações acerca do tamanho, a leitura devendo ser feita sobre o eixo de x (primeiro componente principal). Também foi

realizada uma análise discriminante que permite um reagrupamento de todos os indivíduos semelhantes entre si e que é realizada sobre os componentes principais comuns, exceto o primeiro (CPC1). A principal diferença entre a análise dos componentes principais e a análise discriminante é que a primeira compara indivíduos, enquanto a última compara grupos. Nesta, as novas variáveis são combinações lineares da totalidade das variáveis iniciais. Seu objetivo é o de discriminar os grupos pré-estabelecidos pelo observador, com base não só no seu tamanho, como também na sua conformação.

2.4. Caracterização do ambiente natural do *C. pilosa*

Para a descrição geológica do ambiente da caverna e da área externa associada, contamos com a colaboração do Dr. Maurício Antônio Carneiro, professor adjunto no Departamento de Geologia da Universidade Federal de Ouro Preto. Informações adicionais a este estudo foram retiradas do Projeto RADAMBRASIL, 1981 (Brasil, 1981). As medidas de altitude, latitude e longitude foram tomadas com aparelho GPS marca Garmin modelo E-trex.

A definição do tipo de cobertura vegetal da área externa adjacente à caverna foi feita através de observação direta, complementada por dados retirados do Projeto RADAMBRASIL, 1981 (Brasil, 1981).

As médias anuais de temperatura e a pluviosidade foram retiradas do Projeto RADAMBRASIL, 1981 (Brasil, 1981). Os dados de clima foram obtidos através de medições instantâneas da temperatura e umidade relativa do ar em diversos pontos do interior da caverna e no ambiente externo, próximo às aberturas, no período de seca (julho) e no período chuvoso (novembro). Para as medições instantâneas foi utilizado um termo higrômetro digital de máxima e mínima, marca Hygrotherm, fabricante TFA, Alemanha, com faixas de medição de temperatura de -10°C a 60°C, 10% a 99% para umidade relativa do ar, resolução de $\pm 0,1^\circ\text{C}$ e 1%UR, precisão de $\pm 1^\circ\text{C}$ e $\pm 5\%$.

Na ocasião da primeira visita à caverna, que se deu em meados de julho (estação seca), tomamos medidas instantâneas de temperatura e umidade no interior da cavidade, em uma área afastada das aberturas externas, aparentemente sem luz, mais especificamente onde foram capturados 21 adultos e 28 ninfas de *C. pilosa*, correspondentes aos pontos 2 e 4 do croqui (figura 24). Tais medidas foram tomadas durante dois dias e uma noite, sendo que, para a medição dos extremos de temperatura e umidade noturnos, o termo higrômetro foi deixado dentro da caverna durante a noite e as medições computadas na manhã seguinte. Tomamos também medidas da temperatura e umidade nas duas aberturas da caverna para o meio externo: uma logo acima da abertura que nos serviu como entrada, a 504 m de altitude, outra na abertura

no lado sudoeste da cavidade por onde sai o riacho (ponto 7 do croqui, figura 24), a 478 m de altitude.

Na segunda visita à caverna, a qual se deu durante a estação chuvosa, foram realizadas medições instantâneas de temperatura e umidade com termo higrômetro digital, durante o dia, em cinco diferentes pontos da caverna, a saber: entrada sul, salão do riacho, salão negativo, salão do guano e galeria positiva, correspondentes aos pontos 7, 5, 6, 4 e 2 do croqui (figura 24), respectivamente.

Tabela 1: Localização e tempo de permanência dos sensores HOBO 08 para medidas de temperatura e umidade.

Sensor	Localização	Colocação (29/11)	Retirada (01/12)
1; 2	Pontos 1 e 2: abertura da caverna, distante do riacho, que serviu de entrada	13:00h	14:35h
3	Ponto 3: entrada da galeria com barbeiros	13:30h	14:05h
5	Ponto 5: galeria com barbeiros	13:45h	14:55h
6	Ponto 6: galeria com barbeiros	14:05h	13:45h
7	Ponto 7: galeria com barbeiros	14:20h	12:45h
8	Ponto 8: galeria com barbeiros	14:35h	11:50h

Nesta mesma ocasião foram colocados sensores para temperatura e umidade (modelo HOBO H8, Onset Computer Corporation, EUA), com faixas de medição de -20 a 60°C e 5 a 95% UR, precisão de $\pm 1^\circ\text{C}$ e $\pm 5\%$, em diferentes pontos do interior da cavidade, programados para efetuar medições a cada 15 minutos. Os locais e horários de colocação e retirada dos sensores constam da tabela 1. Os dados de temperatura e umidade relativa do ar obtidos pelos sensores HOBO 08 foram computados pelo programa BoxCar 4.3 e apresentados sob a forma de gráficos. As médias de temperatura e umidade foram calculadas com o programa Microsoft Office Excel.

Para o mapeamento e determinação da fauna da caverna contamos com a colaboração do espeleólogo Rodrigo Lopes Ferreira, professor de Paleontologia e Evolução na Pontífice Universidade Católica de Minas Gerais. As medidas da caverna foram tomadas com trena a laser modelo DLE 150, marca Bosch, Alemanha, com precisão de ± 2 mm em medições de 0,3 a 30 metros. O espaço da caverna foi

registrado sob a forma de croqui, onde foram assinaladas as coleções de água, os detritos animais e vegetais, os pontos de captura do *C. pilosa* e as aberturas para o ambiente externo. Os espécimes constituintes da fauna foram fotografados e identificados até família e espécie, quando possível, pelo espeleólogo. Os táxons cuja identificação específica não foi possível foram coletados (um exemplar de cada grupo), e serão submetidos posteriormente à análise de especialistas. Os morcegos foram identificados por Rodrigo A. F. Redondo, do Laboratório de Genética e Evolução, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Minas Gerais.

Para a descrição do contexto geológico da caverna contamos com a colaboração do Dr. Maurício Antônio Carneiro, professor adjunto do Departamento de Geologia da Universidade Federal de Ouro Preto.

3. RESULTADOS

3. Resultados

3.1. Aspectos biológicos do *C. pilosa* em laboratório

3.1.1. Colonização do *C. pilosa* e do *C. lenti*

A primeira tentativa de colonização do *C. pilosa* e do *C. lenti* fadou em fracasso. Os espécimes que conseguiram se alimentar o faziam até a repleção e não demonstravam sinais de alterações fisiológicas (mudança de mobilidade, por exemplo), mas o número de ovos foi diminuindo até cessar a oviposição e as duas colônias se extinguíram. A segunda tentativa de colonização - quando foi mudada a maneira de imobilização dos camundongos para o repasto, os barbeiros não eram mais obrigados a se alimentar através do tecido de nylon ou algodão, foram oferecidas maiores possibilidades de abrigo e oviposição, e a umidade mantida constantemente alta, entre 80 e 95% – foi bem sucedida. As colônias ainda são mantidas, crescendo. Não foi possível fazer um estudo preciso do ciclo biológico, devido às dificuldades de colonização, e ao fato de os indivíduos morrerem facilmente quando manipulados por muito tempo e/ou mantidos em isolamento. Uma observação notável foi a rapidez de desenvolvimento, um ciclo, de ovo a ovo, se completando em menos de dois meses.

Os Cavernicolini põe ovos colados ao substrato – madeira, papel ou, no caso do *C. pilosa*, nas pedras que formam as paredes da Caverna Boa Esperança (figura 5). Fato interessante observado foi a postura de ovos, pelo *C. pilosa* cimentados na linha dorsal de um camundongo anestesiado, juntamente com fezes, a certa distância, mas sempre na linha dorsal. As fotos da figura 6 ilustram o observado. Vale ressaltar que, em outras ocasiões, fezes foram depositadas sobre o camundongo anestesiado, mas não cimentadas nesta disposição, próximo aos ovos.

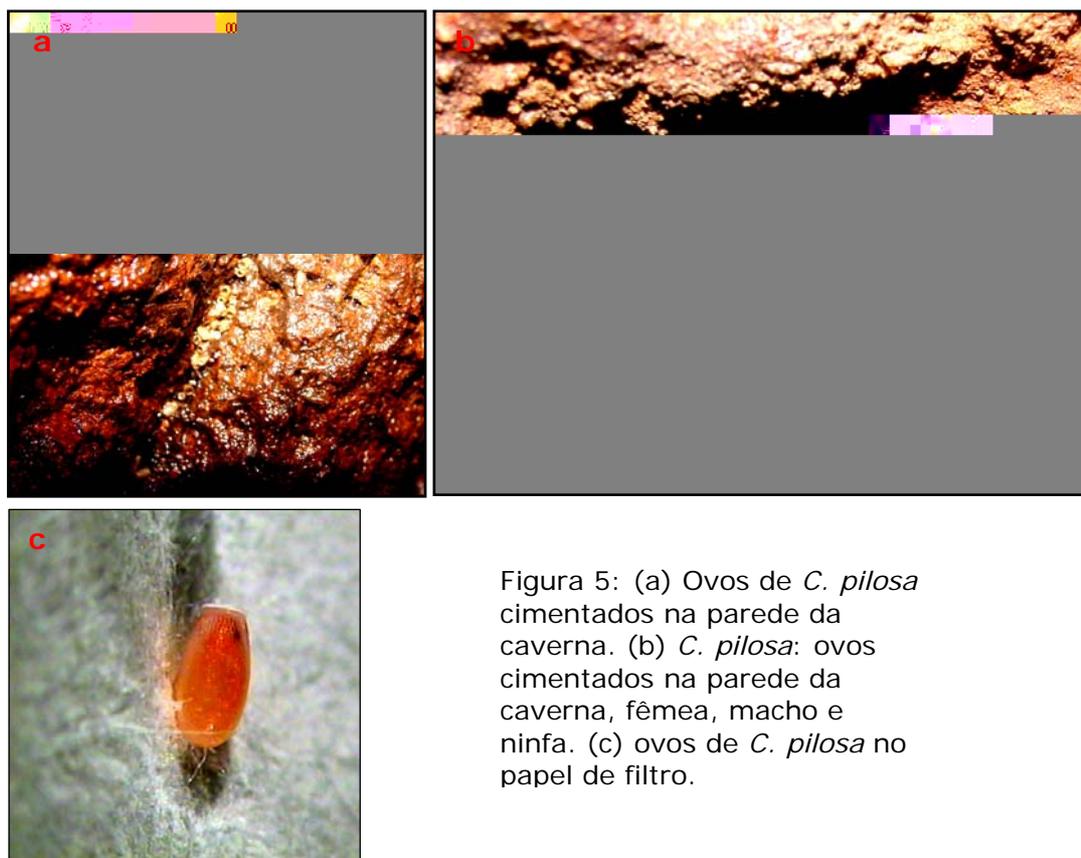


Figura 5: (a) Ovos de *C. pilosa* cimentados na parede da caverna. (b) *C. pilosa*: ovos cimentados na parede da caverna, fêmea, macho e ninfa. (c) ovos de *C. pilosa* no papel de filtro.



Figura 6: Ovo e fezes cimentados por uma fêmea de *C. pilosa* no pêlo de camundongo anestesiado e oferecido para repasto sanguíneo.

3.1.2. Infecção do *C. pilosa* por tripanossomatídeos

Não foi encontrado nenhum tripanossomatídeo nos esfregaços sanguíneos feitos com sangue dos morcegos. Oito dos nove morcegos submetidos ao xenodiagnóstico (89%) apresentaram tripanossomatídeos tanto no exame a fresco do conteúdo intestinal dos *R. prolixus* quanto no cultivo realizado a partir deste material.

Assim como no caso dos morcegos, oito em nove *C. pilosa* estavam positivos, apresentando tripanossomatídeos nas fezes. A cultura destes tripanossomatídeos e daqueles isolados dos morcegos por xenodiagnóstico teve, a princípio, crescimento exponencial, decrescendo após dois meses e, em cinco meses, nenhum tripanossomatídeo foi encontrado nos tubos de cultura. As tentativas de cultivo em LIT, sem a fase sólida, fadaram em fracasso.

Os camundongos inoculados, tanto os da raça Swiss Webster quanto os C3H, não apresentaram parasitemia patente ao exame de sangue a fresco. A hemocultura feita a partir do sangue dos camundongos C3H com 25 dias de infecção apresentou resultado positivo em todos os tubos, e tal cultura foi mantida por três meses.

Aparentemente os *Trypanosoma* isolados, eram morfológicamente semelhantes ao *T. (S.) cruzi*, apresentando, entretanto, variações de tamanho e mobilidade. Alguns indivíduos eram mais largos, ou maiores no tamanho total, estes últimos apresentando movimentos vermiculares bem mais lentos. Considerando-se o comportamento destes tripanossomatídeos em cultura, a ausência de parasitemia e quaisquer sintomas que indicassem patologia nos camundongos inoculados (a despeito do fato destes estarem infectados, como demonstrado na hemocultura), possivelmente este é o *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi marinkellei* (Baker et al., 1978).

3.2. Estudos morfológicos

3.2.1. Redescrição de *Cavernicola pilosa* Barber, 1937.

Insetos pequenos, machos com comprimento de $11,25 \pm 0,35$ mm e fêmeas com $12,75 \pm 1,06$ mm. Corpo coberto de cerdas longas, com exceção da membrana dos hemélitros, conexivo dorsal, 3^o e 4^o segmentos antenais, porção central dos esternitos II a VI, 3^o segmento do rostro e superfície interna do 1^o e 2^o segmentos do rostro e linha mediana ventral da cabeça onde se apóia o rostro.

Tegumento liso no pronoto e abdome, com discreta granulação na cabeça e rugosidade na meso e metapleura; coloração castanho escura, exceto no meso e metasterno, coxa, trocânteres, área central dos esternitos II a VI, manchas no pronoto, algumas áreas do cório e veias das membranas dos hemélitros, que são amarelo escuro.

Cabeça fusiforme em vista dorsal. Em vista lateral, muito convexa dorsalmente: reta na superfície ventral e muito curva na região mediano-dorsal, sendo a altura cerca da metade do comprimento total (relação do comprimento total e a altura = 1: 0,45). Região antecular maior ou do mesmo comprimento que a pós-ocular (relação de tamanho entre as regiões ante e pós-ocular = 1: 0,96).

Tubérculo antenífero tocando basalmente o bordo anterior dos olhos, colocado no terço ventral da cabeça, em vista lateral.

Antenas longas. Primeiro segmento antenal tão espesso quanto o tubérculo antenífero, dilatado no ápice e quase atingindo o ápice da cabeça. O 2º segmento mais delgado, cerca de três vezes maior do que o 1º, os demais segmentos aumentando e se afinando progressivamente até o 4º, o qual é mais de quatro vezes maior que o 1º segmento.

Olhos pequenos (relação entre o comprimento da cabeça e o comprimento dos olhos, em vista dorsal = 1: 0,23). Olhos não muito largos (relação entre o comprimento e a largura do olho = 1: 0,46). Colocados na linha mediana da cabeça, não ultrapassando a superfície ventral, quando em vista lateral. Muito separados em vista dorsal (relação entre a distância intra-ocular e a largura de um olho = 1: 0,34). Não muito separados em vista ventral (relação entre a distância intra-ocular e a largura de um olho = 1: 0,59).

Ocelos muito pequenos, inconspícuos, situados ao nível do tegumento, com superfície plana, brilhante, sobre ou imediatamente atrás da sutura dorsal.

Rostro delgado, reto, achatado dorsoventralmente e revestido de cerdas curtas e longas. Primeiro segmento muito curto, não atingindo o nível do ápice do tubérculo antenífero; 2º segmento muito longo, quase atingindo o nível da base da cabeça; 3º segmento curto, não atingindo a base das coxas anteriores (relação entre os segmentos do rosto = 1: 3,3: 1). Presença de conexão membranosa entre o 1º e 2º, e entre o 2º e o 3º segmentos.

Clípeo subtriangular, com superfície convexa, muito alargado basalmente, representando mais da metade da largura total do ápice da cabeça. Ultrapassando as genas quando em vista dorsal.

Gula convexa, com constrição na porção mediana que confere formato de ampulheta.

Genas obsoletas, terminando bem antes do ápice do clipeo.

Jugas obsoletas, sem saliência no ápice.

Sutura dorsal arqueada estendendo-se de um olho a outro, localizada após a curvatura dorsal, no terço posterior da cabeça.

Pescoço liso, castanho escuro, sem manchas.

Pronoto trapezoidal, convexo, com acentuada elevação anteriormente. Mais largo que longo (relação entre a largura e o comprimento = 1: 0,73). Laterais arredondadas, com estreitamento no limite entre os lobos anteriores e o posterior. Pronoto menor que a cabeça (relação comprimento da cabeça e do pronoto = 1: 0,93). Tegumento castanho escuro, liso, com manchas claras características nos lobos anteriores. Coberto por cerdas longas.

Lobos anteriores convexos, separados por sulco profundo na linha mediana. Tegumento castanho escuro com manchas castanho claro formando desenho característico, liso, coberto por cerdas longas. Ausência de processos como tubérculos ou espinhos. Ângulos ântero-laterais arredondados no ápice, dirigidos para a região ventral.

Lobo posterior com tegumento liso, castanho escuro, coberto por cerdas longas. Separado dos lobos anteriores por sulco transversal bem pronunciado. Superfície plana, com 1 + 1 carenas sub-medianas que atingem o bordo posterior, marginado. Húmeros com elevação arredondada acentuada.

Escutelo triangular, com duas cristas muito elevadas ao longo das laterais, se encontrando imediatamente antes do ápice. Processo apical muito pequeno, obsoleto, arredondado na ponta, quase perpendicular à superfície dorsal do abdome. Tegumento negro, liso, coberto por cerdas longas.

Ausência de sulco estridulatório ou depressão onde se alojaria o rostro, este mal ultrapassando o limite anterior do prosterno.

Propleuras com o mesmo aspecto do pronoto e sem relevo. Meso e metapleuras com tegumento castanho escuro, com estrias e poucas cerdas longas.

Hemélitros cobrindo todo o abdome, exceto a genitália e o conexivo.

Cório castanho enfumaçado, com duas manchas amarelo escuro de bordas indistintas, uma lateral a toda extensão da sutura claval e outra, menor, anterior e sub-lateral. Venação indistinta. Coberto de pêlos longos e esparsos.

Clavo membranoso, glabro, castanho enfumaçado.

Membrana castanho enfumaçado, glabra, com conspícuas nervuras amarelo escuro. Nenhum dos exemplares examinados apresentou a pequena nervura transversa da célula interna originada da veia mediana citada na descrição de Barber, 1937.

Patas alongadas, revestidas de cerdas curtas e pelos longos, com os fêmures mais dilatados do que os outros segmentos, sendo o 1º par levemente mais curto e dilatado que os outros. Relação entre o comprimento e a largura do 1º, 2º e 3º par de fêmures = 1: 0,23; 1: 0,20 e 1: 0,17, respectivamente. O 3º par de patas tem as tíbias mais longas do que os fêmures, especialmente nos machos (relação de comprimento da tíbia e do fêmur = 1: 0,70 nas fêmeas e 1: 0,81 nos machos). Ausência de dentes ou espinhos nos fêmures e de fosseta esponjosa nas tíbias dos dois sexos. Tarsos longos, o 1º segmento mais curto que 2º e o 3º, estes com comprimentos quase iguais (relação de tamanho dos segmentos tarsais = 1: 1,85: 1,54). Presença de duas garras fortes no ápice do 3º artículo tarsal. Tegumento castanho escuro com exceção das coxas, trocânteres e bases dos fêmures, que são castanho claro.

Abdome ventral com tegumento castanho escuro, com área amarelada mediana, coberto de cerdas curtas e algumas longas. Superfície convexa, com seis segmentos visíveis, cada um com um par de espiráculos pequenos, dispostos um pouco afastados da margem lateral, à mesma distância do limite de um segmento e outro.

Conexivo dorsal estreito, não visível ventralmente. Nas fêmeas, interrompido dorsalmente pela genitália externa triangular, coberta de cerdas curtas e longas, fendida longitudinalmente no lado ventral.

Nos machos, não interrompido pela genitália externa, constituída pelo 8º segmento e pelo pigóforo globoso (9º segmento).

A genitália masculina externa é constituída pelos 8º e 9º segmentos abdominais. O 8º segmento é representado pelo 8º esternito, larga placa quitinizada com bordo apical ondulado, telescopado na base do pigóforo e pelo 8º tergito, representado por larga faixa membranosa.

O pigóforo é globoso, quitinizado, com numerosas cerdas longas ventralmente. Um par de parâmeros curtos, simétricos, pouco torcidos, com ápice agudo e destacado e projeção apical estão implantados na sua parte dorsal. O processo mediano do pigóforo apresenta o ápice chanfrado ou bifurcado, e a base implantada no pigóforo.

O falo compõe-se de aparelho articular e edeago.

As placas basais, constituintes do aparelho articular, são constituídas por dois braços divergentes, com processo capitato em forma de campânula ou cogumelo na extremidade proximal. A convergência apical das placas basais constitui a extensão mediana da placa basal, de tamanho muito reduzido, fundida à placa basal, da qual não se distingue. O processo gonóporo fica na face interna da extensão mediana das placas basais. Não há ponte das placas basais.

O edeago, globoso, é constituído do falosoma, ventral, e o endosoma, membranoso, envolvido pela conjuntiva.

O falosoma é uma lâmina quitinizada, estreita, de formato trapezoidal, que ocupa a parte apical do edeago. A conjuntiva apresenta uma pequena expansão, ímpar, o processo da conjuntiva. Não há processo do endosoma.

A genitália feminina externa é do tipo "placas genitais", constituída de modificações no 8^o e 9^o esternitos, que, fendidos longitudinalmente, formam 2 + 2 pares de placas: os gonocoxitos e as gonapófises. Os gonocoxitos dos 8^o e 9^o segmentos têm o ápice afilado.

3.2.2. Redescrição da tribo e do gênero

Tribo Cavernicolini Usinger, 1944.

Insetos pequenos, com, no máximo, 13 mm de comprimento. Corpo ovóide, não achatado. Tegumento liso, com áreas discretamente granulosas ou rugosas, coberto de pelos longos e finos.

Cabeça fusiforme ou globosa em vista dorsal, fortemente convexa superiormente em vista lateral. Região anteocular com comprimento menor, igual ou pouco maior que a pós-ocular.

Genas obsoletas, terminando bem antes do ápice do clipeo.

Tubérculos anteníferos sem projeção apical em forma de espinho. Ocelos pequenos, colocados ao nível do tegumento sobre ou atrás de distinta sutura arqueada situada no meio da região pós-ocular.

Veias do cório pouco evidentes.

Patas alongadas, revestidas de cerdas curtas e pelos longos, com os fêmures mais dilatados do que os outros segmentos, sendo o 1^o par levemente mais curto e dilatado que os outros. Ausência de dentes ou espinhos nos fêmures e de fosseta esponjosa nas tíbias dos dois sexos. Tarsos longos, nas patas anteriores correspondendo à quase metade do comprimento da tíbia.

Aparelho articular do falo nos machos sem ponte das placas basais.

Gênero *Cavernicola* Barber, 1937.

Insetos pequenos, com comprimento total de $9,39 \pm 0,32$ mm a $12,75 \pm 1,06$ mm. Tegumento castanho a negro, com marcações amareladas, revestido de pelos longos, finos e eretos.

Cabeça oval, fortemente convexa dorsalmente, com comprimento quase igual ao do pronoto, podendo ser pouco maior ou pouco menor. A largura da cabeça, tanto lateral quanto dorsalmente (incluindo os olhos), é quase a metade do comprimento. Região antecular menor, igual ou pouco maior que a região pós-ocular. Genas obsoletas, terminando bem antes do ápice do clipeo. Jugas obsoletas, sem saliência no ápice. Olhos pequenos, seu comprimento representando menos de um quarto do comprimento da cabeça, em vista dorsal, não ultrapassando a superfície ventral, em vista lateral. Ocelos pequenos, inconspícuos, situados ao nível do tegumento, com superfície brilhante, plana ou convexa, sobre ou atrás da sutura arqueada, localizada dorsalmente, no meio da região pós-ocular. Tubérculos anteníferos implantados muito próximo à borda anterior dos olhos. Antenas longas, com quatro segmentos, o primeiro muito pequeno, quase atingindo o ápice da cabeça, tão espesso quanto o tubérculo antenífero e dilatado no ápice. Os demais segmentos se afinam e aumentam progressivamente até o quarto, que é mais de quatro vezes maior que o primeiro segmento. Rostro reto, delgado, achatado dorsoventralmente, revestido de cerdas curtas e longas, com três segmentos, sendo o primeiro e o terceiro do mesmo tamanho e quatro vezes menores que o segundo, não atingindo a base das coxas anteriores.

Pronoto trapezoidal, mais largo que longo, convexo, em acentuado declive anteriormente, laterais arredondadas. Com sulco profundo na linha mediana separando os dois lobos anteriores, e um sulco transversal bem pronunciado separando os lobos anteriores do lobo posterior. Lobo posterior com superfície plana, 1+1 carenas submedianas que atingem o bordo posterior, marginado e ângulos humerais arredondados. Sem espinhos ou tubérculos no disco. Ausência de sulco estridulatório ou depressão onde se alojaria o rostro, este mal ultrapassando o limite anterior do prosterno. Escutelo mais largo que longo, com processo apical de forma variada.

Abdome com tegumento castanho escuro a negro, com áreas amareladas, coberto de cerdas curtas e algumas longas. Superfície ventral convexa, com seis segmentos visíveis, cada um com 1 par de espiráculos pequenos, dispostos um pouco afastados da margem lateral, à mesma distância do limite de um segmento e outro. Conexivo estreito, coberto de pêlos curtos, inconspícuo ventralmente. Hemélitros cobrindo todo o abdome, exceto a genitália e o conexivo. Venação nítida na membrana, indistinta no cório. Clavo membranoso, glabro, castanho a negro, enfumaçado. Nenhum dos exemplares de *C.*

pilosa examinados apresentou a pequena nervura transversa da célula interna originada da veia mediana.

Patas alongadas, relativamente fortes, com os fêmures sem dentes ou espinhos, distintamente mais dilatados do que os outros segmentos, sendo os fêmures do 1º par de patas levemente mais curtos e dilatados que os outros; tíbias sem fosseta esponjosa nos dois sexos, as tíbias do terceiro par mais longas que os fêmures, especialmente nos machos.

Genitália masculina externa com falosoma estreito, sub-retangular ou trapezoidal, aparelho articular sem ponte da placa basal e extensão mediana da placa basal de tamanho muito reduzido, fundida à placa basal, da qual não se distingue.

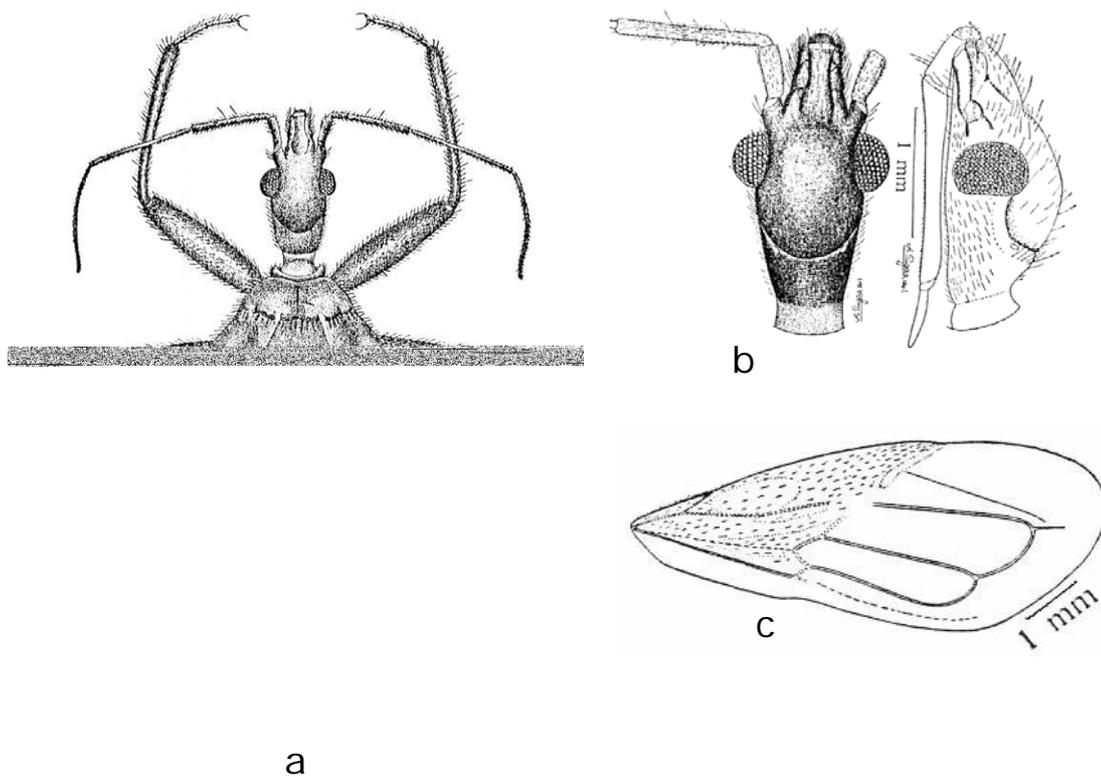


Figura 7: a: *C. pilosa* macho. Observa-se nervura anômala na membrana do hemélitro; b: cabeça em vistas dorsal e lateral; c: hemélitro normal. (Retirado de Lent & Jurberg, 1969).

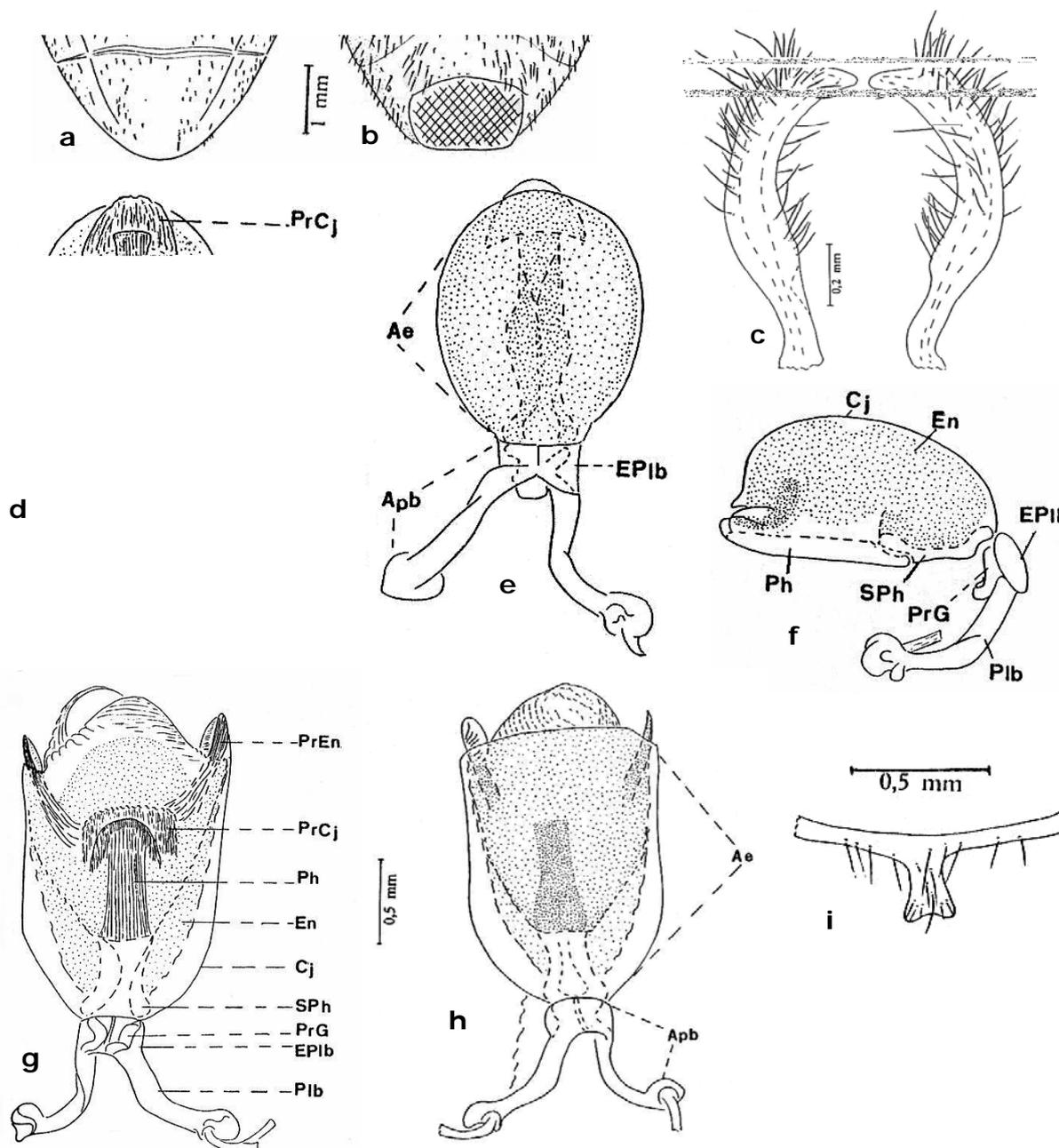


Figura 8: *C. pilosa*, Genitália masculina, retirado de Lent & Jurberg, 1969. (a): porção final do abdome em vista dorsal; (b) porção final do abdome em vista ventral; (c) parâmeros; (d) falo, vista ventral; (e) falo, vista dorsal; (f) falo, vista lateral; (g) falo distendido, vista ventral; (h) falo distendido, vista dorsal; (i) processo mediano do pigóforo, vista ventral. Ae = aedeagus, Apb = aparelho articular, Cj = conjuntiva, En = endossoma, Eplb = extensão mediana da placa basal, M = membrana, Ph = falosoma, Pib = placa basal, PrC = processus capitati, PrCj = processo da conjuntiva, PrEn = processo do endosoma, PrG = processus gonopori, SPh = suporte do falosoma. As figuras g à h estão na mesma escala.

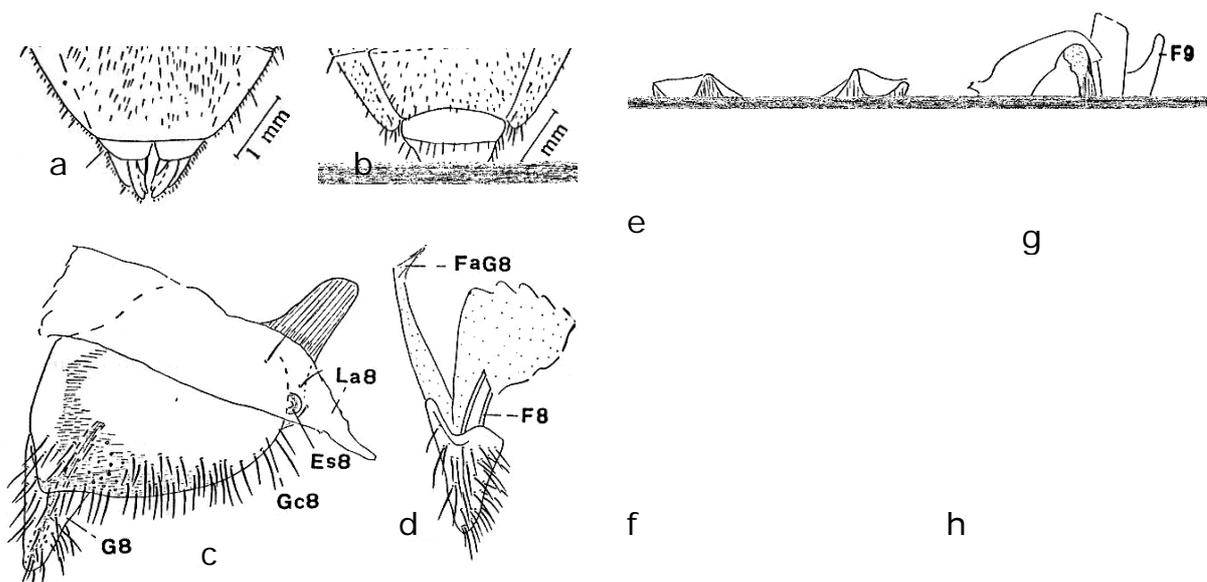


Figura 9: *C. pilosa*, Genitália externa feminina, retirado de Lent & Jurberg, 1969. (a) porção final do abdome em vista ventral; (b) porção final do abdome em vista dorsal; (c) gonocoxito e gonapófise do 8º segmento; (d) gonapófise do 8º segmento; (e) e (f): gonocoxito do 9º segmento, vistas interna e interna; (g) e (h): gonapófise do 9º segmento. Es8 = estigma do 8º segmento; F8 e F9: fibulae anterior e posterior; FaG8 = folheto conectivo anterior da gonapófise 8; FpG9 = folheto conectivo posterior da gonapófise 9; G8 e G9 = gonapófises dos 8º e 9º segmentos; Gc8 e Gc9 = gonocoxito dos 8º e 9º segmentos; La8 = laterotergito 8. Figuras (c) à (h) na mesma escala.



Figura 10: *C. pilosa* em vista dorsal (a) e ventral (b).



Figura 11: *C. lenti* em vista dorsal (a) e ventral (b).



Figura 12: Cabeça de *C. pilosa* mostrando a sutura arqueada e o ocelo.

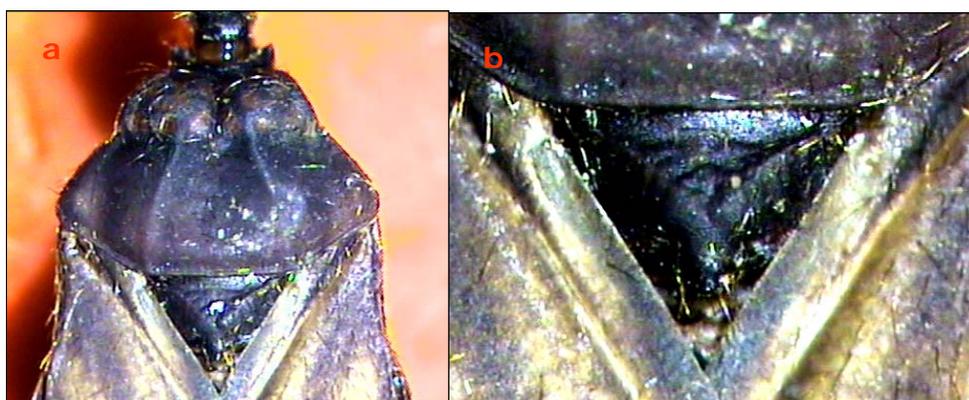


Figura 13: Pronoto (a) e escutelo (b) de *C. pilosa*.



Figura 14: Prosterno de *C. pilosa*, sem o sulco estridulatório.

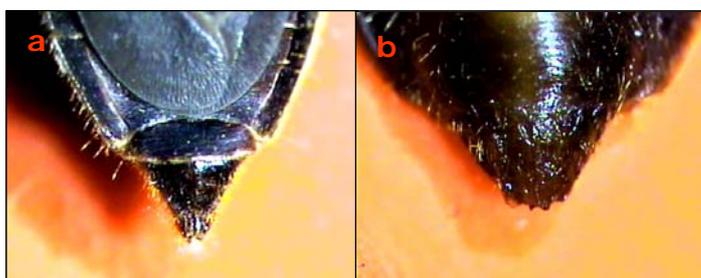


Figura 15: Porção distal do abdome da fêmea de *C. pilosa* dorsal (a) e ventral (b).

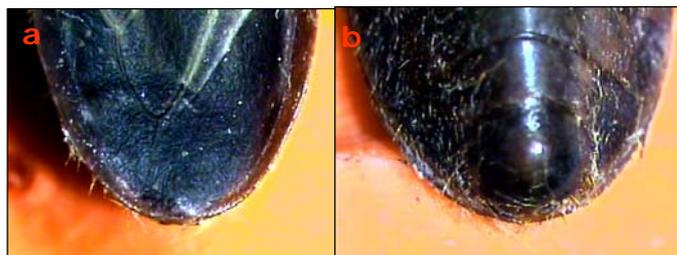


Figura 16: Porção distal do abdome da macho de *C. pilosa* dorsal (a) e ventral (b).



Figura 17: Hemélitros de *C. pilosa*.

3.3. Morfometria

3.3.1. Análise univariada

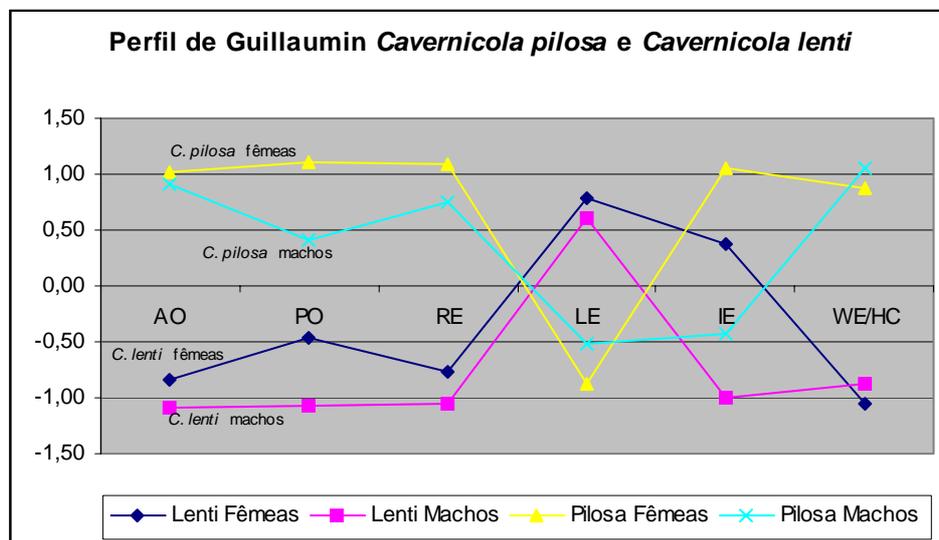


Figura 18. Perfil de Guillaumin de *C. pilosa* e *C. lenti*, machos e fêmeas, para as variáveis: AO (distância antecular); PO (distância pós-ocular); RE (comprimento do olho); LE (largura do olho); IE (distância interocular); WE/HC (relação entre o comprimento e a altura da cabeça).

O perfil de Guillaumin de *C. pilosa* e *C. lenti*, machos e fêmeas, (figura 15) separa nitidamente as duas espécies, ocorrendo certo paralelismo, exceto para as medidas da largura do olho (LE) e distância interocular (IE), o que concorda com as observações feitas para os estudos morfológicos e a colocação destas em um mesmo gênero. No caso dos diferentes sexos da mesma espécie o paralelismo ocorre quase totalmente, exceto para a largura dos olhos no *C. pilosa* e a relação comprimento/altura da cabeça nas duas espécies.

Tabela 2: Valores de p (ANOVA) para *C. pilosa* e *C. lenti*

Intervalo de confiança 95%

Caracteres	<i>C. pilosa</i> x <i>C. lenti</i>
Distância anteocular	0,000
Distância pós-ocular	0,000
Comprimento do olho	0,000
Largura do olho	0,000
Distância interocular	0,015
Comprimento/altura da cabeça	0,000

Os mesmos caracteres usados para o perfil de Guillaumin foram submetidos à análise das variâncias (ANOVA). Na comparação das duas espécies, *C. pilosa* e *C. lenti*, foram obtidos valores de $p < 0,05$ para todas as variáveis, o que indica diferença significativa entre as duas espécies estudadas para os caracteres selecionados (tabela 2).

Tabela 3: Valores de p (ANOVA) para machos e fêmeas de *C. pilosa* e *C. lenti*

Intervalo de confiança 95%

Caracteres	<i>C. pilosa</i> (macho x fêmea)	<i>C. lenti</i> (macho x fêmea)
Distância anteocular	0,082	0,018*
Distância pós-ocular	0,005*	0,030*
Comprimento do olho	0,005*	0,065
Largura do olho	0,187	0,461
Distância interocular	0,000*	0,000*
Comprimento/altura da cabeça	0,024*	0,071

Valores de $p < 0,05$ (estatisticamente significativos) marcados com asterisco.

A comparação de machos e fêmeas das duas espécies (tabela 3) indica diferença significativa ($p < 0,05$) para as distâncias inter e pós-ocular nas duas espécies, para comprimento do olho, distância interocular e a relação comprimento por altura da cabeça em vista dorsal no *C. pilosa*, e para as distâncias inter, pós e anteocular no *C. lenti*. Estes dados sugerem dimorfismo sexual para os caracteres em questão.

3.3.2. Análise multivariada

3.3.2.1. Análise dos componentes principais comuns

No gráfico da figura 16, os pontos representam a distribuição dos indivíduos ao longo do primeiro componente principal (CPC1), uma variável de tamanho global, que contribuiu com 83,85% para a heterogeneidade métrica total. Somados, os dois primeiros componentes principais (CPC1 e CPC2) contribuíram com 92,59%. A linha que divide cada caixa representa a mediana do grupo, as extremidades inferiores e superiores representam os quartis de 25^o e 75^o percentis; as linhas abaixo e acima representam o 10^o e o 90^o quantis. As duas espécies estão nitidamente separadas nesta análise confirmando o resultado encontrado no perfil de Guillaumin (*C. pilosa* maior que *C. lenti*), mas não os sexos. No teste de Tukey-Kramer, as espécies foram estatisticamente diferentes, com exceção dos machos de *C. pilosa* e as fêmeas de *C. lenti*. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa para os diferentes sexos da mesma espécie.

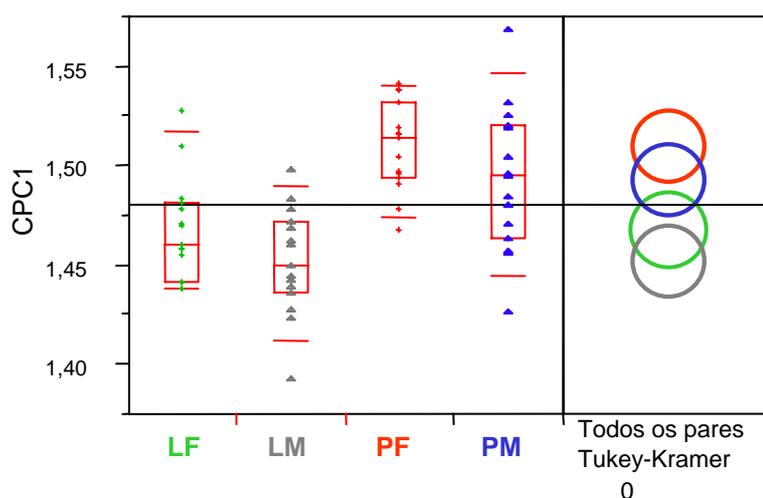


Figura 19: Representação esquemática (quantile Box plots) da distribuição dos indivíduos de *C. pilosa* e *C. lenti* por sexo analisado para o primeiro componente principal comum (CPC1). LF= *C. lenti* fêmea; LM= *C. lenti* macho; PF= *C. pilosa* fêmea; PM= *C. pilosa* macho.

Na figura 17, temos o mapa fatorial obtido a partir das medições da cabeça de *C. pilosa* e *C. lenti*, machos e fêmeas, cada polígono representando uma espécie e sexo. As espécies estão nitidamente separadas, não apresentando sobreposição na área dos polígonos. Os diferentes sexos de cada espécie apresentam pequena sobreposição da área dos polígonos, mas a separação também é nítida, o que sugere marcado dimorfismo sexual nas duas espécies.

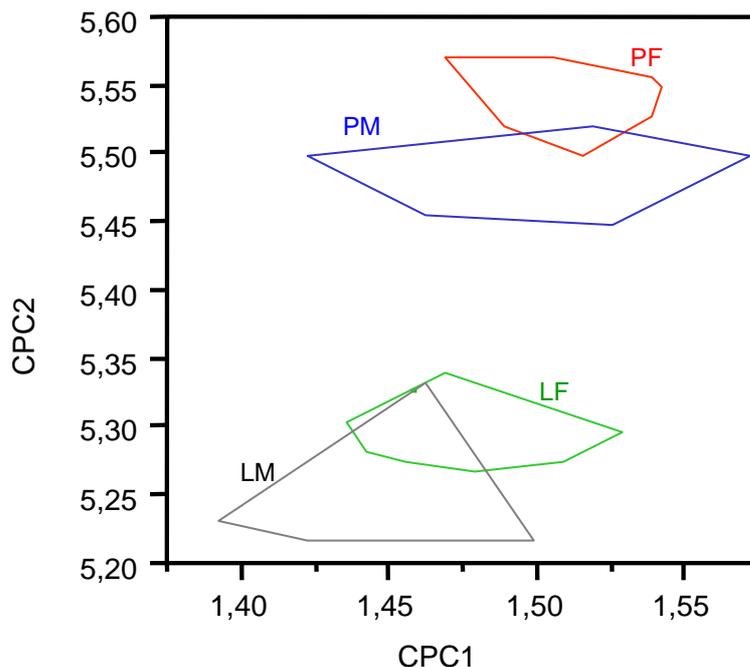


Figura 20: Mapa fatorial dos dois primeiros componentes principais comuns (CPC1 e CPC2) derivados das dimensões da cabeça de *C. pilosa* e *C. lenti*, machos e fêmeas. PF= *C. pilosa* fêmea; PM= *C. pilosa* macho; LF= *C. lenti* fêmea; LM= *C. lenti* macho.

3.3.2.2. Análise discriminante

O mapa fatorial dos componentes canônicos para machos e fêmeas de *C. pilosa* e *C. lenti* (figura 18), separa distintamente as duas espécies, bem como os sexos, sugerindo que o dimorfismo sexual está mais relacionado à forma do que ao tamanho.

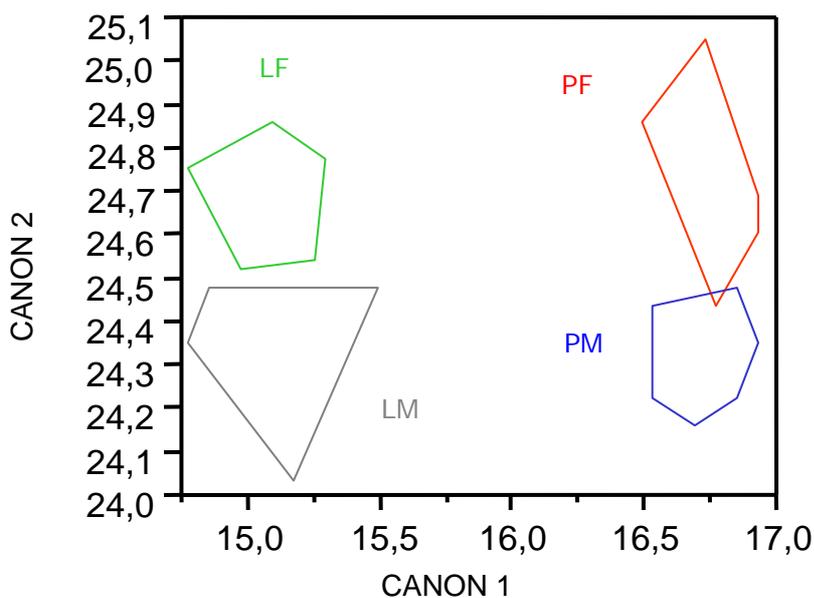


Figura 21: Mapa fatorial dos componentes canônicos, derivados das dimensões da cabeça de *C. pilosa* e *C. lenti*, machos e fêmeas. PF= *C. pilosa* fêmea; PM= *C. pilosa* macho; LF= *C. lenti* fêmea; LM= *C. lenti* macho.

3.4. Caracterização do ambiente natural do *C. pilosa*

3.4.1. Aspectos biogeográficos

O clima da área da Caverna Boa Esperança é caracterizado por um período de elevados índices de precipitações pluviométricas, em torno de 250 mm mensais, e outro de baixos índices, chegando até dois meses sem nenhuma precipitação pluviométrica. O período chuvoso tem início em setembro, prolongando-se até abril e maio, com precipitações máximas de novembro a março. O índice de precipitação pluviométrica anual é de 1600 a 2100 mm e a temperatura média anual varia de 24 a 26°C. A umidade relativa é alta, com valores entre 80 e 85%. A estação seca é bem acentuada, coincidindo com o inverno e tem, pelo menos, um mês com uma altura de chuva inferior a 60 mm. As temperaturas mais baixas ocorrem no início da estação seca, geralmente em junho (Brasil, 1981).



Figura 22: Ambiente externo, no entorno da caverna, mostrando a vegetação de cerrado no período chuvoso (a) e no período seco (b).



Figura 23: Ambiente externo acima da caverna, mostrando a vegetação no período chuvoso (a) e no período seco (b).

No ambiente externo, a cobertura vegetal é do tipo savana arbórea aberta sem floresta de galeria, conhecida no Brasil Central como Campo Cerrado. É uma formação campestre com arvoretas exclusivas das áreas areníticas lixiviadas, em geral queimadas todos os anos. É caracterizada por um contínuo tapete gramíneo-lenhoso, entremeado de arvoretas com cerca de 5 metros de altura, xeromorfas de esgalhamento profuso, providas de grandes folhas coriáceas e perenes e casca corticosa, geralmente raquíticas ou degradadas pelo fogo anual (figuras 22 e 23).

Geologicamente, o distrito de Taquaruçu está localizado na região de contato entre os sedimentos da Bacia do Parnaíba com as rochas gnáissicas e granitóides do substrato síalico regional. Observa-se, de vários pontos da cidade, as escarpas abruptas dos paredões esculpidos nas rochas sedimentares da Bacia do Parnaíba. Saindo de Taquaruçu, na direção sul, com destino à Caverna Boa Esperança, aflora, no corte da estrada, uma discordância erosiva impressa nas rochas do substrato síalico, que marca o início da deposição dos sedimentos dessa bacia, por volta do Siluriano (440 milhões de anos atrás). Essa deposição se estende pelo Devoniano até, pelo menos, 360 milhões de anos atrás. De baixo para cima, alternam-se diferentes camadas sedimentares, cuja seqüência inicia-se com conglomerados, com seixos arredondados de granulometria média e diâmetro da ordem de 5 a 10 cm. A seqüência grada para um material mais fino, arenoso, onde pontuam, esparsamente, seixos grosseiros com diâmetro de 20 a 30 cm ou maiores. À medida que o curso da estrada vai galgando o relevo da Serra do Carmo, de modo a alcançar uma superfície mais aplainada, as camadas sedimentares, que podem ser correlacionadas às formações Serra Grande e Pimenteiras (Cunha et al. 1981), se sucedem e, finalmente, desaparecem abaixo do solo que capeia as superfície plana, de cotas topográficas mais elevadas. Sem grandes variações topográficas, o relevo continua plano, até as imediações da Caverna Boa Esperança, mas a flor do solo encontra-se, localmente, fragmentos lateríticos ferruginosos. Essa laterita deve provir da alteração rochosa dos siltitos ferruginosos da Formação Pimenteiras. Então, capeando a Caverna Boa Esperança, tem-se um substrato constituído por canga ferruginosa que, por outro lado, é o mesmo material que serve à instalação arquitetônica da caverna. Essa canga é caracterizada por fragmentos de variadas dimensões e formas, soldados por hidróxidos de ferro. No interior da caverna, que tem as paredes esculpidas nesse mesmo material laterítico, observa-se que os espeleotemas estão cobertos por um material esbranquiçado de consistência macia ao tato (tal material foi coletado para análise geoquímica, mas os resultados não foram ainda obtidos). Na época da segunda visita à caverna (dezembro) as suas paredes estavam marejadas de água, que também descia do teto em alguns pontos. Tal situação não foi observada na ocasião da primeira visita (julho), a qual se deu na estação seca, diferentemente da segunda visita, que aconteceu no período chuvoso. Por situar-se ao longo de um vale, acredita-se que, no passado, o material ferruginoso foi transportado, a partir de posições topográficas mais altas, e

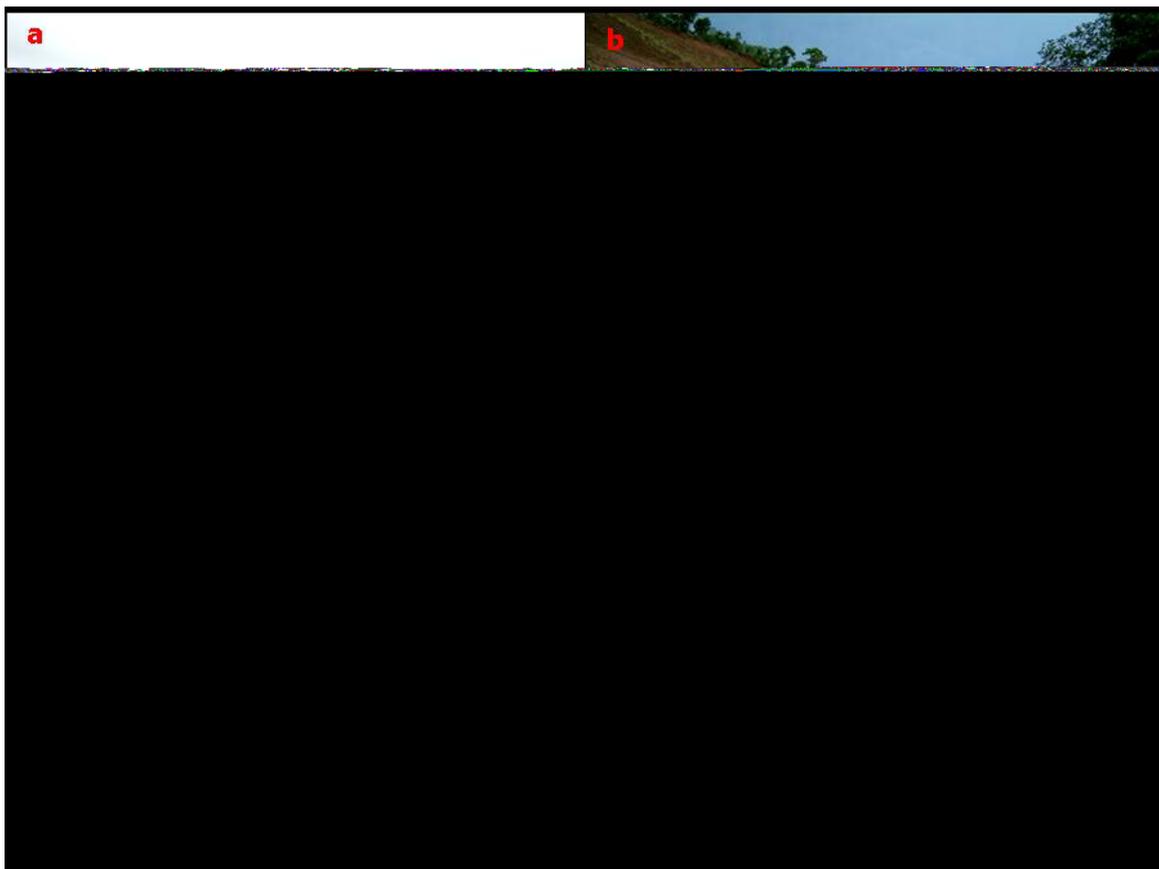


Figura 24: Formações rochosas no entorno e no interior da caverna.

Figura 24

- a) Vista panorâmica da Serra do Carmo, no ponto onde se localiza a Caverna Boa Esperança.
- b) Corte da Serra do Carmo na estrada de acesso à caverna, mostrando as camadas sedimentares.
- c) Corte mostrando as camadas sedimentares.
- d) Seixo redondo aflorando no corte da rocha sedimentar.
- e) Abertura norte da caverna.
- f) Paredes da caverna, formadas por fragmentos de canga soldados por hidróxido de ferro e material esbranquiçado ainda não identificado.
- g) Idem item (f).
- h) Idem item (f).

depositado no vale. Posteriormente erodido, criou o espaço cavernoso onde agora habitam os barbeiros (figura 24).

Nas medidas instantâneas de temperatura e umidade realizadas com termo higrômetro digital na ocasião da estação seca (tabela 4) obtivemos temperatura mais alta e umidade mais baixa no meio externo, logo acima da abertura da caverna que nos serviu de entrada, durante o dia (32°C e 50%) em comparação com as médias de temperatura e umidade obtidas das medições feitas no interior da caverna (29,4 ± 2,72°C e 73,60 ± 9,56%). Já na abertura por onde sai o riacho, a temperatura e a umidade são menores do que no interior da caverna (27°C e 65%).

Tabela 4: Medidas de temperatura e umidade relativa do ar, tomadas com termo higrômetro digital, em julho (estação seca). Local 1: ambiente externo, acima da entrada da caverna; local 2: ambiente externo, na abertura da caverna por onde sai o riacho; local 3: ambiente interno, distante das aberturas da cavidade, em aparente ausência de luz.

Data	Período	Local	Temperatura	Umidade
16/07	Dia	1	32°C	50%
		2	27°C	65%
		3	31°C	65%
16 – 17/07	Noite	3	24 a 31°C	76 a 89%
17/07	Dia (manhã)	3	30°C	76%
	Dia (tarde)		31°C	62%
			média= 29,43 ± 2,67	Média= 69 ± 11,59

Na tabela 5 pode-se observar os dados instantâneos de temperatura e umidade medidos no interior da caverna durante o período chuvoso. A temperatura no interior da caverna se manteve bastante estável, com média de 31 ± 1°C, assim como a umidade (74,6 ± 1,4%), com exceção da umidade na abertura da caverna por onde passa o riacho, que estava 15% mais alta do que na estação seca.

Os gráficos da figura 25 mostram as medições de temperatura e umidade obtidas a cada 15 minutos através dos sensores HOBO 08 nos diversos pontos da caverna, durante a estação chuvosa.

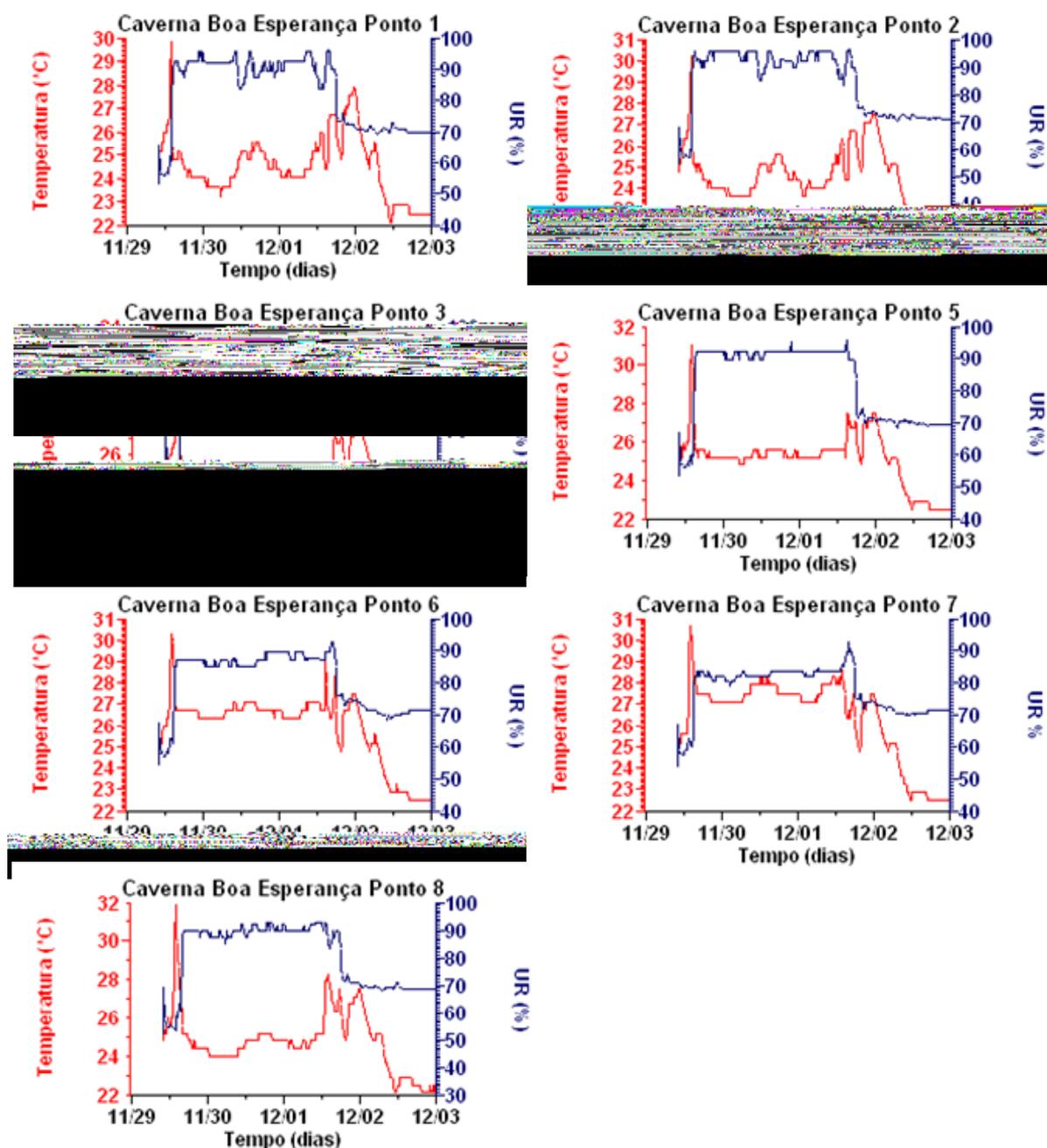


Figura 25: Dados de temperatura e umidade relativa do ar, obtidos em diferentes pontos do interior da caverna pelos sensores HOBO H08, durante a estação chuvosa (29/11 à 01/12). Os pontos 1 e 2 dos gráficos correspondem ao ponto 1 do croqui; o ponto 3, ao ponto 3; os pontos 5, 6, 7 e 8 ao ponto 2 do croqui.

Tabela 5: Medidas instantâneas de temperatura e umidade relativa do ar, tomadas com termo higrômetro digital, em 29 de novembro (estação das chuvas).

Local	Temperatura	Umidade
Entrada sul (ponto 7)	30°C	83%
Salão do riacho (ponto 5)	32°C	75%
Salão negativo (ponto 6)	31°C	74%
Salão do guano (ponto 4)	30°C	74%
Galeria positiva (ponto 2)	31°C	76%
Média \pm desvio padrão	30,80 \pm 0,75	76,40 \pm 3,38

A tabela 6 mostra as médias e desvios padrão das medições dos diferentes sensores. A temperatura nas aberturas da caverna é pouco mais baixa, subindo à medida que adentramos e nos afastamos do ambiente externo, fato observado tanto durante a estação seca quanto na estação chuvosa, sendo muito pequeno o desvio padrão de cada média. O interior da caverna é mais úmido que as aberturas durante a estação seca, e de mesma umidade durante a estação chuvosa. A abertura da caverna por onde passa o riacho é mais fria e úmida que a abertura distante do riacho. O clima na caverna mantém-se estável, variando muito pouco em relação às variações climáticas do ambiente externo.

Tabela 6: Médias das medidas de temperatura e umidade obtidas em diferentes pontos da caverna pelos sensores HOBO 08 durante a estação chuvosa.

Pontos	Localização	Média \pm desvio padrão	
		Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)
1	entrada da caverna	24,56 \pm 0,77	91,04 \pm 3,01
2	entrada da caverna	24,57 \pm 0,79	92,94 \pm 3,05
3	entrada da galeria positiva	25,29 \pm 0,37	95,68 \pm 0,60
5	galeria positiva	25,42 \pm 0,46	91,89 \pm 1,36
6	galeria positiva	26,72 \pm 0,35	87,53 \pm 1,69
7	galeria positiva	27,07 \pm 1,05	80,56 \pm 4,71
8	galeria positiva	24,88 \pm 0,90	89,55 \pm 1,94

3.4.2. Croqui da caverna

A Caverna Boa Esperança está esquematizada em um croqui (figura 26) onde estão assinalados as ocorrências de maior interesse para o nosso estudo. A área hachurada menor corresponde a uma coleção de água pluvial com 8,82 m no seu maior comprimento. Esta coleção de água é sazonal, tendo sido observada somente no período chuvoso. A área hachurada maior corresponde a um riacho que vem do ambiente externo e entra pelo teto da caverna em forma de cachoeira, no extremo sul (figura 27), percorrendo cerca de 10 metros (figura 28) até sair pela abertura sudoeste (figura 29).

A caverna tem seu comprimento maior no sentido norte-sul, cerca de 77,94 metros, e largura maior de 38,24 metros. Há alguma luminosidade até o início do salão do riacho (ponto 5 do croqui). A partir daí não há luz perceptível, o chão está coberto por uma camada de guano com cerca de dois metros de profundidade e é onde são encontradas numerosas colônias de morcegos. Os pontos de captura do *C. pilosa* correspondem às áreas de maior concentração de guano e morcegos. Estas áreas também são as de temperatura e umidade relativa do ar mais estáveis (figuras 30 e 31). Nos locais onde havia guano, porém a umidade era muito alta (acima de 95%), não foram encontradas colônias de *C. pilosa*. As espécies detritívoras foram encontradas em todos os locais onde havia acúmulo de guano, independente das condições climáticas. As demais espécies se distribuíam por toda a caverna excetuando-se aquelas com desenvolvimento dependente de água, estas sendo encontradas próximo ao riacho.

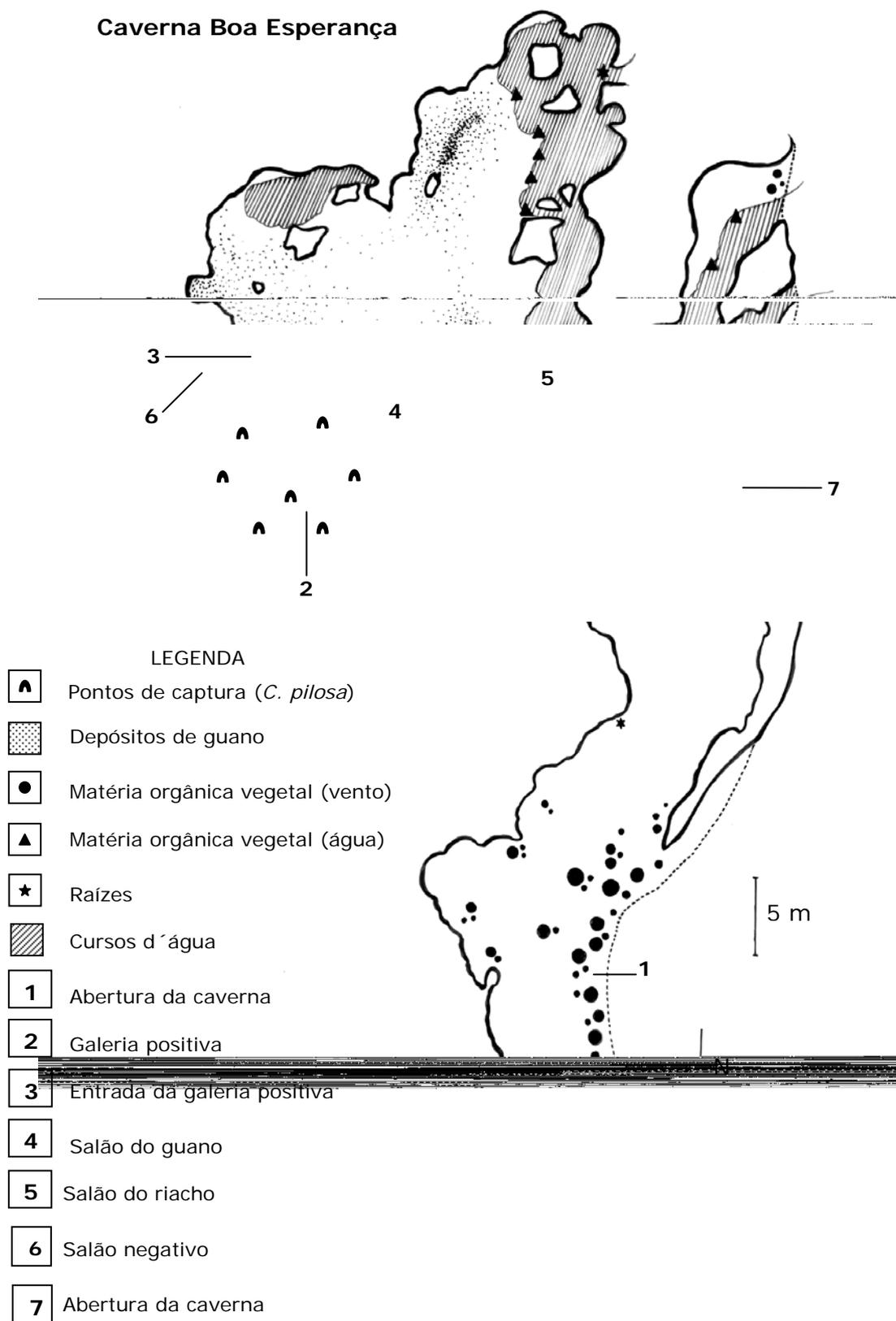


Figura 26: Croqui da Caverna Boa Esperança (10°20.192'S, 48°03.587'O, Palmas, TO), onde foram capturados os *C. pilosa*.

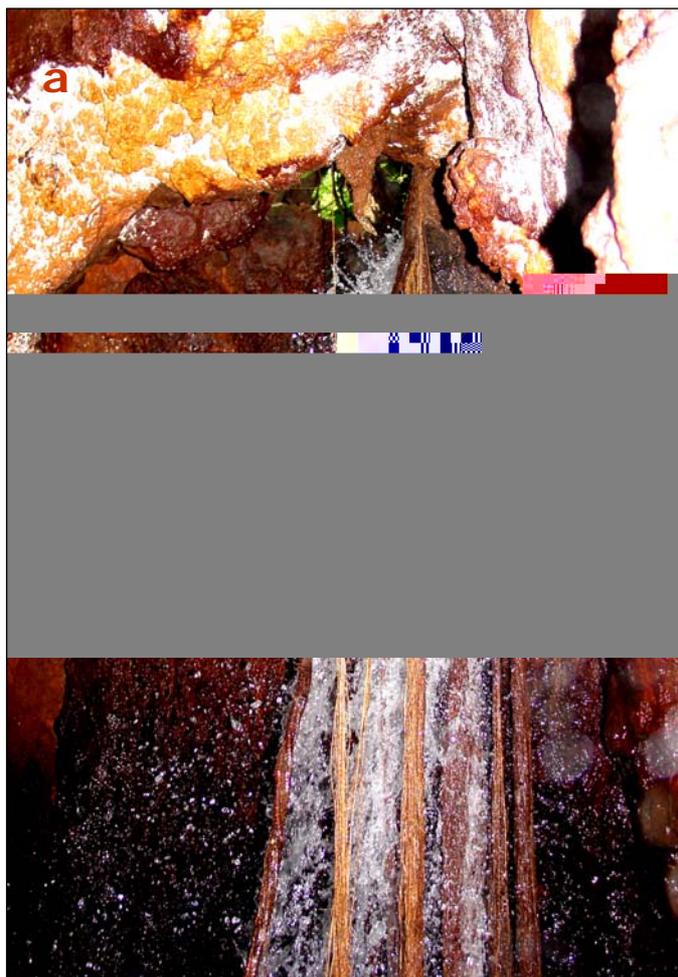


Figura 27: Entrada do riacho pelo teto da caverna (a) e poço (b).



Figura 28: Partes do percurso do riacho na caverna.

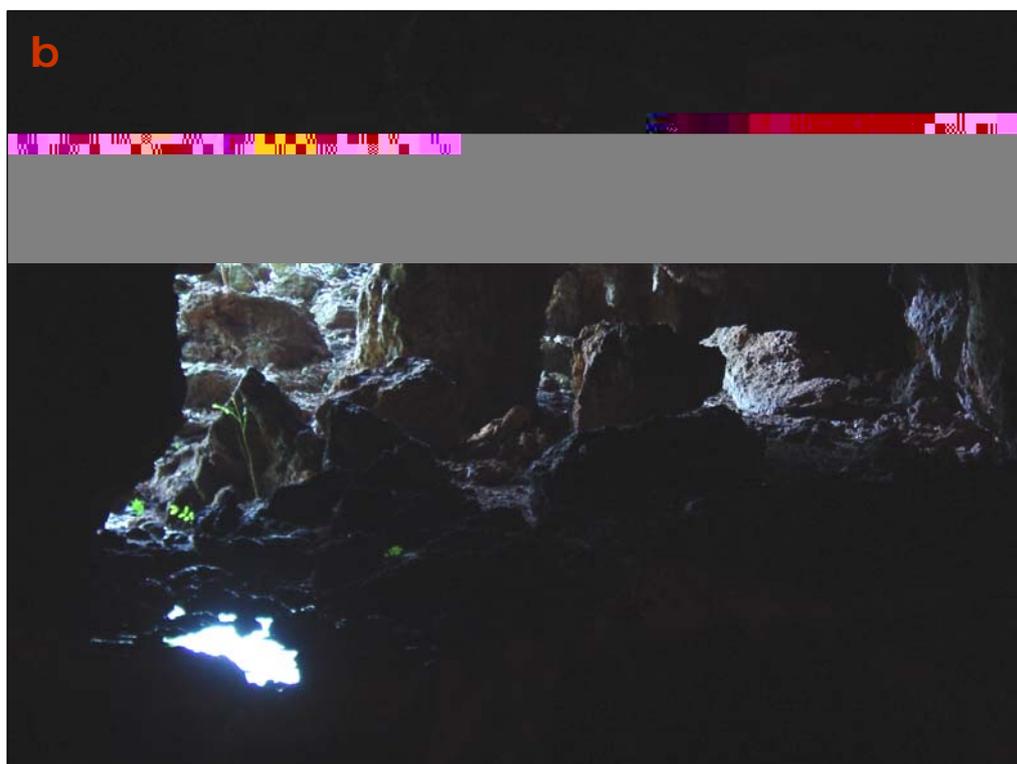


Figura 29: Salão do riacho (a) e saída do riacho pela abertura sudoeste da caverna (b).

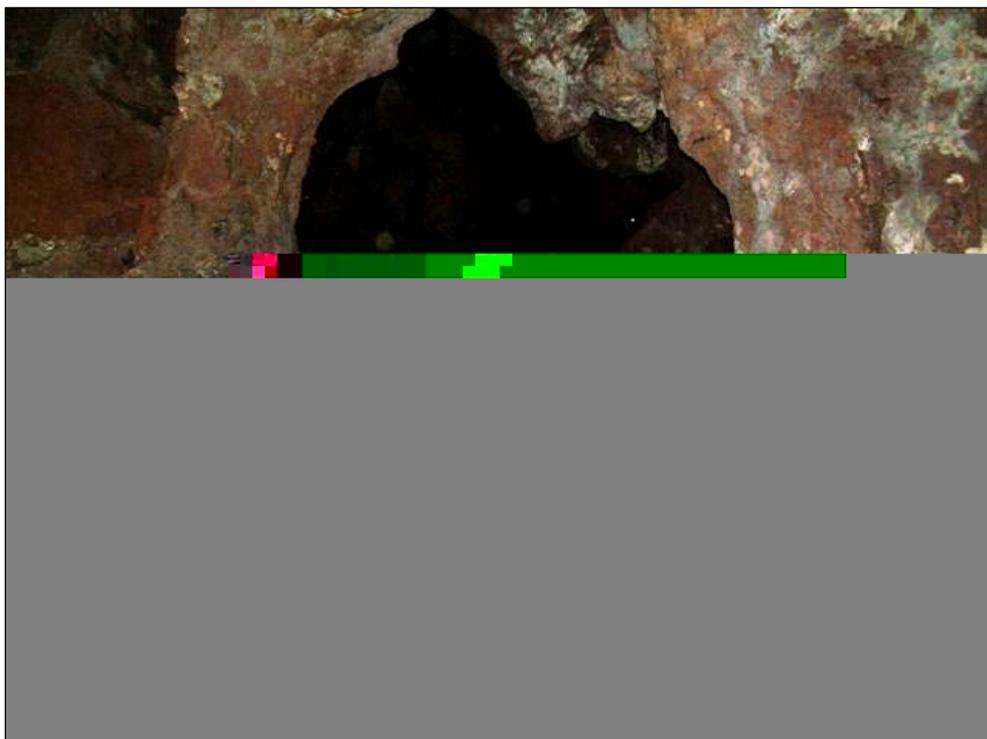


Figura 30: Salão do riacho e entrada da galeria positiva.



Figura 31: Galeria positiva.

3.4.3. Fauna identificada

Segue abaixo uma listagem da fauna encontrada na Caverna Boa Esperança.

		Táxons	Características	
Filo Arthropoda	Classe Arachnida	Ordem Acarina	Observadas seis espécies não identificadas	Todas as seis espécies vivem associadas a depósitos de guano.
		Ordem Araneida	Pholcidae (<i>Mesabolivar</i> sp) (figura 32)	Encontrada por toda a caverna, em teias residenciais feitas preferencialmente nas paredes.
			Pisauridae	Somente um exemplar foi encontrado, próximo à margem do riacho. Esta família sempre ocorre próximo a coleções d'água.
			Sicariidae (<i>Loxoceles portoi</i>) (figura 33)	Encontrada por toda a caverna, em teias residenciais feitas preferencialmente nas paredes. Flagrada predando um <i>C. pilosa</i> adulto.
			Segestridae (<i>Ariadna</i> sp) (figura 34)	Aranhas associadas a tocas-armadilhas. A população habitava preferencialmente a área de ocorrência de <i>C. pilosa</i> , provavelmente predando-o.
		Ordem Opilionida	Gonileptidae (figura 35)	Apenas dois indivíduos observados, ambos imaturos.

Filo Arthropoda	Classe Arachnida	Ordem Pseudoscorpionida	Chernetidae	Um único indivíduo imaturo observado.
		Ordem Scorpionida	Buthidae (<i>Tityus serrulatus</i>)	Um indivíduo adulto observado, na parede, a menos de um metro do chão, próximo a coleópteros e dictiópteros.
		Ordem Amblypygi	Phrynidae (<i>Heterophrynus longicornis</i>) (figura 36)	Predador topo do sistema. Vários indivíduos foram observados por toda a caverna, adultos e imaturos, indicando a ocorrência de reprodução no interior da cavidade.
	Classe Myriapoda	Ordem Diplopoda	Pseudonannolenidae (<i>Pseudonannolene</i> sp)	Piolhos de cobra espalhados por toda a caverna, mas ocorrendo preferencialmente próximo a depósitos orgânicos (guano e matéria vegetal).
		Ordem Chilopoda	Subordem Geophilomorpha Subordem Lithobiomorpha	Observado um único indivíduo de cada subordem, predador de solo, de hábito intersticial (permanece, preferencialmente, debaixo de pedras e em fissuras em rochas).
	Classe Insecta	Ordem Coleoptera	Staphylinidae Tenebrionidae	Encontradas apenas larvas de três espécies, todas associadas a depósitos orgânicos (guano e matéria vegetal).

Filo Arthropoda	Classe Insecta	Ordem Coleoptera	Carabidae (figura 37)	Foram encontradas duas espécies distintas, ambas associadas a locais de maior umidade na caverna. A espécie menor foi encontrada perto das coleções de água parada mais interiores na caverna, e indivíduos da espécie maior ocorrem associados a depósitos vegetais nas proximidades do riacho.
			Coccinellidae	Um único indivíduo observado.
			Histeridae	Encontrados centenas de indivíduos associados aos depósitos de guano (e restritos a estes substratos).
			Ptylodactilidae	Observados vários indivíduos de duas espécies, distribuídos por toda a caverna, mas pouco frequentes na área de ocorrência do <i>C. pilosa</i> .
			Tenebrionidae	Encontrados vários indivíduos co-habitando a área de ocorrência do <i>C. pilosa</i> , associados preferencialmente a frestas de rocha nas paredes.
		Ordem Collembola	Cyphoderidae Entomobryidae	Encontrados poucos indivíduos associados a bancos de matéria orgânica vegetal.
		Ordem Dictyoptera	Blaberidae (<i>Blaberus</i> sp) (figura 41)	Encontrados centenas de indivíduos associados ao guano, direta (vivendo sob ou sobre os depósitos) ou indiretamente (associados às paredes dos condutos onde ocorrem os maiores depósitos). Alimentam-se diretamente de guano.

Filo Arthropoda	Classe Insecta	Ordem Diptera	Cecidomyiidae	Um único indivíduo observado. Alimenta-se de fungos.	
			Drosophilidae	Poucos indivíduos observados, sempre associados ao guano.	
			Streblidae	Parasitando os morcegos.	
			Milichiidae	Poucos indivíduos observados, sempre associados ao guano.	
			Culicidae (<i>Anopheles</i> sp)	Larvas encontradas em um remanso do riacho, próximo à uma das entradas da caverna, local relativamente bem iluminado.	
			Phoridae	Detritívoros, encontrados por toda a caverna.	
			Psychodidae (<i>Lutzomyia</i> sp) (figura 38)	Indivíduos observados preferencialmente nas proximidades das entradas, mas alguns foram avistados em zonas mais interiores, possivelmente atraídos até estas áreas pela nossa presença.	
			Sphaeroceridae	Vários indivíduos observados, sempre associados ao guano.	
		Keroplastidae	Poucas larvas associadas às zonas de maior umidade da caverna.		
		Ordem Ensifera	Phalangopsidae (figura 39)	Vários indivíduos distribuídos por toda a caverna. Detritívoros generalistas.	
		Ordem Hemiptera	Reduviidae	<i>Cavernicola pilosa</i> (figura 40)	Muitos indivíduos observados nas paredes das áreas escuras da caverna, sempre acima de 1 metro do solo. Associados aos morcegos, dos quais retira seu repasto sanguíneo.

Filo Arthropoda	Classe Insecta		<i>Zelurus</i> sp	Poucos indivíduos associados preferencialmente às proximidades das entradas. Foram observadas somente ninfas.
		Ordem Hymenoptera	Formicidae	Encontradas cinco espécies associadas a diferentes condições no interior da caverna. Um dos gêneros é <i>Odontomachus</i> .
			Brachonidae	Indivíduos concentrados junto aos depósitos de guano. Aparentemente procuravam larvas (Tineidae) para ovipor, uma vez que estes organismos são parasitóides.
		Ordem Isoptera	Nasutitermitidae	Encontrada uma colônia na porção mediana do salão principal da caverna.
		Ordem Lepdoptera	Tineidae	Encontrados vários indivíduos representantes de quatro espécies distribuídos em diferentes áreas da caverna. As larvas alimentam-se de guano, e eram extremamente abundantes nestes depósitos.
		Ordem Trichoptera	Um indivíduo observado nas proximidades do riacho. Provavelmente eclodido no interior da cavidade.	
		Ordem Diplura	Campodeidae	Um único indivíduo observado sob uma rocha.
			Projapygidae	Poucos indivíduos intersticiais observados sob pedras muito úmidas.

Filo Cordata	Clase Mammalia	Ordem Chiroptera	Phyllostomidae	Glossophaginae <i>Anoura geoffroyi</i>	Nectarívoro
				Phyllostominae <i>Phyllostomus hastatus</i>	Insetívoro, carnívoro
				Carollinae <i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoros
			Mormoopidae	<i>Pteronotus parnellii</i>	Insetívoros



Figura 32: *Mesabolivar* sp.



Figura 33: *Loxoceles portoi* predando um *C. pilosa* adulto.



Figura 34: Toca-armadilha de *Ariadna* sp no local de ocorrência de *C. pilosa*.

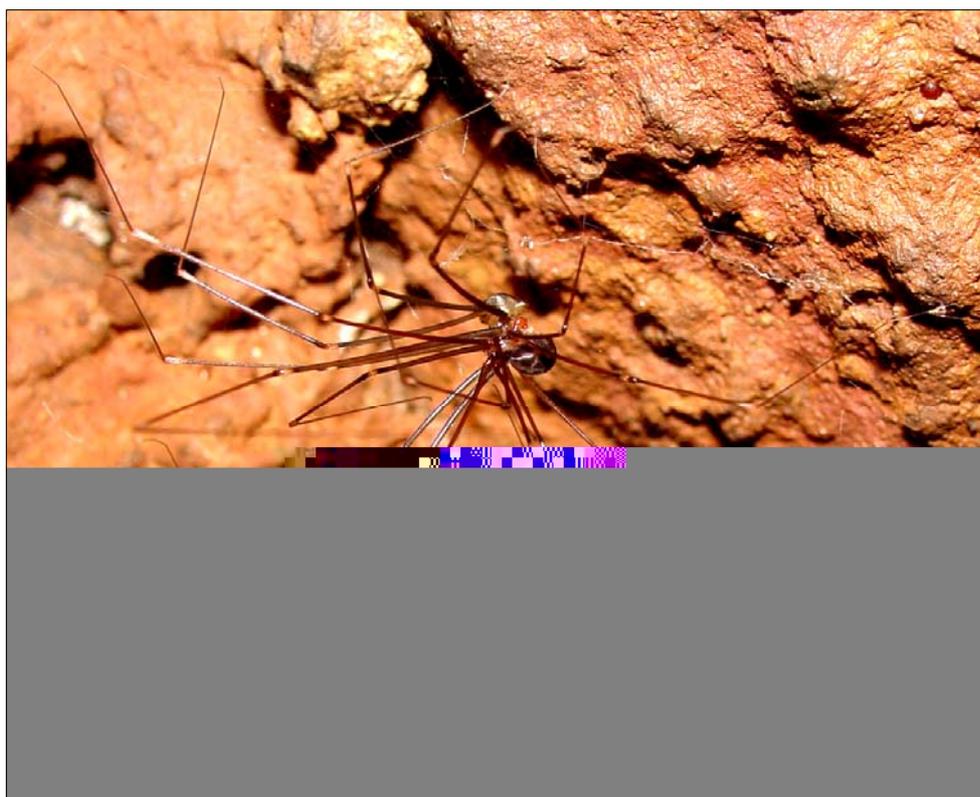


Figura 35: Opilionida, Gonileptidae.



Figura 36 a, b: Amblypygi.



Figura 37: Coleoptera, Carabidae.



Figura 38: *Lutzomyia* sp.



Figura 39: Ensifera, Phalangopsidae.



Figura 40: *C. pilosa* fêmea (a); macho (b); macho, fêmea, ninfa e ovos (c).

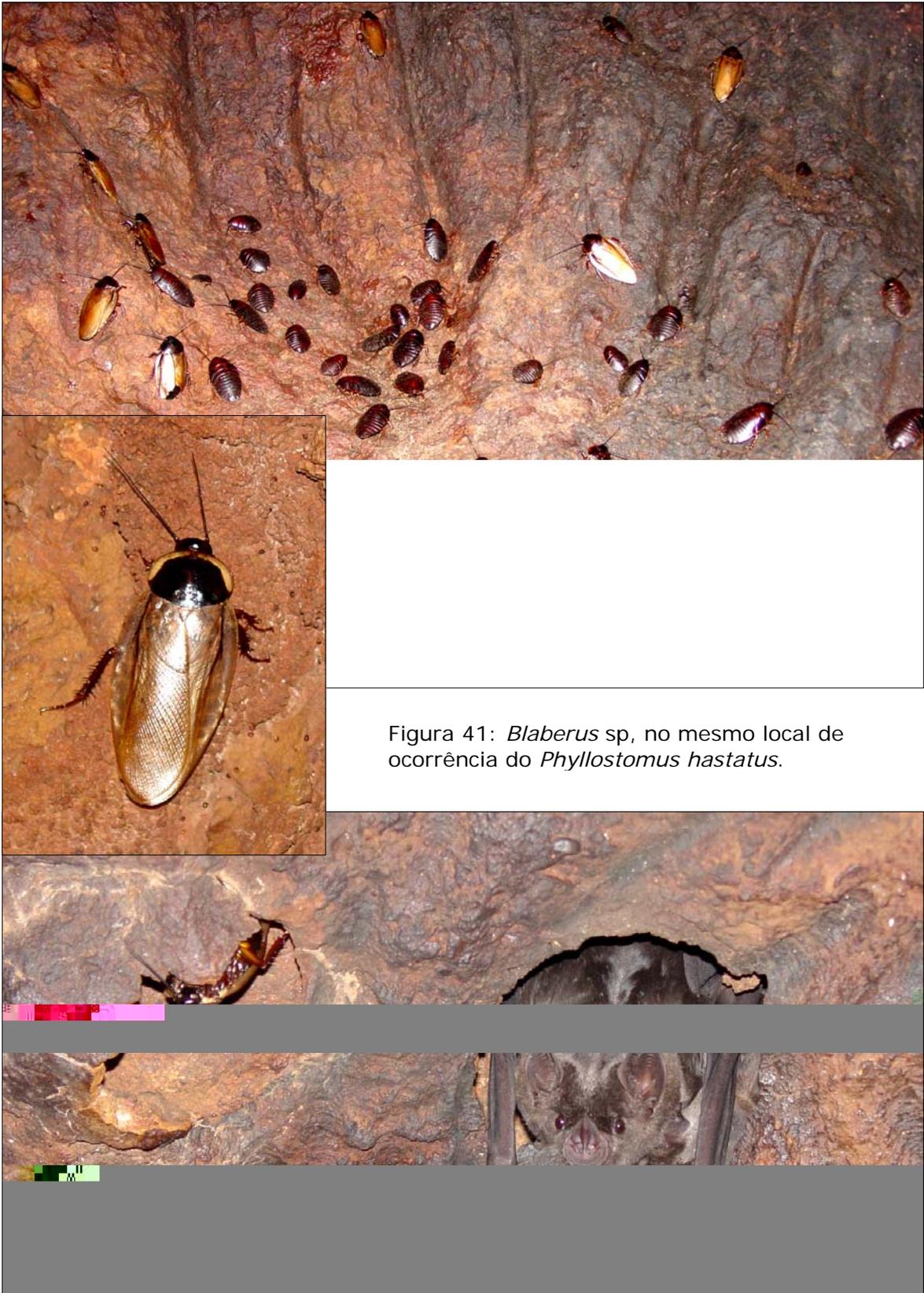


Figura 41: *Blaberus* sp, no mesmo local de ocorrência do *Phyllostomus hastatus*.

3.4.4. Distribuição do *C. pilosa* na caverna

As colônias de *C. pilosa* foram encontradas nas paredes das áreas de maior concentração de morcegos e de guano, onde as condições climáticas eram mais estáveis e sem luz perceptível. De acordo com os sensores HOB0 08 durante a estação chuvosa, o *C. pilosa* ocorreu onde as médias de temperatura variaram de $24,88 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ à $27,07 \pm 1,05^{\circ}\text{C}$, e as de umidade, de $80,56 \pm 4,71\%$ à $91,89 \pm 1,36\%$. Estes dados foram obtidos em diversos pontos da galeria positiva, correspondente ao ponto 2 do croqui. Na entrada desta galeria, onde a umidade ultrapassava 95%, não foi encontrado nenhum *C. pilosa*. Durante a estação seca, quando a temperatura variava de 24 à 31°C e a umidade de 62 à 76%, nos pontos 2 e 4 do croqui (galeria positiva e salão do guano, respectivamente), foram encontradas colônias de *C. pilosa* no salão do guano, o que não ocorreu na estação chuvosa. Todos os indivíduos foram encontrados acima de um metro de altura, ocupando toda a parede até o teto, onde ficavam as colônias de morcegos (figura 42).

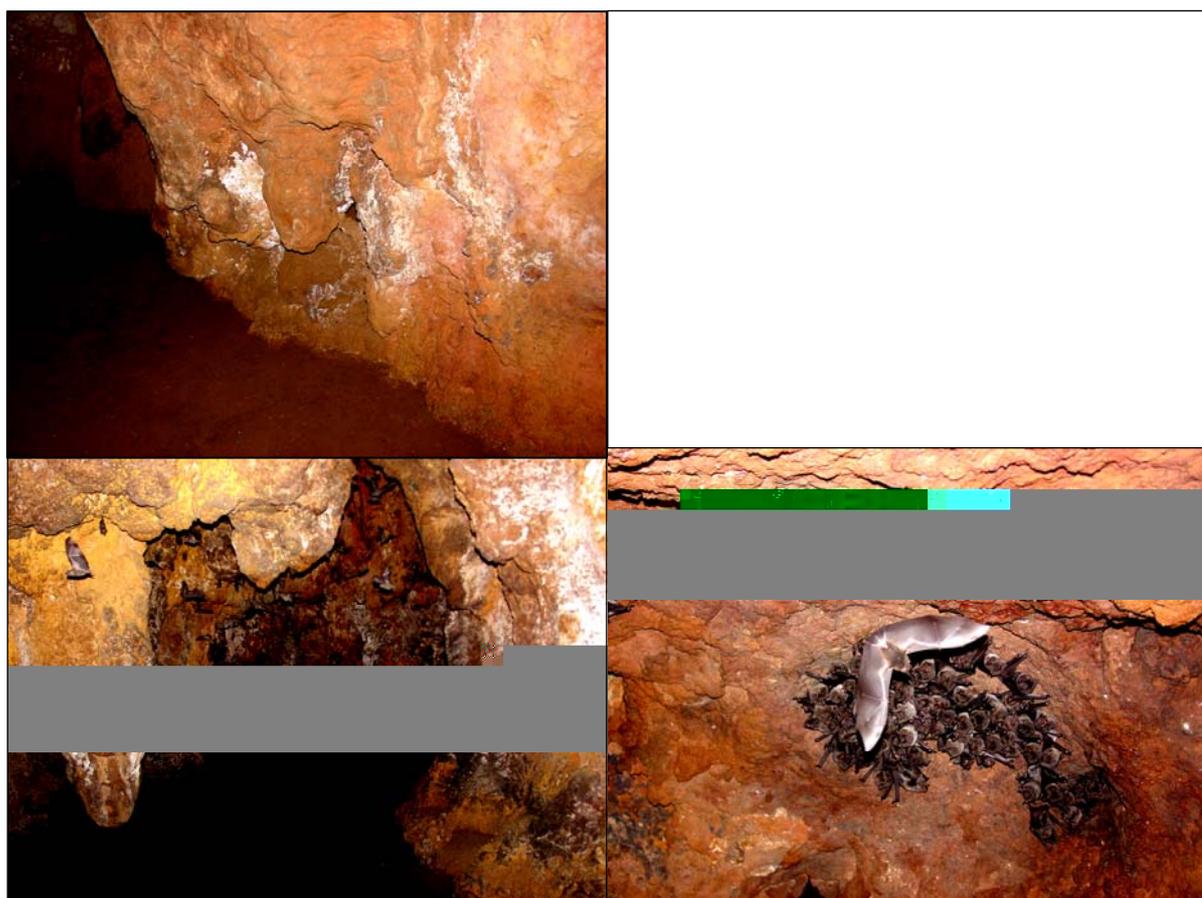


Figura 42: Fotos da caverna no ponto onde foram capturados os *C. pilosa* durante o período chuvoso (galeria positiva).

4. DISCUSSÃO

4. Discussão

Aparentemente, as alterações dos parâmetros para colonização no laboratório do *C. pilosa* e do *C. lenti* que determinaram o sucesso das colônias foram a manutenção de umidade alta e a imobilização mais eficaz dos camundongos oferecidos para repasto sanguíneo. Neste momento, observações sobre as características ambientais (temperatura e umidade) não foram realizadas, pelo pequeno número de insetos de que dispúnhamos, e por ter sido evitada a manipulação das colônias, além das estritamente necessárias para a manutenção dos espécimes, posto que estes se mostravam muito frágeis à manipulação. A forma de imobilização do camundongo oferecido para o repasto parece ter sido importante, pois, quando estes eram apenas anestesiados e colocados sobre o tecido que servia de tampa para o pote (no caso do *C. pilosa*), ou dentro do pote (no caso do *C. lenti*), menos da metade dos indivíduos se alimentavam. Com a mudança do protocolo para anestesia, imobilização do camundongo entre telas e colocação deste dentro do pote (para as duas espécies), quase todos se alimentavam. O camundongo anestesiado não fica completamente imóvel, enquanto que quando anestesiado e preso entre telas tem possibilidade bem menor de se mover. Uma outra mudança foi que, quando o camundongo era colocado sobre a tampa de tecido, os barbeiros eram obrigados a se alimentar através de trama muito menor do que a tela utilizada para a imobilização dos camundongos, exigindo, provavelmente, um maior esforço por parte do barbeiro, interferindo na alimentação.

O *C. pilosa* sempre foi encontrado associado a diversas espécies de quirópteros, o que levou à crença de que este barbeiro se alimentasse exclusivamente de sangue de morcegos (Carcavallo et al., 1976), dificultando sua colonização em laboratório. Nossa experiência mostra que é possível a manutenção de *C. pilosa* alimentando-se exclusivamente em camundongos, o que facilita sua colonização e possibilitará maiores estudos sobre esta espécie.

A ocorrência do *C. pilosa* na natureza, apesar de muito ampla, é pontual (figura 1), não configurando uma área contínua, tendo sido assinalado em habitats como cavernas e troncos ocos de árvores, sempre associado a morcegos, em regiões de clima tropical úmido (Barber, 1937; Dias et al., 1942; Marinkelle, 1966; Pipkin, 1968; D'Alessandro et al., 1971; Carcavallo, 1976; Marinkelle, 1982). Pipkin, em 1968, encontrou dois exemplares vivos de *C. pilosa* em domicílios na zona rural do Panamá, porém considerou este achado circunstancial. Alguns autores assinalaram o achado de *C. pilosa* em regiões de clima seco: Carcavallo, 1976, assinala o achado de colônias numerosas de *C. pilosa* em um bosque tropical seco da Venezuela, mas em troncos ocos de árvores com morcegos; Diotaiuti, 1989, encontrou uma colônia de *C. pilosa* na região

do cerrado em Minas Gerais, Brasil, em uma casa abandonada, habitada por morcegos. A distribuição não contínua desta espécie, sua ocorrência em habitats estáveis protegidos de variações de clima e luminosidade, e suas exigências para a colonização, sugerem dificuldades para a dispersão desta espécie na forma adulta ou ninfas. Observamos que os ovos de *C. pilosa* e *C. lenti* são cimentados ao substrato nas colônias (papel ou madeira), e às paredes da caverna, no caso do *C. pilosa* (figura 5). Em uma ocasião na qual foi colocado um camundongo anestesiado dentro do pote com *C. pilosa* para alimentação, foram postos dois ovos, fixos, no pêlo do camundongo. Nas fotos da figura 6 podemos ver somente um ovo porque um deles foi acidentalmente descolado quando o camundongo foi manipulado. Este achado oportuno corrobora nossa hipótese da dispersão do *C. pilosa* se dar através de ovos cimentados no pêlo dos morcegos, a eclosão acontecendo em um outro ambiente propício ao desenvolvimento dos barbeiros. Possivelmente este seria o mecanismo de dispersão também do *C. lenti*: ovos postos cimentados ao pêlo dos roedores. Infelizmente não foi possível a pesquisa de ovos postos diretamente nos morcegos.

O estudo da infecção do *C. pilosa* por tripanossomatídeos foi feito na tentativa de esclarecer o papel deste triatomíneo na transmissão do *T. cruzi cruzi* Chagas, 1909. Dias et al. (1942), incriminam o *C. pilosa* como transmissor de esquizotripanose de morcegos. Neste estudo, os *Schizotrypanum* isolados do *C. pilosa* e dos morcegos não produziram parasitemia em cobaios e camundongos, além de não infectarem outros triatomíneos que não o *C. pilosa*. Somente *R. prolixus* foi experimentalmente infectado com tais *Schizotrypanum* (Marinkelle, 1966; Baker, 1978). O *C. pilosa* tem sido encontrado infectado com um *Schizotrypanum* morfológicamente semelhante ao *T. cruzi*, com as mesmas características de infecção que as observadas por Dias et al. (1942), Pipkin (1968), Marinkelle (1966), D'Alessandro (1971), Carcavallo et al. (1976). Baker et al. (1978) estudando *Schizotrypanum* isolados de microquirópteros das Américas, encontraram o mesmo padrão morfológico de parasitas, de infecção (para camundongos e triatomíneos) e de comportamento em cultura observado em nossos estudos. Estes parasitas foram isolados de morcegos americanos por xenodiagnóstico através de *R. prolixus*, eram morfológicamente indistinguíveis do *T. cruzi*, não produziam parasitemia em camundongos, apresentavam, a princípio, crescimento exponencial do cultivo em meio NNN, este decrescendo lentamente até que nenhum parasita era encontrado. No nosso estudo, os camundongos sem parasitemia patente 25 dias após o inóculo com parasitas isolados do *C. pilosa*, tiveram seu sangue cultivado em meio NNN, sendo todos os tubos de hemocultura positivos. O mesmo ocorreu com os morcegos que submetemos ao xenodiagnóstico: 8 dos 9 morcegos tiveram resultado positivo, enquanto que nos esfregaços sangüíneos não foi encontrado nenhum parasita. A taxa de infecção encontrada para o *C. pilosa* foi idêntica à dos morcegos: 8 dos 9 espécimes examinados albergavam tripanossomatídeos no intestino posterior. Além das diferenças nos padrões

de infecção e comportamento em cultura, Baker et al. (1978) diferenciaram este *Schizotrypanum* isolado de microquirópteros americanos quanto à densidade do DNA (do núcleo e do cinetoplasto) e ao padrão eletroforético de seis isoenzimas, e por não apresentar imunidade cruzada com o *T. cruzi*. Com base nestas diferenças, foi proposto que o *Schizotrypanum* isolado de quirópteros americanos (o qual também é encontrado no *C. pilosa*) fosse tratado como *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi marinkellei*. Nossos resultados sugerem ser este o *Schizotrypanum* morfologicamente indistinguível do *T. cruzi* que isolamos dos *C. pilosa* e dos morcegos encontrados na caverna Boa Esperança.

O *C. pilosa* foi descrito por Barber (1937) a partir de espécimes coletados em cavernas freqüentadas por morcegos em Chillibrillo, na zona do canal, Panamá. Nesta ocasião o autor já aventou a hipótese de ser o *C. pilosa* um hematófago que se alimentava de sangue de morcegos, e o assemelhou aos representantes da subfamília Triatominae. Usinger (1939) reconhece o *C. pilosa* como um triatomíneo e em 1944, redescreve a espécie e o gênero, criando a tribo Cavernicolini da subfamília Triatominae. Lent & Jurberg (1969) redescrevem o gênero, acrescentando a descrição da genitália externa feminina e masculina de *C. pilosa*. Lent e Wygodzinsky (1979), na sua revisão da subfamília Triatominae, acrescentam dados da distribuição geográfica e biologia do *C. pilosa*. Em 1985 Barrett e Arias descrevem a segunda espécie do gênero, o *C. lenti*, de indivíduos encontrados em um oco de árvore, associados a roedores, na região que seria coberta pelas águas da represa de Balbina, nas margens do rio Uamatã. Carcavallo et al. (1998) colocam em chave o *C. pilosa* e o *C. lenti*, diferenciando-os pela coloração do conexivo, tamanho do primeiro segmento do rostro e das regiões ante e pós-ocular. Nesta mesma publicação é feita a comparação da genitália do gênero *Cavernicola* com outros da subfamília Triatominae. No presente estudo, a descrição do *C. pilosa* é reescrita visando salientar as características que o diferenciam do *C. lenti*, e fornecer dados de relação de tamanho entre estruturas ao invés de medidas destas estruturas isoladamente.

A diagnose da tribo Cavernicolini e do gênero *Cavernicola* foi feita antes da descrição do *C. lenti* e algumas características eleitas para esta diagnose não correspondem aos caracteres desta última espécie. Para a diagnose da tribo Cavernicolini sugerimos as seguintes mudanças:

- **Tegumento liso, com áreas discretamente granuladas ou rugosas.** O tegumento não é completamente liso no *C. lenti*, apresentando áreas discretamente granuladas, e de coloração escura, quase negra.
- **Cabeça fusiforme ou globosa em vista dorsal, fortemente convexa superiormente em vista lateral.** A cabeça, em vista dorsal, é fusiforme no *C. pilosa* e globosa no *C. lenti*.

- **Região antecular com comprimento menor, igual ou pouco maior que a pós-ocular.** A região antecular, de comprimento igual ou pouco maior que a pós-ocular no *C. pilosa*, é menor que a pós-ocular no *C. lenti*, sendo esta a única espécie de triatomíneo que apresenta tal característica.
- **Ocelos pequenos, colocados ao nível do tegumento sobre ou atrás de distinta sutura arqueada situada no meio da região pós-ocular.** Os ocelos do *C. lenti* não estão sobre ou tocando a margem posterior da sutura arqueada pós-ocular, mas posteriormente a esta.

As mudanças sugeridas para a descrição do gênero *Cavernicola* são:

- **Tegumento castanho a negro, com marcações amareladas.** O *C. lenti* é mais escuro, quase negro com conspícuas manchas amarelas no IV segmento do conexivo.
- **Região antecular menor, igual ou pouco maior que a região pós-ocular.** No *C. lenti* a região antecular da cabeça é menor que a pós-ocular; no *C. pilosa*, de comprimento igual ou pouco maior.
- **Ocelos pequenos, inconspícuos, situados ao nível do tegumento, com superfície brilhante, plana ou convexa, sobre ou atrás da sutura arqueada.** Os ocelos estão situados sobre ou imediatamente atrás da sutura arqueada da região pós-ocular, tocando sua borda posterior, no *C. pilosa*; no *C. lenti*, a superfície é convexa, e estão situados atrás da sutura arqueada, separados desta.
- **Escutelo mais largo que longo, processo apical de forma variada.** O processo apical do escutelo é pequeno no *C. pilosa*, dirigido para cima, quase vertical ao corpo do escutelo; no *C. lenti*, o processo apical é grande, de comprimento maior que o corpo do escutelo, não dirigido para cima, paralelo ao corpo do escutelo.

Carcavallo et al. (1998) descrevem um novo gênero monotípico, *Torrealbaia*, a partir de uma fêmea coletada em um domicílio rural na Venezuela. A nova espécie, *Torrealbaia martinezi*, foi considerada um triatomíneo da tribo Cavernicolini, por ter a cabeça convexa, ocelos situados posteriormente a uma sutura interocular, olhos não salientes e o rosto, considerado reto por estes autores. Nesta mesma publicação são comentados os caracteres do espécime estudado que correspondem às características dos reduvídeos da subfamília Harpactorinae, sendo mencionadas as semelhanças com o *Amphibolus venator* (Klug, 1830). Os autores afastam a possibilidade de o espécime estudado ser desta espécie por sua ocorrência não ter sido assinalada no Novo Mundo, até então. Forero et al. (2004), colocam *T. martinezi* Carcavallo, Jurberg & Lent, 1998 em sinonímia com *A. venator* (Klug, 1830) com base na posição dos ocelos (atrás da

sutura arqueada e na linha interna dos olhos); na curvatura da sutura arqueada; a presença de célula quadrada no cório, entre as veias cubital e pós-cubital; rostro curvo, com primeiro segmento de comprimento quase igual ao terceiro; presença de espinho apical nas tíbias anteriores. Estes autores ainda informam a ocorrência, anteriormente assinalada, do *A. venator* nas Américas do Norte, Central e do Sul.

Os fatos citados ressaltam a similaridade da tribo Cavernicolini, de Triatominae, com a subfamília Harpactorinae, sendo tênue a separação entre estes grupos (tabela 7).

Tabela 7: Caracteres diferenciais entre a tribo Cavernicolini (Triatominae, Reduviidae) e a subfamília Harpactorini (Reduviidae).

Caracteres	Cavernicolini	Harpactorinae
Formato da cabeça	Convexa na superfície dorsal, nas regiões ante e pós-ocular	Convexa na superfície dorsal, na região pós-ocular
Primeiro segmento antenal	Curto, quase que no mesmo nível do clipeo	Longo, de comprimento maior que o da cabeça
Rostro	Reto; primeiro segmento curto, com menos da metade do comprimento do segundo. Presença de conexão membranosa entre o 2º e o 3º segmentos do rostro	Curvo; primeiro segmento longo, com comprimento quase igual ao do segundo. Ausência de conexão membranosa entre o 2º e o 3º segmentos do rostro
Cório	Ausência de célula pentagonal na base da célula cubital.	Presença de célula quadrada na base da célula cubital.
Hábito alimentar	Hematófago	Predador

As características que justificam a colocação do gênero *Cavernicola* na subfamília Triatominae são: o formato do rostro, reto e delgado, com o 1º segmento curto, quase de mesmo comprimento que o 3º, e conexão membranosa entre o 2º e o 3º segmentos e a hematofagia obrigatória. É evidente que tais modificações do rostro estão ligadas à evolução do hábito predatório ancestral para a hematofagia. Há hematófagos obrigatórios em duas outras famílias da subordem Heteroptera (Cimicidae e Polictenidae), e hematófagos facultativos em Lygadeidae (Schofield, 1944), que não foram agrupados como uma subfamília somente pelo hábito hematofágico. Segundo Lima (1940), considerar os reduvídeos hematófagos obrigatórios como uma subfamília em decorrência somente do hábito hematofágico, é exagerar sua importância taxonômica,

em função da sua importância econômica. Há triatomíneos com hábitos predatórios ocasionais, como o *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) se alimentando de larvas de lepidópteros, outros que são predadores obrigatórios em fases iniciais do seu desenvolvimento como *Eratyrus mucronatus* Stål, 1859, e eventos de “canibalismo”, observados em laboratório, quando ninfas sugam sangue de outras, no momento do repasto sangüíneo (Schofield, 1994). São várias as observações de triatomíneos exercendo canibalismo, predatismo ou coprofagia. Eventos de canibalismo foram testemunhados por: Carlos Chagas em *Triatoma sordida* (Stål, 1859) e *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Brumpt, 1914); Brumpt em *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *P. megistus*, *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) e *R. prolixus* (Brumpt, 1914); por Ryckman em *Meccus pallidipennis* (Stål, 1872), *Triatoma guasayana* Wygodzinsky & Abalos, 1849, *Triatoma recurva* (Stål, 1868) e *R. prolixus* (Ryckman, 1951). Eventos de predatismo foram observados: por Lafont – *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) sobre percevejos de cama – e Mitchell – *Triatoma sanguisuga* (Leconte, 1855) sobre larvas de lepidópteros (*in* Brumpt, 1914); em *Triatoma circummaculata* (Stål, 1859), *Triatoma carcavalloii* Jurberg, Rocha & Lent, 1998 e *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) sobre Blaberidae (Lorosa et al., 2000; Ruas-Neto et al., 2001); em *Belminus herreri* Stål, 1859 sobre Blattidae (Sandoval et al., 2004). Segundo Brumpt, “o canibalismo é uma lembrança ancestral da entomofagia normal dos reduvídeos não sugadores de sangue” (Brumpt, 1914). Em nosso laboratório foram observadas ninfas de quinto estágio de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, com 30 dias de jejum, sugando hemolinfa de ninfas de *Periplaneta americana* Linneu, 1758 (Blattidae) (Pontes, 2004, comunicação pessoal). Há outros reduvídeos, da subfamília Harpactorinae, com rostro reto e fino (Lima, 1940). O equívoco de se confundir um espécime de Harpactorinae com Cavernicolini (de Triatominae) não se mostra tão surpreendente, frente a todas estas questões, sobretudo quando comparamos morfológicamente a tribo Cavernicolini e algumas espécies da subfamília Harpactorinae.

Barber (1937), na descrição original do *C. pilosa*, a partir de exemplares capturados em cavernas do Panamá, menciona a presença de pequena nervura espúria transversa originada da veia mediana que delimitaria a célula interna, ou célula quadrada (figura 43). Tal nervura espúria não foi encontrada em nenhum dos exemplares utilizados no nosso estudo. Lent & Jurberg (1969) observam esta nervura em uma asa de um dos espécimes por eles estudados; Lent & Wygodzinsky (1979) a encontraram em metade do material do Panamá por eles examinado, parte do material da Colômbia e em nenhum espécime do Brasil.

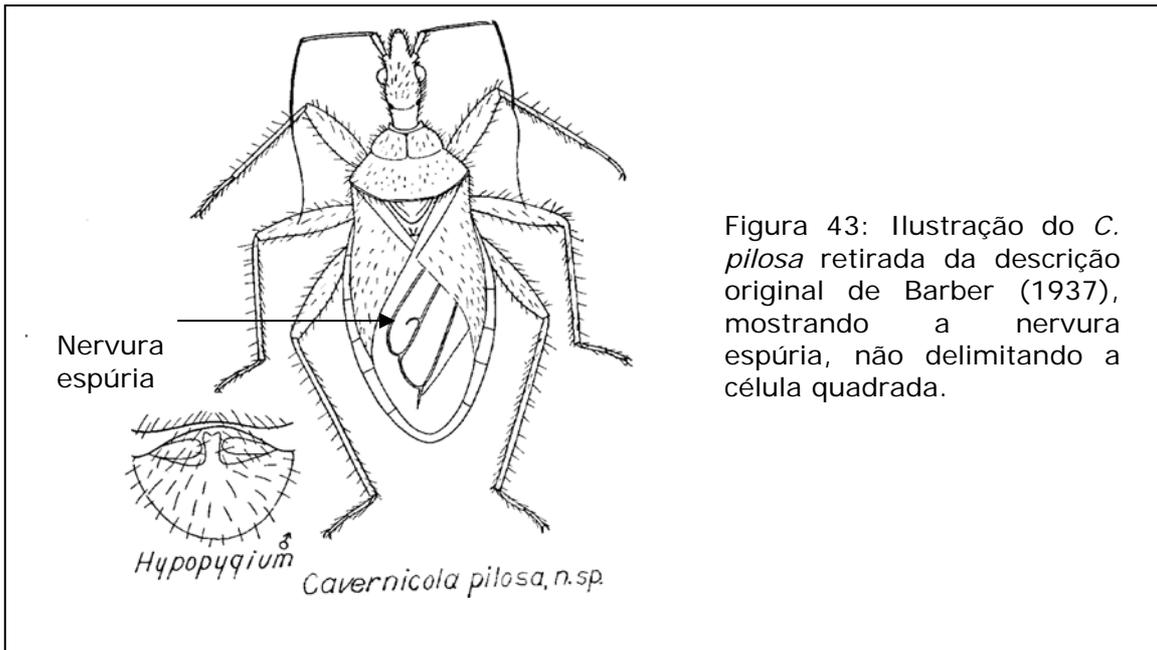


Figura 43: Ilustração do *C. pilosa* retirada da descrição original de Barber (1937), mostrando a nervura espúria, não delimitando a célula quadrada.

Uma característica da subfamília Harpactorinae é a presença de nervura transversa entre as veias cubital e pós-cubital, delimitando a célula quadrada corial (figura 44). A nervura encontrada por Barber (1937) e Lent & Jurberg (1969) delimitam uma célula na membrana (figura 45).

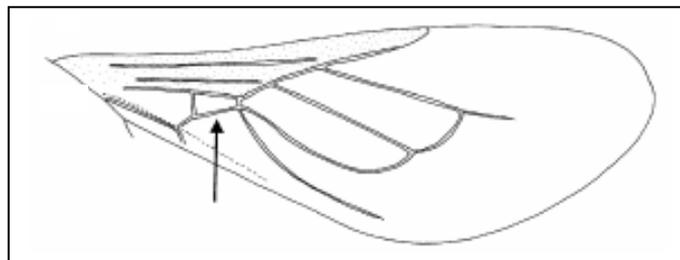


Figura 44: Asa de *A. venator* (Harpactorinae) mostrando a célula quadrada corial delimitada por nervuras transversas entre as nervuras cubital e pós-cubital (Forero et al, 2004).

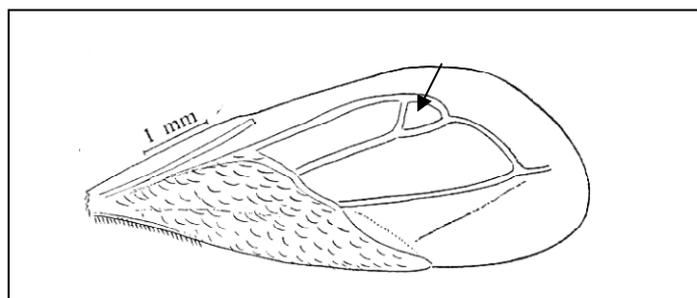


Figura 45: Asa de *C. pilosa* mostrando a célula quadrada na membrana delimitada pela nervura transversa (Lent & Jurberg, 1969).

Apesar do *C. pilosa* possuir hábitos que sugerem ser esta uma espécie extremamente especialista, apresenta caracteres morfológicos muito próximos de outros reduviídeos predadores, especialmente a subfamília Harpactorinae. Estudos morfológicos não são suficientes na elucidação das questões taxonômicas deste grupo, sendo necessária uma abordagem multidisciplinar envolvendo a subfamília Triatominae e demais reduviídeos, a fim de se propor uma classificação da tribo Cavernicolini que mais se aproxime da natural.

Nos estudos morfométricos as duas espécies foram nitidamente separadas nas análises univariada e multivariada. Através do perfil de Guillaumin as duas espécies tiveram diferenças estatisticamente significativas para as seis características eleitas, indicando serem estes caracteres adequados na diferenciação das duas espécies. *C. pilosa* é maior que *C. lenti*, para quatro caracteres: as distâncias antecular e pós-ocular, o comprimento do olho, e a relação comprimento por altura da cabeça. A largura do olho e a distância interocular são maiores no *C. lenti*. O paralelismo observado corrobora a colocação das duas espécies no mesmo gênero. Na análise dos componentes principais comuns as duas espécies foram separadas quanto ao primeiro componente principal comum, que é uma variável de tamanho global, com exceção das fêmeas de *C. lenti* e os machos de *C. pilosa*, que não apresentaram diferença significativa para o teste de Tukey-Kramer. Já no mapa fatorial dos dois primeiros componentes principais comuns, as duas espécies estão nitidamente separadas, assim como na análise discriminante. Esta separa os grupos estudados não só pelo tamanho, como também pela forma. Nas observações realizadas para os estudos morfológicos, são notórias as diferenças entre o *C. pilosa* e o *C. lenti* para estes seis caracteres.

Na comparação de machos e fêmeas das duas espécies pelo perfil de Guillaumin, foi encontrada diferença estatisticamente significativa para as distâncias inter e pós-ocular nas duas espécies. Machos e fêmeas de *C. pilosa* foram significativamente diferentes no comprimento do olho e na relação comprimento por altura da cabeça, este último dado indicando que os machos de *C. pilosa* possuem cabeça mais longa que larga em comparação com as fêmeas. Machos e fêmeas de *C. lenti* diferem na distância antecular e na largura do olho. A análise do primeiro componente principal comum não evidenciou dimorfismo sexual nas duas espécies. No mapa fatorial dos dois primeiros componentes principais comuns os sexos estão separados, com pouca sobreposição dos polígonos. Na análise discriminante o mapa fatorial dos componentes canônicos para machos e fêmeas das duas espécies separa mais nitidamente os sexos do que nas análises anteriores, indicando que o dimorfismo sexual está mais relacionado à forma do que ao tamanho. A sobreposição dos polígonos representantes do *C. pilosa* se deveu a uma única fêmea, notadamente menor (dado observado nos estudos morfológicos), que optamos por não retirar da análise, posto que a amostra foi aleatória. O dimorfismo

sexual foi também evidenciado na aparência externa da genitália, triangular e interrompendo o conexivo nas fêmeas, globosa e não interrompendo o conexivo nos machos, e no tamanho total do corpo, o qual é maior nas fêmeas do que nos machos.

O ambiente onde se localiza a Caverna Boa Esperança, na qual foram encontradas as colônias de *C. pilosa*, é um campo cerrado a cerca de 500m de altitude, com temperatura média e índice pluviométrico anuais elevados (24 a 26°C e 1600 a 2100 mm, respectivamente), e, umidade relativa alta, de 80 a 85%. A caverna é constituída por canga ferruginosa caracterizada por fragmentos de variadas dimensões e formas, soldados por hidróxidos de ferro. Esta laterita de granulometria média oferece abrigo e locais de oviposição para o *C. pilosa*. No entorno da caverna e outros pontos do município de Palmas, pode-se observar, na superfície do solo, fragmentos lateríticos ferruginosos, provavelmente provindos da alteração rochosa dos siltitos ferruginosos da Formação Pimenteiras. Provavelmente este material ferruginoso foi transportado de posições topográficas mais altas até o vale, a cavidade se formando posteriormente por erosão. Um riacho entra na caverna pelo teto e a percorre por quase toda sua extensão, no sentido sul-norte, garantindo a alta umidade mensurada no interior da caverna, umidade esta mantida alta mesmo durante a estação seca. As temperaturas observadas dentro da caverna estiveram bem próximas da média anual de temperatura externa, e a umidade mais alta, quase atingindo a saturação, sendo o ambiente da caverna uma continuação bem mais estável do ambiente externo, o que confirma dados da literatura (Gilbert et al. *in* Ferreira et al., 2000). O clima nas aberturas da caverna sofre mais intensamente as influências do ambiente externo, o que não acontece no interior, onde a temperatura e a umidade se mantêm com mínimas variações durante o ano. As colônias de *C. pilosa* foram encontradas, durante a estação seca e a estação chuvosa em pontos onde a temperatura e a umidade variavam de 24 à 31°C e 76 à 94%, respectivamente. Nestes locais, aparentemente, não havia luminosidade e foram encontradas numerosas colônias de morcegos, as quais garantiam a manutenção de grande quantidade de guano, que cobria o chão com uma camada de cerca de dois metros de profundidade. Provavelmente são os morcegos os únicos organismos associados com o *C. pilosa*, excetuando-se aranhas (Segestridade), cujas tocas-armadilhas foram encontradas na área de ocorrência do *C. pilosa*, possivelmente predando-os. A umidade e a grande quantidade de matéria orgânica (vegetal e guano principalmente) garantem a manutenção de condições ideais de sobrevivência não só para o *C. pilosa* como também para cerca de 50 espécies de artrópodes de 19 ordens, encontrados por toda a caverna. Foram identificadas quatro espécies de morcegos na Caverna Boa Esperança, mas o *C. pilosa* tem sido encontrado associado com várias outras espécies, inclusive desmodídeos hematófagos (Dias et al., 1942). A ocorrência do *C. pilosa* assinalada na literatura é pontual, sendo grande parte em floresta tropical úmida, mas há ocorrências em clima seco. A altitude dos pontos de captura varia de 140 a 1160m. Porém, esta espécie

sempre foi encontrada em microclimas, como cavernas, porões e ocos de árvores, quentes, úmidos e com pouca ou nenhuma luz, sempre associada a morcegos. Apesar da aparente raridade, suas colônias são muito grandes, sendo encontrado em pequeno número somente em achados acidentais, como em domicílios do Panamá. Estes dados sugerem ser o *C. pilosa* uma espécie extremamente especialista, tendo como fatores limitantes a temperatura, a umidade e a fonte alimentar. A colonização do *C. pilosa* em nosso laboratório, onde somente é oferecido sangue de camundongo como repasto, sugerem que, pelo menos em condições de laboratório, provavelmente é o clima o principal fator limitante. Talvez a associação obrigatória do *C. pilosa* com morcegos na natureza ocorra em decorrência do microclima criado por estes nos seus abrigos, ou pelo tipo de abrigo escolhido pelos morcegos. Todas estas observações confirmam nossa hipótese de serem os morcegos os agentes de dispersão do *C. pilosa*, através de ovos deste barbeiro cimentados em seu pêlo.

5. CONCLUSÕES

5. Conclusões

- O *C. pilosa* é uma espécie extremamente especialista, ocorrendo somente em microclimas estáveis, com temperaturas entre 24 e 31°C e umidade relativa entre 74 e 94%, sempre associado a microquiróteros.
- Os morcegos, muito provavelmente, são a principal fonte de alimentação e os agentes de dispersão do *C. pilosa* carregando ovos fixos no seu pêlo até outro local com condições adequadas à sobrevivência deste barbeiro.
- O *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* encontrado infectando morcegos e o *C. pilosa* provavelmente é o *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi marinkellei*.
- Tripanossomatídeos de morcegos causam infecção em *R. prolixus* por, no mínimo, 45 dias.
- Tripanossomatídeos de morcegos causam infecção assintomática e sem parasitemia patente em camundongos das raças Swiss Webster e C3H.
- A colonização do *C. pilosa* em laboratório é possível com outra fonte de sangue que não morcegos.
- Os caracteres diagnósticos para a tribo Cavernicolini são:
 - Corpo ovóide, não achatado, coberto de pêlos longos e finos.
 - Cabeça fusiforme ou globosa em vista dorsal, fortemente convexa superiormente em vista lateral.
 - Ocelos pequenos, ao nível do tegumento, situados sobre ou atrás da sutura arqueada pós-ocular.
 - Aparelho articular do falo nos machos sem ponte das placas basais.
- Os caracteres diagnósticos para o gênero *Cavernicola* são:
 - Cabeça com comprimento quase igual ao do pronoto.
 - Região antecular com comprimento menor, igual ou pouco maior que a pós-ocular.
 - Ocelos pequenos, inconspícuos, situados ao nível do tegumento, com superfície plana ou convexa, sobre ou atrás da sutura arqueada.
 - Genitália masculina externa com falosoma estreito, sub-retangular ou trapezoidal, aparelho articular sem ponte da placa basal e extensão mediana da placa basal de tamanho muito reduzido, fundida à placa basal, da qual não se distingue.

- As análises morfométricas confirmaram a separação das duas espécies e a colocação destas em um mesmo gênero, e demonstraram dimorfismo sexual para ambas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. Referências bibliográficas

- BAKER, J.R.; MILES, M.A.; GODFREY, D.G.; BARRETT, T.B. Biochemical characterization of some species of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) from bats (Microchiroptera). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 27, Nº 3, p. 483-491. 1978.
- BARBER, H.G. A new bat-cave bug from Panama (Hemiptera, Heteroptera: Reduviidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, v. 39, Nº 3, p. 61-63. 1937.
- BARBOSA, S.E.; DUJARDIN, J.P.; SOARES, R.P.P.; PIRES, H.H.R.; MARGONARI, C.; ROMANHA, A.J.; PANZERA, F.; LINARDI, P.M.; DUQUE-DE-MELO, M.; PIMENTA, P.F.P.; PEREIRA, M.H.; DIOTAIUTI, L. Interpopulation variability among *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae) from Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 40, Nº 4, p. 411-420. 2003.
- BARRETT, T.V. & ARIAS, J.R. A new triatominae host of *Trypanosoma* from the Central Amazon of Brazil: *Cavernicola lenti* n.sp (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 80, Nº 1, p. 91-96. 1985.
- BLOOM, B.R. Games parasites play: how parasites evade immune surveillance. *Nature*, v. 279, p. 21-26. 1979.
- BORGES, E.C.; DUJARDIN, J.P.; SCHOFIELD, C.J.; ROMANHA, A.J.; DIOTAIUTI, L.G. Genetic Variability of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) Populations. *Journal of Medical Entomology*, v. 37, Nº 6, p. 872-877. 2000.
- BORGES, E.C., DUJARDIN, J.P., SCHOFIELD, C.J., ROMANHA, A.J., DIOTAIUTI, L.G. Dynamic between sylvagic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) at the municipality of Independência, Northeastern Brazil using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and head morphometry. *Acta Tropica*, v. 93, p. 119-126. 2005.
- BRASIL. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. Projeto RADAMBRASIL. Folha SC.22 Tocantins. Rio de Janeiro, 1981.
- BRENER, Z. Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da Doença de Chagas. 1961, 79 p. Tese (Mestrado em Zoologia e Parasitologia – Faculdade de Odontologia e Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte).

- BRUMPT, E. Importance du cannibalisme et de la coprophagie chez les réduvidés hématophages (*Rhodnius*, *Triatoma*) pour la conservation des Trypanosomes pathoènes en dehors de l'hôte vertébré. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, p. 702-705. 1914.
- CARCAVALLO, R.U., TONN, R.J., GONZALEZ, J., OTERO, M.A. Notas sobre la biología, ecología y distribución geográfica de *Cavernicola pilosa* Barber, 1937 (Hemiptera, Reduviidae). *Boletín de la dirección de malariología e saneamiento ambiental* XVI(2):172-175. 1976.
- CARCAVALLO, R.U., JURBERG, J., LENT, H. *Torrealbaia martinezi*, Gen. Nov. sp.n, da tribo Cavernicolini (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): uma abordagem filogenética. *Entomologia e Vectores*, v. 5, Nº 4, p.143-150. 1998.
- CARCAVALLO, R.U., GIRÓN, I.G., JURBERG, J., LENT, H. Distribuição geográfica e Dispersão Altitudinal, In CARCAVALLO, R.U., GIRÓN, I.G., JURBERG, J., LENT, H. *Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas* v. III, Cap. 17, p. 747-792. 1ª ed., Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1999.
- CASINI, C.E.; DUJARDIN, J.P.; MARTINEZ, M.; BENTOS-PEREIRA, A.; SALVATELLA, R. Morphometric differentiation between two geographic populations of *Triatoma infestans* in Uruguay. *Res. Rev. Parasitol.*, v. 55, Nº 1, p. 25-30. 1995.
- CUNHA, B. C. C. DA; POTIGUAR, L. A. T.; IANHEZ, A. C.; BEZERRA, P. E. L.; PITTHAN, J. H. L.; SOUZA JÚNIOR, J. J. DE; MONTALVÃO, R. M. G DE; SOUZA, A. M. S. DE; HILDRED, P. R.; TASSINARI, C. C. G. *Geologia*. Projeto RADAMBRASIL. MME. Folha SC.22 Tocantins. 524 p. (levantamento de recursos naturais, 22). 1981.
- D'ALESSANDRO, A., BARRETO, B., DUARTE R., C.A. Distribution of triatominae-transmitted trypanosomiasis in Colombia and new records of the bugs and infections. *Journal of Medical Entomology*, v. 8, Nº 2, p. 159-172. 1971.
- DIAS, E., MELLO, G.P., COSTA, O., DASMACENO, R., AZEVEDO, M. Investigações sobre esquisotripanose de morcegos no Estado do Pará. Encontro do barbeiro "Cavernicola pilosa" como transmissor. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 2, Nº 1, p. 103-110. 1942.
- DUJARDIN, J.P.; BERMUDEZ, H.; CASINI, C.; SCHOFIELD, C.J.; TIBAYRENC, M. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J. Med. Entomol.*, v. 34, Nº 5, p. 544-551. 1997a.

- DUJARDIN, J.P.; BERMUDEZ, H.; SCHOFIELD, C.J. The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica*, v. 66, Nº 3, p. 145-153. 1997b.
- DUJARDIN, J.P.; FORGUES, G.; TORRES, M.; MARTINEZ, E.; CORDOBAS, C.; GIANELLA, A. Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolivia. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 92, Nº 2, p. 219-228. 1998.
- DUJARDIN, J.P.; PANZERA, P.; SCHOFIELD, C.J. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 94, Suppl. I, p. 223-228. 1999.
- FERREIRA, R.L.; MARTINS, R.P.; YANEGA, D. Ecology of bat guano arthropod communities in a brazilian dry cave. *Ecotropica*, v. 6. Nº 2, p. 105-116. 2000.
- FORERO, D.; WEIRAUCH, C.; BAENA, M. Synonymy of the Reduviidae (Hemiptera: Heteroptera) genus *Torrealbaia* (Triatoninae) with *Amphibolus* (Harpactorinae), with notes on *Amphibolus venator* (Klug, 1830). *Zootaxa*, v. 670, p. 1-12. 2004.
- GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; SILVA, D.; JURBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, v. 202, p. 1-36. 2003.
- HARRY, M.; GALINDEZ, I.; CARIOU, M. L. Isozyme variability and differentiation between *Rhodnius prolixus*, *R. robustus* and *R. pictipes*, vectors of Chagas disease in Venezuela. *Med. Vet. Entomol.*, v. 6, p. 37-43. 1992.
- GOMES, A.C. & PEREIRA, J.L.A. Sobre o encontro de *Cavernicola pilosa* Barber, 1937, no Estado do Paraná, Brasil. *Rev. Saúde Publ.*, v. 11, p. 427-428. 1977.
- GUILLAUMIN, M. Etude biometrique des populations naturelles de *P. carlivae* Rbr et *P. liasi* Rbr (lep. Hesperidae). I. Estimation du taux de chevauchement des distributions statistiques de deux population em relations avec la notion de distance taxonomique. *Arch. Zool. Exp.* Nº 115, p. 505-548. 1972.
- LENT, H. & JURBERG, J. O Gênero "Cavernicola" Barber, 1937, com um estudo sobre a genitália externa (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 29, Nº 3, p. 317-327. 1969.

- LENT, H. & WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 163, Nº 3, p. 123-520. 1979.
- LIMA, A. C. *Insetos do Brasil*. Capítulo XXII, Ordem Hemiptera. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia, 1940.
- LOROSA, E.S.; JURBERG, J.; SOUZA, A.L.A.; VINHAES, M.C.; NUNES, I.M. Hemolinfa de Dictyoptera na manutenção do ciclo biológico silvestre de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) e *Triatoma circummaculata* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomologia y Vectores*, v. 7, Nº 3, p. 287-296. 2000.
- MARINKELLE, C.J. Observations on human, monkey and bat trypanosomes and their vectors in Colombia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 60, Nº 1, p. 109-116. 1966.
- MARINKELLE, C.J. Developmental stages of *Trypanosoma cruzi*-like flagellates in *Cavernicola pilosa*. *Revista de Biologia Tropical*, v. 30, Nº 2, p. 107-111. 1982.
- PIPKIN Sr., A.C. Domiciliary reduviid bugs and the epidemiology of Chagas disease in Panama (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Journal of Medical Entomology*, v.5, Nº 1, p. 107-124. 1968.
- PROCEDIMENTOS para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na FIOCRUZ. Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ (CTBio – FIOCRUZ – Ministério da Saúde), Rio de Janeiro. 1998.
- RYCKMAN, R. Recent observations of cannibalism in *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). *The Journal of Parasitology*, p. 433-434. 1951.
- RUAS-NETO, A.L.; CORSEUIL, E. CAVALLERI, A. Development of rupestrian triatomines (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) following hemolymphagy on blaberids (Blattodea: Blaberidae) in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Entomologia y Vectores*, v. 8, Nº 2, p. 205-216. 2001.
- SANDOVAL, C. M.; DUARTE, R.; GUTÉRREZ, R.; ROCHA, D.S.; ANGULO, V.M.; ESTEBAN, E.; REYES, M.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Feeding sources and natural infection of *Belminus herreri* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from Dwellings in Cesar, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 99, Nº 2, p. 137-140. 2004.
- SCHOFIELD, C. J. Triatominae. *Biología y control*. 1 ed. UK: Eurocommunica Publications, 1994.

- SCHOFIELD, C. J. & DUJARDIN, J. P. Theories on the evolution of *Rhodnius*. *Actual Biology*. V. 21, Nº 71, p. 183-197. 1999.
- TARLETON, R.L.; KUHN, R.E.; CUNNINGHAM, D.S. Mytomycin C – treated *Trypanosoma cruzi* in vaccination of mice: induction of immunosuppression but not protection. *Infection and Immunity*. V. 31, Nº 2, p. 693-697. 1981.
- USINGER, R. L. The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. *Public Health Bulletin*. Nº 288, p. 1-81. 1944.
- WHO (World Health Organization). Em: http://www.who.int/topics/chagas_disease/en. Acesso em 16 jun. 2005.
- WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIC, A. R.; LIVAC, K. J.; RAFALSKI, JÁ; TINGEY, S. V. Polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. V. 18, Nº 22, p. 6531-6535. 1990.

7. ANEXOS

7. Anexos

ANEXO 1: PROTOCOLOS PARA PREPARO DE CORANTES E MEIOS DE CULTURA PARA TRIPANOSSOMATÍDEOS

A) MEIO LIT (LIVER INFUSION TRYPTOSE)

SOLUÇÃO 1: INFUSO DE FÍGADO

Liver infusion broth (LIB) marca DIFCO. Preparar solução a 10% em água bidestilada e autoclavar a 120°C por 20 minutos. Aliquotar e estocar a 4°C.

SOLUÇÃO 2: 4X SAIS

Preparar solução de hemina: Adicionar 5 ml de água bidestilada em um tubo plástico de 50 ml. Adicionar 5 ml de trietanolamina (Sigma 1377) Homogeneizar a solução com pipeta, observando a total retirada da trietanolamina. Adicionar 2i50 mg de hemina (Sigma H2250). Agitar em vórtex até a completa dissolução (pode levar algum tempo).

Preparar em um copo de Becker:

H ₂ O bidestilada	Aproximadamente 2 litros
NaCl	40 g
KCl	4 g
Na ₂ HPO ₄ anidro	80 g
Triptose	50 g

Podendo aquecer a água para a dissolução (\pm 30 °C), acrescentar os sais um a um e agitar até a completa dissolução. Adicionar a solução de hemina ainda em agitação. Acertar o pH para 7.4 com ácido fosfórico ou hidróxido de sódio. Evitar a utilização de ácido clorídrico.

Completar o volume para 2,5 litros (fazê-lo em proveta graduada) e agitar até a homogeneização. Aliquotar em garrafas de 500 ml e autoclavar a 120 °C por 20 minutos.

SOLUÇÃO 3: GLUCOSE 40%

Preparar solução de glucose a 40% em água bidestilada e autoclavar a 120°C por 20 minutos. Estocar a 4°C.

PREPARO DO LIT

Solução 1	Aproximadamente 2 litros
Solução 2	25 ml
Solução 3	125 ml
Soro bovino fetal estéril	5 ml
Água bidestilada estéril	Completar para 500 ml

Antibióticos:

Penicilina	100 unidades/ml
Estreptomicina	100 µg/ml
Gentamicina	10 mg/l

Não adicionar Fungizona ou Nistatina.

B) MEIO NNN (MCNEAL, NOVY E NICOLLE) + LIT (LIVER INFUSION TRYPTOSE)

Reagentes

Ágar	1,4 g
Cloreto de sódio	0,6 g
Água destilada	qsp 100 ml

Preparo

1. Pesar o ágar e colocar em balão volumétrico contendo o cloreto de sódio já dissolvido na água.
2. Aquecer a mistura até a fusão.
3. Distribuir em frascos de Erlenmeyer em alíquotas de 100 ml.
4. Esterilizar em autoclave 120°C por 20 min.
5. Colocar em banho-maria, deixando resfriar até 48-52°C. Medir com termômetro a água do banho-maria.
6. Adicionar sangue (humano ou de coelho, desfibrinado por agitação com pérolas de vidro estéreis em frascos também estéreis) na proporção de 15%, agitando com cuidado para homogeneizar a mistura.

7. Na capela de fluxo, distribuir o meio nos tubos de ensaio estéreis (3 ml por tubo), deixando-os ligeiramente inclinados para solidificação.
8. Após solidificação, deixar os tubos na estufa de cultura por 48 horas para comprovação da esterilidade.
9. Conservar os tubos na geladeira.
10. Adicionar 4 ml de LIT nos tubos em uso.

Observações

1. Prepare o NNN usando apenas uma alíquota para não perder a validade. Quando

PREPARO DO CORANTE PARA USO IMEDIATO

Dissolver 2 gotas da solução estoque para cada mililitro de água destilada. Não agite a solução – qualquer gota aderida às paredes deve ser gentilmente recolhida. Evite água de torneira, pois alterações de pH prejudicam o processo de coloração.

COLORAÇÃO DE ESFREGAÇO SANGUÍNEO

1. Deixe o esfregaço secar bem (cerca de 5 minutos)
2. Cubra o esfregaço com metanol e espere secar por mais 5 minutos (fixação)
3. Cubra o esfregaço com o corante, observando se o corante não precipitou. Espere 15 minutos e lave em água corrente. Deixe secar bem antes de examinar ao microscópio (cerca de 1 hora).

**ANEXO 2: ISOLAMENTO DE CEPAS DE TRIPANOSSOMATÍDEOS VIA
XENOCULTURA**

A) PREPARAÇÃO DO MATERIAL

1. Deixar a luz ultravioleta da capela de fluxo laminar ligada por, no mínimo, 30 minutos.
2. Separar o material de dissecação (pinças de ponta fina e tesourinhas), já autoclavado e colocá-lo em solução desinfetante ou álcool dentro da capela.
3. Colocar dentro da capela pedaços de gaze autoclavados, um recipiente contendo solução desinfetante (para descarte) e um béquero com álcool e o bico de Bunsen.

B) XENOCULTURA

1. Ligar o bico de Bunsen, deixando em fogo brando, que será utilizado para flambar os materiais de dissecação. Cada vez que for utilizar algum instrumento de dissecação, lembrar de passá-lo no álcool e flambar, para evitar contaminantes.
2. Aliquotar 1 ml de LIT em cada tubo de ensaio.
3. Com o auxílio de uma pinça, pressionar gentil e repetidamente o abdome do inseto, da base ao ápice, segurando o inseto logo acima da borda do tubo de ensaio com LIT, de modo que a gota de fezes exteriorizada caia diretamente dentro do tubo de ensaio.
4. Homogeneizar gentilmente o conteúdo intestinal obtido com o LIT.
5. Coletar uma gota do material do item 4 e examinar ao microscópio óptico, entre lâmina e lamínula ao aumento de 400X, para verificação da presença de tripanossomatídeos.
6. Em caso de positividade, transferir o material obtido no item 4 para um tubo com ágar-sangue acrescido de 4 ml de LIT + SFB 15%.
7. As culturas devem ser acompanhadas em exames semanais.

ANEXO 3: AUTORIZAÇÃO DO IBAMA



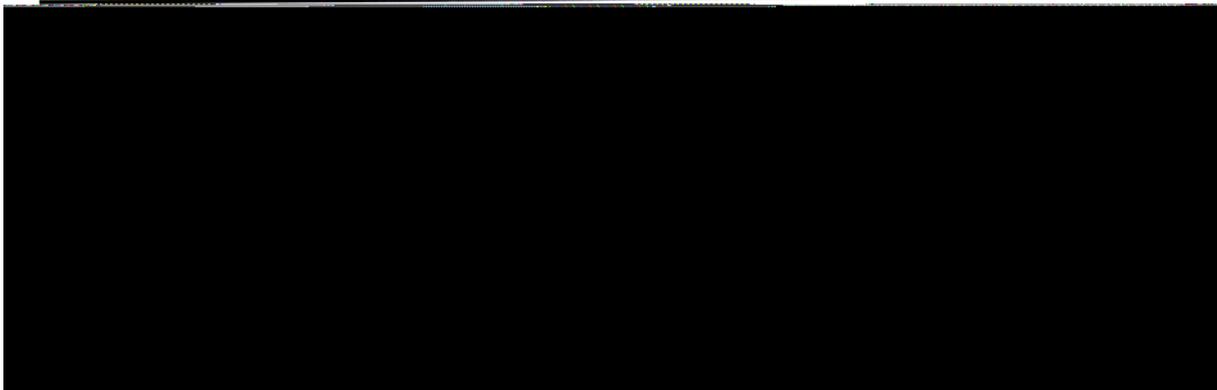
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS
 DIRETORIA DE FAUNA E RECURSOS PESQUEIROS (DIFAP)
 COORDENAÇÃO GERAL DE FAUNA (CGFAU)
 LICENÇA PARA CAPTURA/COLETA /TRANSPORTE

NÚMERO DA LICENÇA 049/2005 – CGFAU/LIC	Nº DE REGISTRO NO IBAMA *****	PERÍODO DE VALIDADE 17/03/2005 a 17/03/2006	PROCESSO IBAMA 02001006821/04
-------------------------------------------	----------------------------------	------------------------------------------------	----------------------------------



OUTROS:

OUTROS:



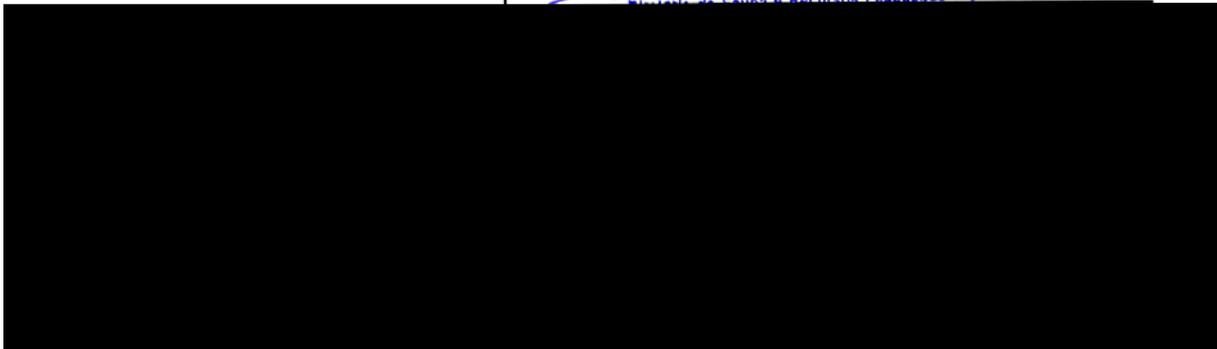
Coleta de 40 (quarenta) espécimes para manutenção em laboratório	<i>Cavernícola pilosa</i>	Barbeiros
Captura seguida de soltura de 10 (dez) espécimes / espécie	Quiróptera	Morcegos
Coleta de 1 (um) espécime / espécie	Artrópoda	Artrópodes

OBSERVAÇÕES E CONDIÇÕES:



Brasília (DF), 17 de março de 2005.

Rômulo José Fernandes Barreto Mello
 Diretor de Fauna e Recursos Pesqueiros





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE

À Sua Senhoria a Doutora
Liléia Gonçalves Diotaiuti
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ
Centro de Pesquisas René Rachou
Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas
Av. Augusto de Lima, 1715, Barro Preto
Belo Horizonte, MG
30190-002

Assunto: Encaminhamento de licença de coleta de material zoológico

Senhora Pesquisadora,

1. Estamos enviando a Licença nº 049/2005 – CGFAU/LIC, que autoriza a captura e coleta de material zoológico no âmbito do projeto “Ecologia e sistemática de *Cavernicola pilosa* Barber, 1937 (Hemiptera, Reduviidae)”.

Adicionalmente a licença de coleta de material zoológico foi concedida independente da autorização de

Atenciosamente