



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

THIAGO VASCONCELOS DOS SANTOS

FOTOMICROGRAFIA DIGITAL PARA ESTUDOS
TAXONÔMICOS DE FLEBOTOMÍNEOS DO SUBGÊNERO
Psychodopygus DO ESTADO DO PARÁ - BRASIL

Belém
2011

THIAGO VASCONCELOS DOS SANTOS

FOTOMICROGRAFIA DIGITAL PARA ESTUDOS
TAXONÔMICOS DE FLEBOTOMÍNEOS DO SUBGÊNERO
Psychodopygus DO ESTADO DO PARÁ - BRASIL

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais, Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Edna Aoba Yassui Ishikawa

Belém
2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) -
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical, Belém-PA

Santos, Thiago Vasconcelos dos

Fotomicrografia digital para estudos taxonômicos de Flebotomíneos do subgênero *Psychodopygus* do Estado do Pará- Brasil / Thiago Vasconcelos dos Santos; orientadora, Edna Aoba Yassui Ishikawa. - 2010.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Belém, 2011.

1.Flebotomíneos – Pará. I. Ishikawa, Edna Aoba Yassui, orient. II. Título.

CDD – 20. ed. 595.772

Ficha catalográfica elaborada por Valdenira Moreira, NMT/UFPA

THIAGO VASCONCELOS DOS SANTOS

FOTOMICROGRAFIA DIGITAL PARA ESTUDOS TAXONÔMICOS DE
FLEBOTOMÍNEOS DO SUBGÊNERO *Psychodopygus* DO ESTADO DO PARÁ- BRASIL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Inocêncio de Sousa Gorayeb
Museu Paraense Emílio Goeldi

Prof. Dr. Fernando Tobias Silveira
Instituto Evandro Chagas

Prof^a. Dr^a. Cláudia Alves de Andrade-Coelho
Instituto Oswaldo Cruz

Prof^a. Dr^a. Marinete Marins Póvoa
Instituto Evandro Chagas

Prof^a. Dr^a. Edna Aoba Yassui Ishikawa
Universidade Federal do Pará
Orientadora

Julgado em: ____/____/____

Conceito: _____

Belém
2011



Ao Dr. Adelson Alcimar Almeida de Souza
(in memoriam)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo;

A meus pais Clarindo e Jeane, que tão cedo tiveram que se acostumar com minha ausência em casa, entretanto nunca me fizeram desacreditar de meus sonhos, apostando todas as forças no sucesso do filho;

Às famílias Vasconcelos e Santos, por tudo que me proporcionaram ao fazer parte das mesmas. Um agradecimento especial à Águia de Cássia Silva Vasconcelos pela grande força que tem me proporcionado desde a minha concepção até o presente momento;

À minha noiva Nádile Juliane Costa de Castro, por toda a dedicação e companheirismo durante nossa convivência, que inevitavelmente acabou perpassando pelos estudos das leishmanioses;

À minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Edna Ishikawa, coordenadora do Programa de Pós Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical (NMT) da Universidade Federal do Pará (UFPA) que por todos esses anos confiou no meu interesse pela pesquisa, desde a iniciação científica à pós - graduação, e deste modo tem contribuído para o meu amadurecimento científico, humano e profissional;

À equipe do Insetário de Flebotomíneos do Laboratório de Leishmanioses do Instituto Evandro Chagas (IEC): Suely Pinheiro, Fábio Silva, Aprígio Lima, Iorlando Barata, Edna Leão, Luciene Aranha, Graça Silva e Roberto Brandão. Mais do que grandes profissionais, grandes amigos;

À equipe do Laboratório de Leishmanioses: Domingas, Palheta, Nonato, Brandão, Martins, Zufla, Rosely, Machado, Júlio, Leônidas, Lucivaldo, Negrão, Geraldo e DeLeon pelo incontestável apoio na minha formação desde a iniciação científica;

Ao Dr. Adelson Souza (*in memoriam*) Pesquisador do Laboratório de Leishmanioses (IEC) que sempre me incentivou, e a mim confiou responsabilidades sobre a digitalização da

coleção. Mais do que qualquer coisa, um grande amigo que sempre estará presente em nossos corações;

Ao Prof. Dr. Fernando Tobias Silveira (IEC), não só por aceitar colaborar com este trabalho, mas por todo apoio conferido como coordenador do Laboratório de Leishmanioses;

Ao Prof. Dr. Ralph Lainson (IEC), sempre prestativo aos meus questionamentos, corrigiu este projeto durante a fase de qualificação e me conferiu sugestões imprescindíveis a este trabalho;

À Prof^a. Dr^a. Marinete Marins Pova (IEC), pelos ensinamentos e considerações feitas a este trabalho;

Ao Prof. Dr. Habib Fraiha (NMT), por todo o aprendizado que tive em taxonomia de flebotomíneos durante suas aulas por suas considerações em minha qualificação;

Ao Prof. Dr. Bento Mascarenhas, pesquisador do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) pelas considerações feitas durante a fase de qualificação deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Inocêncio Gorayeb (MPEG), pela disponibilidade em participar colaborando com este trabalho durante a fase final;

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Alves de Andrade-Coelho, pesquisadora do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz (LTL/IOC) pela aceitação do convite em colaborar com este trabalho durante a fase final;

Ao Prof. Maurício Vilela (LTL/IOC), pela oportunidade de conhecer seu laboratório e realizar algumas capturas de imagens, mas, sobretudo pelo incentivo em prosseguir com o trabalho, atenção dada durante minha permanência no laboratório e especialmente pela amizade que cultivamos;

À Prof^a Dr^a Elizabeth Rangel (LTL/IOC), pelo interesse em meu trabalho e todo disponibilizado durante minha permanência na Fundação Oswaldo Cruz;

Ao estagiário de Iniciação Científica Rodrigo Godoy (LTL/IOC), por me auxiliar nas capturas de imagens e pelos conhecimentos que trocamos durante minha permanência na Fundação Oswaldo Cruz;

Ao fotógrafo Rodrigo Méxas, do Laboratório de Tratamento de Imagens (IOC), pela atenção dada a meu trabalho durante minha permanência na Fiocruz e sua disposição para tratamento de algumas imagens do trabalho;

À nova geração de pesquisadores do Laboratório de Leishmanioses (IEC), que junto comigo lutam em prol da pesquisa: Marliane Campos, Liliane Linhares, Luciana Lima, Roberta Sodré, Simone Almeida, Patrícia Ramos, Maísa Brito, Lúcia Helena, Nádile Castro, João Ferreira, Álvaro Ayres e todos aqueles que conviveram em nosso laboratório, e por motivos adversos não puderam seguir nesta longa caminhada;

A todos os pesquisadores e técnicos que participaram da composição da coleção de flebotomíneos por mais de 60 anos de estudos no Instituto Evandro Chagas e deste modo escreveram boa parte da história que propiciou este estudo;

Aos professores que durante o curso mestrado, proporcionaram meios para que fosse possível o máximo aproveitamento da pós - graduação;

Ao Biólogo Jorge Antônio Gonçalves de Souza, da Secretaria Estadual de Saúde Pública do Pará, pela amizade e disponibilidade de ajuda desde a idealização deste trabalho;

À direção do Instituto Evandro Chagas, pela oportunidade da realização deste trabalho em duas dependências;

À direção do Núcleo de Medicina Tropical da UFPA, pela oportunidade de realização do curso de mestrado;

Ao Laboratório Central, da Secretaria Estadual de Saúde Pública, pela oportunidade de realização do Curso de Taxonomia de Flebotomíneos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado a mim conferida;

A todos aqueles cujos nomes não foram citados, mas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies do gênero <i>Leishmania</i> Ross, 1903 reconhecidas no Novo Mundo -----	22
Tabela 2 - Espécies de <i>Leishmania</i> causadoras de Leishmanioses no Brasil e seus respectivos vetores incriminados. -----	24
Tabela 3 - Classificação geral de flebotomíneos ao nível de subfamília -----	29
Tabela 4 - Espécies de <i>Psychodopygus</i> descritas e agrupadas em suas respectivas séries.----	41
Tabela 5 - Flebotomíneos do subgênero <i>Psychodopygus</i> provenientes do acervo entomológico do Laboratório de Leishmanioses - IEC utilizados na captura de imagens. ----	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – anal
°C – graus Celsius
CDC - Center of diseases control
cm - centímetro
C – costa
CIPA – Computer- aided Identification of Phlebotomine sandflies of America
Cu- cubital
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
L - larva
L. Leishmania
Lu. Lutzomyia
IEC – Instituto Evandro Chagas
mm - milímetro
µm - micrômetro
M - média
MP – megapixel
O - ovo
P -pupa
OMS – Organização Mundial de Saúde
PA – Pará
Ps. – Psychodopygus
R- radial
RJ – Rio de Janeiro
Sc – subcosta
spp. não especificado
V - volt
V. Viannia
% - por cento

RESUMO

Os flebotomíneos compreendem um grupo de insetos de grande interesse médico-veterinário, sobretudo com sua associação vetorial com as leishmanioses. A identificação correta destas espécies no campo é prática imprescindível na pesquisa entomológica e controle de vetores de *Leishmania*, sobretudo no estado do Pará, onde a fauna de flebotomíneos é bastante diversificada em relação ao montante brasileiro. No entanto, esta prática tem sido realizada por técnicos treinados com base na “chave” atualizada em 2003, apoiada por desenhos manuais de vários pesquisadores, que muitas vezes são de difícil entendimento. Assim, este estudo objetivou apresentar a relevância do uso da fotomicrografia digital como instrumento de apoio para a identificação e registro de flebotomíneos do subgênero *Psychodopygus*. Utilizou-se como abordagem metodológica a captura de imagens de lâminas da coleção do Insetário de Flebotomíneos do Laboratório de Leishmanioses do Instituto Evandro Chagas, das diversas áreas de estudos epidemiológicos de leishmanioses do estado do Pará, no período de 1970 até a atualidade, por meio dos sistemas de: Axiostar, Canon via Phototube e câmera convencional sobreposta à ocular do microscópio. A partir das imagens capturadas, construiu-se uma base de dados organizada de acordo com a hierarquia taxonômica de Phlebotominae que posteriormente foram comparadas com as ilustrações tradicionais de chaves de identificação. Do total de 2105 lâminas, foram obtidas 222 imagens de flebotomíneos. Um banco de dados contendo 344 imagens referentes às 17 espécies de *Psychodopygus* foi preparado no decorrer do estudo. Conclui-se que as imagens das estruturas desenhadas por diferentes pesquisadores ao longo dos anos apresentavam diferenças, traduzindo a subjetividade da interpretação para a mesma espécie dentro do subgênero *Psychodopygus*; assim a fotomicrografia digital demonstra ser um recurso de grande utilidade e importância, devido apresentar vantagens, como: melhor qualidade de imagens, durabilidade, fidedignidade com o real observado e praticidade tecnológica, proporcionando maior segurança e ou confiabilidade ao profissional durante a investigação epidemiológica.

Palavras-chave: Flebotomíneos. Fotomicrografia. Taxonomia.

ABSTRACT

Sandflies are a group of insects of great medical interest, added by its vectorial association with the leishmaniasis. The correct identification of these species in the field is essential in the entomological research and control of vectors of *Leishmania*, principally in the state of Pará, where the Phlebotomine fauna is so diversified when we comparing to the Brazilian sum. However, this practical has been carried through for technician trained on the basis of the brought up to date “key” in 2003, supported for manual drawings of some researchers, that many times are of difficult agreement. Thus, this study it aimed to present the relevance of the use of the digital fotomicrography as an instrument of support for the identification and register of sandflies of the *Psychodopygus* subgenus. It was used as metodological boarding, the capture of images of blades of the collection of the Sandflies Insectary, Leishmaniais Laboratory, Evandro Chagas Institute, of several areas of epidemiological studies in Pará, in the period of 1970 until the present time, by the systems: Axiostar, Canon via Phototube and overlapping conventional camera over ocular the microscope. From the captured images, a database was constructed in accordance with the taxonomical hierarchy of Phlebotominae that had been later compared with traditional illustrations of identification keys. In the total of 2105 blades, 222 images of sandflies had been gotten. A data base contend 344 images referring to the 17 species of *Psychodopygus* was prepared diring the study. We conclude that the images of the structures drawn for different researchers throughout the years inside presented differences translating subjectiveness of interpretation for the same species of the *Psychodopygus* subgenus; thus the digital fotomicrography demonstrates to be a resource of great utility and importance, which had to present advantages, as: better quality of images, durability, fidedignity with the real observed and technological pratice, providing bigger security and or trustworthiness to the professional during the epidemiological inquiry.

Keywords: Sandflies. Photomicrography. Taxonomy.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO -----	15
2 - JUSTIFICATIVA -----	16
3 - OBJETIVOS -----	17
3.1 - GERAL -----	17
3.2 - ESPECÍFICOS -----	17
4 - REFERENCIAL TEÓRICO -----	18
4.1 - ASPECTOS HISTÓRICOS -----	18
4.2 - ASPECTOS GERAIS-----	19
4.3 - IMPORTÂNCIA MÉDICO-SANITÁRIA DOS FLEBOTOMÍNEOS-----	21
4.4 - MÉTODOS DE CAPTURA -----	28
4.5 - SISTEMÁTICA-----	29
4.6 - CARACTERES TAXONÔMICOS-----	31
4.6.1 - Aspectos Morfológicos -----	34
4.7 - SUBGÊNERO <i>Psychodopygus</i> -----	40
5 - MATERIAL E MÉTODOS -----	43
5.1 - CAPTURA DE ESPÉCIMES -----	43
5.2 - MONTAGEM E PRESERVAÇÃO -----	43
5.3 - SELEÇÃO DO MATERIAL -----	44
5.4 - CAPTURA DE IMAGENS -----	45
5.5 - TRATAMENTO DAS IMAGENS -----	46
6 - RESULTADOS -----	47
6.1 - SÉRIE <i>bispinosa</i> -----	48
6.2 - SÉRIE <i>squamiventris</i> -----	50
6.3 - SÉRIE <i>davisi</i> -----	61
6.4 - SÉRIE <i>guyanensis</i> -----	67
6.5 - SÉRIE <i>panamensis</i> -----	71

7 - DISCUSSÃO	81
7.1 - SÉRIE <i>bispinosa</i>	84
7.2 - SÉRIE <i>squamiventris</i>	84
7.3 - SÉRIE <i>davisi</i>	87
7.4 - SÉRIE <i>guyanensis</i>	89
7.5 - SÉRIE <i>panamensis</i>	90
7.6- CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
8 - CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS	94
APÊNDICE	107

1 - INTRODUÇÃO

A fotografia digital é considerada uma das grandes inovações dos últimos 20 anos, tendo sido muito popularizada tanto no nível profissional ou amador. Ao longo dos anos 2000, o uso da fotomicrografia digital tem sido documentado em vários campos da área das ciências biológicas e da saúde, tal como na odontologia, dermatologia, biologia geral e, não menos importante para nós, na entomologia médica.

O registro de flebotomíneos tem sido realizado tradicionalmente por desenhos feitos à mão a partir da observação do microscopista-desenhista, atualmente facilitados por equipamentos como câmara clara e sistemas de acoplamento a computadores e mesas digitalizadoras, sendo hoje ferramenta imprescindível na documentação desses achados.

Hoje sabe-se que existem mais de 800 espécies de flebotomíneos no planeta, sendo mais de 300 no Novo Mundo, mais de 200 no Brasil e pelo menos 120 catalogadas no estado do Pará, cuja identificação nem sempre é fácil, devido a diversos fatores, como diferenças sutis entre espécies crípticas, espécies muito semelhantes encontradas num mesmo ecótopo, estruturas fundamentais na diferenciação de um grupo taxonômico às vezes ocultadas no processo de montagem, tamanho reduzido de determinados flebotomíneos, estruturas demasiadamente hialinas, como algumas espermatecas.

Nesse âmbito, o registro da fauna de flebotomíneos poderá ser facilitado com novos equipamentos e recursos de fotodocumentação, como a fotomicrografia digital, que ajudará na descrição de espécies crípticas, na preservação de imagens de lâminas sob risco de deterioração, na comparação de espécimes de diferentes origens, variações intraespecíficas, enfim na criação de um banco de dados de imagens sobre taxonomia de flebotomíneos.

2 - JUSTIFICATIVA

A identificação de espécies de flebotomíneos no campo é prática imprescindível na pesquisa entomológica e controle de vetores de *Leishmania*. É executada por técnicos treinados baseados em “chaves” para identificação que são de entendimento fácil, práticas e confiáveis. No estado do Pará, onde a fauna de flebotomíneos é bastante diversificada em relação ao montante brasileiro, que é de 229 espécies, já foram catalogadas 126 espécies, sendo 117 do gênero *Lutzomyia* e 9 do gênero *Brumptomyia* (AGUIAR e MEDEIROS, 2003).

A fotografia convencional tem sido utilizada há bastante tempo na descrição de espécies de flebotomíneos (DAMASCENO & CAUSEY, 1944; CAUSEY e DAMASCENO, 1945). Recentemente, alguns pesquisadores vêm utilizando a fotomicrografia digital para ilustração de publicações da área com intuito de mostrar aspectos morfológicos de diferenciação de espécies crípticas em revisões taxonômicas (CARVALHO et al., 2006, ANDRADE FILHO et al., 2003). No entanto, a utilização destas imagens na construção de uma chave ilustrada é uma prática ainda inexistente, exceto em se tratando de culicídeos (SEGURA e CASTRO, 2007). As chaves atuais vêm, quando muito, acompanhadas de desenhos que em geral traduzem a interpretação do próprio ilustrador, sobretudo no que se refere a detalhes de cor e sombra ou até mesmo o estado de conservação do espécime.

O subgênero *Psychodopygus* sempre foi considerado intrigante por entomologistas, não só pela dificuldade da distinção entre as espécies e oscilação taxonômica desta categoria, mas principalmente pela incriminação de algumas espécies como vetoras de *Leishmania*. Estes fatos reforçam ainda mais a necessidade de se criar meios para facilitar a identificação destas espécies (FRAIHA e RYAN, 1986).

Neste âmbito, acreditamos que o registro fotográfico de espécimes locais seja um recurso importante, por reproduzir de forma fidedigna a imagem da preparação, inclusive nos

aspectos de luz, sombra e intensidade de pigmentação, dentre outros aspectos, evitando dúvidas quanto ao processo de interpretação de imagens, quando observadas por entomólogos diferentes.

3 - OBJETIVOS

3.1 - GERAL

Demonstrar a relevância do uso da fotomicrografia digital como instrumento de identificação e registro de flebotomíneos do subgênero *Psychodopygus*.

3.2- ESPECÍFICOS

- Fazer a identificação de *Lutzomyia (Psychodopygus) spp.* com imagens fotográficas digitais contendo informações fundamentais sobre estruturas de interesse taxonômico;
- Comparar as imagens fotomicrografadas com as ilustrações desenhadas da literatura taxonômica, para identificação de espécies;
- Preparar um acervo digital das espécies capturadas pela equipe de entomologia do IEC no período de 1970 a 2009;

4 - REFERENCIAL TEÓRICO

4.1- ASPECTOS HISTÓRICOS

Os insetos são artrópodes relativamente antigos, sendo que os primeiros registros desta classe datam do período carbonífero (360 milhões de anos atrás). A diversificação desse grupo continuou a ocorrer no período permiano (286 milhões de anos atrás), em que os dípteros surgiram (HARLAND et al., 1982).

Alguns registros de flebotomíneos em âmbar báltico e libanês indicam sua existência no período cretáceo inferior (120 a 135 milhões de anos atrás), reconhecendo-se seis gêneros do Velho Mundo atualmente extintos: *Phlebotomiella* Meunier 1906, *Phlebotomites* Henning 1972, *Mesophlebotomites* Azar et al. 1999 e *Libanophlebotomus* Azar et al. 1999, *Eophlebotomus* Cockerell 1920 emend Duckhouse 2000. e *Phlebotoiella* Solórzano Kraemer & Wagner 2009 (MEUNIER, 1905 apud ANDRADE FILHO e BRAZIL, 2003; SOLÓRZANO KRAEMER e WAGNER, 2009).

Havia apenas um registro do Novo Mundo datado do período oligoceno, de espécime encontrado em âmbar mexicano (QUATE, 1963). Recentemente, BRAZIL e ANDRADE FILHO (2002), ANDRADE FILHO et al. (2007, 2008, 2009) encontraram registros fósseis na República Dominicana, enriquecendo os achados históricos de novas espécies, já que achados anteriores haviam descrito fósseis de flebotomíneos apenas até o nível de subfamília (YOUNG e LAWYER, 1987).

4.2 - ASPECTOS GERAIS

Os flebotomíneos são insetos holometábolos, passando pelas fases de ovo, quatro estádios larvários, pupa e adulto; a duração de cada estágio varia de acordo com as espécies, as condições climáticas e o tipo de alimentação de que dispõem (BARRETTO, 1941).

Apresentam ampla distribuição geográfica, ocorrendo sob as mais diversas condições climáticas e de altitude e em ambientes silvestres, rurais e até urbanos. No Brasil são popularmente conhecidos por vários nomes que variam de acordo com a Região e o Estado. São chamados de: arrupiado, asa branca, bererê, birigui, cangalha, cangalhinha, flebótomos, frebóti, furrupa, ligeirinho, mosquito palha, orelha-de-veado, péla-égua, tatuíra e tatuquira, evidenciando-se claramente que a população distingue estes insetos de outros hematófagos (WILLIAMS, 2004).

Quanto ao comportamento, os flebotomíneos podem ser divididos em três categorias: 1) silvestres, que vivem nas florestas, encontradas associadas ao homem e animais domésticos acidentalmente; 2) semidomésticos, que vivem fora das habitações humanas e de animais domésticos; 3) domésticos, que vivem associados ao homem e animais domésticos no intradomicílio ou peridomicílio (BARRETTO, 1941 apud AGUIAR e MEDEIROS, 2003).

As formas imaturas (figura 1) têm sido encontradas nos detritos das fendas das rochas, no chão de cavernas, no solo entre as raízes das árvores, por debaixo de folhas mortas e úmidas no chão das florestas, nos detritos acumulados nas forquilhas de árvores das florestas tropicais e em tocas de animais (FORATTINI, 1973).

Em seus estádios larvais desenvolvem-se e alimentam-se de matéria orgânica depositada no solo, enquanto os adultos de ambos os sexos se alimentam de néctares de flores, seiva e outros açúcares de plantas, mel de afídeos e outros homópteros, fonte de energia para

exercerem suas atividades de vôo, acasalamento, enfim sua sobrevivência até a morte (WILLIAMS, 1970).

Somente as fêmeas adultas realizam hematofagia, elemento importante na maturação de seus ovos (FORATTINI, 1973). O estudo do conteúdo estomacal de flebotomíneos é de grande interesse ecológico e epidemiológico, permitindo descobrir a identidade das fontes de alimentação, e também servindo como subsídio para a identificação de reservatórios potenciais de *Leishmania* e o papel protetor que certos animais poderiam desempenhar, em relação ao homem, em área de transmissão desses parasitos (OLIVEIRA-PEREIRA et al, 2008).

Flebotomíneos adultos possuem atividade crepuscular e noturna, movimentando-se em vôo saltitante em torno de seus hospedeiros, com capacidade de dispersão em área de até 200 metros em uma única noite. São particularmente ativos nas tardes e noites quentes e calmas, com temperatura superior a 20°C (FORATTINI, 1973).

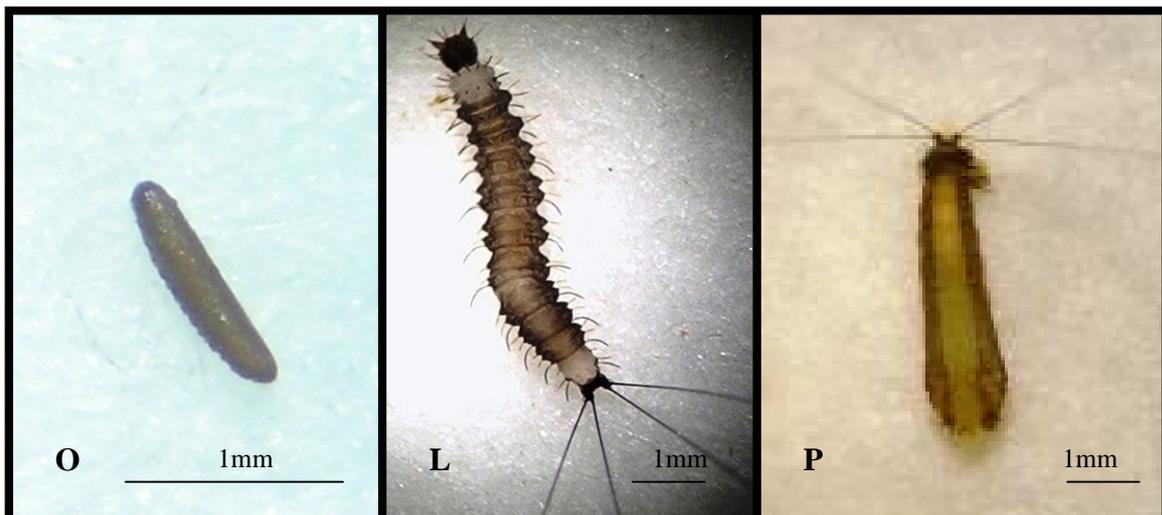


Figura 1- Formas imaturas de flebotomíneos. (O) ovo, (L) larva e (P) pupa (fotos: Thiago V. Santos).

O macho possui os três últimos segmentos abdominais modificados em uma genitália externa proeminente e invertida, com apêndices articulados desenvolvidos, estrutura peculiar a cada espécie. O aparelho bucal é curto e as mandíbulas são atrofiadas. Já a fêmea tem o corpo robusto, com os três últimos segmentos abdominais telescopados e sem apêndices, permitindo a execução de determinadas funções, como a oviposição e a cópula. Possui um par de espermatecas (estrutura em forma de saco utilizado para armazenagem de espermatozoides), que são de grande interesse taxonômico e peças bucais vulnerantes, de igual ou maior tamanho que a cabeça (figura 2) (YOUNG e DUNCAN, 1994).

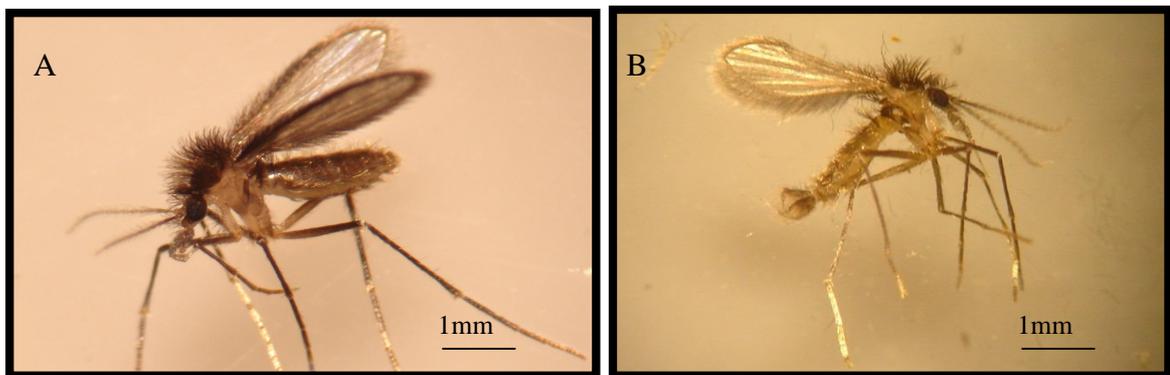


Figura 2- Fêmea (A) e macho (B) de flebotomíneo (fotos: Thiago V. Santos).

4.3 - IMPORTÂNCIA MÉDICO-SANITÁRIA DOS FLEBOTOMÍNEOS

No Oriente Médio, a picada de *Phlebotomus papatasi* Scopoli 1786 representa uma praga, causando uma reação alérgica conhecida em Israel como “harara”. Tais reações severas não foram registradas no Novo Mundo, mas as picadas de muitos flebotomíneos americanos podem ser particularmente dolorosas (ADLER e THEODOR, 1957).

Diversos agentes etiológicos de doenças humanas e de animais podem ser carreados por vetores flebotomíneos, dentre eles, protozoários dos gêneros *Leishmania* Ross, 1903 (WARD,

1977) e *Trypanosoma* Gruby, 1843 (ARIAS e FREITAS 1982), bactérias do gênero *Bartonella* Barton, 1909 (SCHULTZ, 1968) e alguns arbovírus (TESH et al., 1974).

As leishmanioses constituem as mais importantes doenças transmitidas por flebotomíneos. Os sintomas podem variar de acordo com a espécie de *Leishmania* infectante e com o perfil imunológico do hospedeiro. Basicamente se diferenciam em dois tipos patológicos principais: um predominantemente viscerotrópico e outro tegumentar. Aproximadamente 350 milhões de pessoas em 88 países estão ameaçadas por essas doenças (OMS, 2006).

Na natureza, todas as espécies de *Leishmania* são transmitidas pela picada de flebotomíneos. Os hospedeiros incluem uma grande variedade de mamíferos, tais como roedores, canídeos e primatas, entre outros (LAINSON e SHAW, 1979; LAINSON et al., 1994).

No Novo Mundo são reconhecidas 22 espécies pertencentes ao gênero *Leishmania*, sendo 15 patogênicas para o homem (tabela 1). O gênero *Leishmania* pertence à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, e está dividido em dois subgêneros, *Viannia* e *Leishmania*, de acordo com o tipo de desenvolvimento no trato digestivo do vetor (LAINSON et al., 1979; LAINSON e SHAW, 1987).

Tabela 1: Espécies do gênero *Leishmania* Ross, 1903 reconhecidas no Novo Mundo.

Subgênero <i>Leishmania</i> Ross, 1903	Subgênero <i>Viannia</i> Lainson & Shaw, 1987
<i>L.(L.) enriettii</i> Muniz & Medina, 1948	<i>L.(V.) braziliensis</i> Vianna, 1911 emend. Matta, 1916 ¹
<i>L.(L.) mexicana</i> Biagi emend Garnham, 1962 ¹	<i>L.(V.) peruviana</i> Vélez, 1913 ¹
<i>L.(L.) pifanoi</i> Medina & Romero, 1959 emend. Medina & Romero, 1962 ¹	<i>L.(V.) guyanensis</i> Floch, 1954 ¹
<i>L.(L.) hertigi</i> Herrero, 1971	<i>L.(V.) panamensis</i> Lainson & Shaw, 1972 ¹
<i>L.(L.) amazonensis</i> Lainson & Shaw, 1972 ¹	<i>L.(V.) lainsoni</i> Silveira et al., 1987 ¹
<i>L.(L.) deanei</i> Lainson & Shaw, 1977	<i>L.(V.) naiffi</i> Lainson & Shaw, 1989 ¹
<i>L.(L.) garnhami</i> Scorza et al., 1979 ¹	<i>L.(V.) shawi</i> Lainson et al., 1989 ¹
<i>L.(L.) forattinii</i> Yoshida et al., 1993	<i>L.(V.) equatoriensis</i> Grimaldi et al., 1992
<i>L.(L.) aristidesi</i> Lainson & Shaw, 1979 emend. Lainson & Shaw, 1987	<i>L.(V.) colombiensis</i> Kreutzer et al., 1991 ¹
<i>L.(L.) venezuelensis</i> Bonfante-Garrido, 1980 ¹	<i>L.(V.) lindenbergi</i> Silveira et al., 2002 ¹
<i>L.(L.) infantum</i> chagasi Cunha e Chagas 1937 ¹ emend Shaw 2002	<i>L.(V.) utingensis</i> Braga et al., 2003

¹ -Espécies patogênicas para o homem

Atualmente no Brasil são reconhecidas oito espécies causadores de doença humana. *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna, 1911, *L. (V.) guyanensis* Floch, 1954, *L. (V.) lainsoni* Silveira, 1987, *L. (V.) naiffi* Lainson e Shaw, 1989, *L. (V.) shawi* Lainson et al. 1989 e *L. (V.) lindenbergi* Silveira et al. 2002, pertencentes ao subgênero *Viannia*; *L. (Leishmania) amazonensis* Lainson e Shaw, 1972, *L. (L.) infantum chagasi* Cunha e Chagas 1937 emend Shaw 2002, pertencentes ao subgênero *Leishmania*, sendo esta última causadora da Leishmaniose Visceral Americana (LVA) e recentemente modificada para esta nomenclatura zoológica, por se encontrar em processo de subspeiação do complexo *L. infantum* (LAINSON e SHAW, 1987, SILVEIRA et al., 2002; SHAW 2006).

Algumas espécies de flebotomíneos têm sido consideradas como importantes vetoras de *Leishmania* com base em evidências como grau de antropofilia, infecção natural por *Leishmania* e distribuição espacial coincidente com a doença (RANGEL e LAINSON, 2003).

Do total de 386 flebotomíneos do Novo Mundo (CIPA GROUP, 1993), mais de 20 espécies de flebotomíneos são vetores comprovados de *Leishmania* (tabela 2). Estes parasitos apresentam uma ampla variação topogeográfica em sua ocorrência, apresentando uma distribuição geralmente focal. Em relação ao seu envolvimento com humanos ocorrem em mais de 100 países do mundo, de clima subtropical ou tropical, em ciclos antroponóticos e zoonóticos (LAINSON e SHAW, 1987). De acordo com considerações de MARCONDES (2007), costuma-se adotar a sigla “*Lu.*” para *Lutzomyia* e “*L.*” à *Leishmania*.

Tabela 2 - Espécies de *Leishmania* causadoras de Leishmanioses no Brasil e seus respectivos vetores incriminados.

Parasito	Vetor
<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i> ¹	<i>Lutzomyia (Psychodopygus) wellcomei</i> Fraiha, Shaw & Lainson, 1971 <i>Lutzomyia (Psychodopygus) complexa</i> Mangabeira Filho, 1941 ?* <i>Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani</i> Antunes & Coutinho, 1939 <i>Lutzomyia (migonei) migonei</i> França, 1920 <i>Lutzomyia (Pintomyia) fischeri</i> Pinto, 1926 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia</i> Lutz & Neiva, 1912 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) neivai</i> Pinto, 1926
<i>Leishmania (Viannia) guyanensis</i> ¹	<i>Lutzomyia (Nyssomyia) umbratilis</i> Ward & Fraiha, 1977 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) anduzei</i> Rozeboom, 1942 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani</i>
<i>Leishmania (Viannia) lainsoni</i> ¹	<i>Lutzomyia (Trichophoromyia) ubiquitalis</i> Mangabeira Filho, 1942
<i>Leishmania (Viannia) shawi</i> ¹	<i>Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani</i>
<i>Leishmania (Viannia) naiffi</i> ¹	<i>Lutzomyia (Psychodopygus) paraensis</i> Costa Lima, 1941 <i>Lutzomyia (Psychodopygus) ayrozai</i> Barreto & Coutinho, 1940 <i>Lutzomyia (Psychodopygus) squamiventris squamiventris</i> Lutz & Neiva, 1912
<i>Leishmania (Viannia) lindenbergi</i> ¹	<i>Lutzomyia (Nyssomyia) antunesi</i> (?) Coutinho, 1939
<i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i> ¹	<i>Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata</i> Mangabeira Filho, 1942 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) olmeca nociva</i> Young & Arias, 1982 <i>Lutzomyia (Nyssomyia) olmeca reducta</i> Feliciangeli, Ramírez Pérez & Ramírez, 1988
<i>Leishmania (Leishmania) infantum chagasi</i> ²	<i>Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis</i> Lutz e Neiva, 1912 <i>Lutzomyia (Lutzomyia) cruzi</i> Mangabeira Filho, 1938 ?* <i>Lutzomyia (série migonei) migonei</i> (?) <i>Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia</i> (?)

(?) Vetores suspeitos;

(1) Parasito causador de Leishmaniose Tegumentar Americana;

(2) Parasito causador de Leishmaniose Visceral Americana;

(*) identificações baseadas na ausência de machos na área de captura.

Até meados da década de 60 acreditava-se que todas as formas promastigotas encontradas nos flebotomíneos capturados no campo pertenciam ao gênero *Leishmania* e que todas eram infectantes para o homem. No entanto, alguns parasitos passam por um estágio de

promastigota no qual são morfologicamente indistinguíveis das leishmânias (SIQUEIRA, 2004).

Hoje sabe-se que os flebotomíneos são hospedeiros de mais de 150 microorganismos não-*Leishmania*. Isto se deve, principalmente, ao encontro de numerosos arbovírus que foram estudados por mais de 30 anos, cuja diversidade pode ser explicada pela transmissão transovariana. Entretanto, a importância vetorial e sanitária desses flebotomíneos ainda não foi claramente definida (SHAW et al., 2003; WHO, 1967).

O encontro de flagelados em dissecções de flebotomíneos é fato comumente documentado como subproduto de estudos epidemiológicos sobre as leishmanioses (LAINSON et al., 1979). Entretanto, poucos parasitos têm sido isolados e caracterizados. Embora alguns deles tenham sido listados como pertencentes ao gênero *Trypanosoma*, essa caracterização deve ser vista com cautela, bem como a competência vetorial desses insetos para referidos parasitos.

É possível que algumas infecções atribuídas a *Leishmania* sejam em verdade causadas por flagelados do gênero *Endotrypanum*, pois seus reservatórios, as preguiças, são os mesmos de inúmeras espécies de *Leishmania* nas Américas (SHAW et al., 2003). Entre os parasitos do gênero *Trypanosoma* encontrados em flebotomíneos na Amazônia, podemos citar *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 em *Lu. shannoni* Dyar, 1929 (ARIAS et al., 1985), *Trypanosoma sp.* em *Lu. rorotaensis* Floch & Abonnenc, 1944 (LAINSON e SHAW, 1979) e em *Lu. micropyga* (SHERLOCK e PESSÔA, 1966) além de *Trypanosoma freitasi* Rêgo, Magalhães & Siqueira, 1957 em *Lu. (Ps.) clautrei* Abonnenc, Léger e Fauran, 1979 (NAIFF et al., 1989).

Tripanossomatídeos monoxênicos são extremamente raros em flebotomíneos, visto que existe apenas um achado bem documentado de coanomastigotas, células em forma de pêra ou grão de cevada; cinetoplasto anterior ao núcleo, flagelo emergindo anteriormente de um

reservatório (ALMEIDA VITOR, 2004), encontradas em *Lutzomyia (Psychodopygus) wellcomei* Fraiha, Shaw & Lainson, 1971 (RYAN et al. 1987).

O gênero *Ascogregarina* Ward, Levine & Craig, 1982 (sinonímia: *Monocystis* Von Stein, 1848, *Lankesteria* Mingazzini, 1891 e *Ascocystis* Grasse, 1953 os quais incluem diversos parasitas de dípteros, tem sido encontrado parasitando flebotomíneos de várias espécies, sendo os achados mais representativos, *Ascogregarina chagasi* Adler & Mayrink, 1961 em *Lu. longipalpis* (ADLER e MAYRINK, 1961) e em *Lu. evandroi* Costa Lima & Antunes, 1936 (BRAZIL e RYAN, 1984) além de *Ascogregarina sp.* em *Lu. flaviscutellata* Mangabeira Filho, 1942 (LEWIS et al., 1970). Mais recentemente por meio de caracterização molecular, destacando seqüências nucleotídicas distintas na subunidade menor do rDNA, além da localização característica dos oocistos nas glândulas acessórias, alguns autores elevaram as Gregarinas de flebotomíneos à criação de um novo gênero, *Psychodiella* (VOTÝPKA et al, 2009).

Quanto à microsporídeos, infecções sem identificação específica no intestino médio de *Lu. (Ps.) lainsoni* (WARD e KILLICK-KENDRICK, 1974), nos túbulos de Malpighi de *Lu. (Ps.) complexa* (LAINSON et al., 1977), estágios evolutivos de parasita semelhante à *Thelohania* em *Lu. (Ps.) maripaensis* (CANNING, 1977) foram relatadas. Entretanto, espécies identificadas foram relatadas apenas na infecção de *Phlebotomus ariasi* por *Flabeliforma montana* (CANNING et al., 1991) e mais recentemente na infecção de *Lu. (Lu.) longipalpis* por *Vavraia lutzomyiae* (MATOS et al., 2006).

O encontro de nematódeos em flebotomíneos brasileiros tem sido ocasional, sugerindo que são acidentais ingestões de parasitos do sangue periférico de hospedeiros (BRAZIL e RYAN, 1984). Mais recentemente foi evidenciado no sul do estado do Pará o encontro de

microfilárias no intestino de *Lutzomyia sordellii*. Entretanto o papel vetorial na transmissão desses nematódeos na região estudada não foi comprovado (SOUZA et al., 2007).

4.4 - MÉTODOS DE CAPTURA

Os métodos de captura visando o trabalho de investigação epidemiológica oferecem possibilidades de escolha de acordo com a estratégia de trabalho, local de captura e disponibilidade de equipamento. Os mais utilizados são CDC, armadilha de caixa, armadilha de Disney, armadilha de Shannon, e captura de tronco (FORATINNI, 1973).

Armadilha de luz tipo CDC e suas variações – consistem, basicamente, em um foco luminoso associado a uma ventoinha colocada dentro de um tubo de polietileno e mantida em movimento rotatório por um motor de 6 volts alimentado por 4 pilhas de 1,5 V ou por uma bateria de motocicleta. Acima da lâmpada, ligada a um tubo, encontra-se uma bandeja de alumínio cuja função é refletir a luz da lâmpada e proteger da chuva, confundindo o inseto e o atraindo. Abaixo do tubo, é colocado um saco de tecido ou outro dispositivo destinado à retenção dos insetos sugados pela ventoinha (CHANIOTIS e ANDERSON, 1968; FALCÃO, 1981; PUGEDO et al., 2005).

A armadilha de caixa é constituída por uma armação de madeira coberta com tela de nylon, medindo 82 x 30 x 30 cm. Possui 2 cones laterais para entrada dos flebótomos e uma porta lateral. Dentro são colocados dois roedores como isca (FORATINNI, 1973).

Armadilha de Disney - utilizada com auxílio de roedores como isca, consta de uma bandeja de alumínio para contenção do óleo de rícino, nujol ou castrol, colocando-se na parte central uma pequena gaiola contendo o animal que servirá de isca. Os insetos aderidos ao óleo

são facilmente coletados com um pincel. Tudo deve ser protegido por uma cúpula de plástico ou alumínio, para evitar a exposição excessiva à luz e à chuva (DISNEY, 1966).

Shannon, em estudos sobre a transmissão da febre amarela, elaborou uma armadilha que consiste em uma armação central de pano em forma retangular, com duas superfícies externas igualmente de pano. No campo, a armadilha deve permanecer suspensa e fixada por meio de cordas em quatro pontos amarrados. A luz refletida no pano ou animais servem de atrativos para captura com auxílio de um capturador de Castro, que consiste em um pequeno filtro de combustível de motocicleta, acoplado a um tubo de borracha e a um cilindro de acrílico (SHANNON, 1939; VILELA et al., 2003).

Também podem ser realizadas capturas diretamente em troncos de árvores em várias alturas, podendo o capturador coletar flebotomíneos com o auxílio de um aspirador manual e lanterna. ou com a ventoinha de uma armadilha CDC sem a bandeja de alumínio (FORATTINI, 1973).

4.5 - SISTEMÁTICA

Os flebotomíneos pertencem à subordem Nematocera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae (tabela 3), No Velho Mundo, esta subfamília é composta por três gêneros: *Phlebotomus* Rondani & Berte, 1840, *Sergentomyia* França e Parrot, 1920 e *Chinius* Leng, 1987.

Tabela 3 – Classificação geral de flebotomíneos ao nível de subfamília, segundo Young e Duncan, 1994.

Posição Taxonômica	Classificação
Domínio	Eukaryota Whittaker & Margulis, 1978
Reino	Animalia Linnaeus, 1758
Filo	Arthropoda Latreille, 1829
Classe	Insecta Linnaeus, 1758
Ordem	Diptera Linnaeus, 1758
Sub-ordem	Nematocera Scopoli, 1786
Família	Psychodidae Newman, 1834
Subfamília	Phlebotominae Rondani, 1840

Com relação aos flebotomíneos do Novo Mundo, estudos taxonômicos clássicos reconhecem três outros gêneros: *Lutzomyia* França e Parrot, 1920, *Brumptomyia* (França e Parrot, 1921 e *Warileyia* Hertig, 1948 (LEWIS et al., 1977). *Psychodopygus* Mangabeira, 1941 tem sido elevado a nível de gênero por alguns autores. (FRAIHA et al., 1971; FORATTINI, 1973; RYAN, 1986; READY et al., 1980), contudo, sua posição taxonômica foi mantida neste trabalho como um subgênero de *Lutzomyia* de acordo com as considerações de Lewis et al., 1977; Young e Duncan, 1994; Rangel e Lainson, 2009.

Uma nova classificação proposta por GALATI (1995), com abordagem filogenética, revisou a taxonomia dos flebotomíneos do Novo Mundo em função de características compartilhadas que são novidades evolutivas, separando-os em 31 gêneros e 35 subgêneros. Isto incluiu uma completa revisão e reorganização das espécies da subfamília Phlebotominae em duas tribos (Hertigiini e Phlebotomini). A primeira foi dividida em duas subtribos Hertigina e Idiophlebotomina, e a segunda em Phlebotomina, Australophlebotomina, Brumptomiina, Sergentomiina, Lutzomiina e Psychodopygina. Tal classificação é uma proposta recente que tem sido incorporada pelos pesquisadores, sendo nitidamente observada pela nomenclatura zoológica adotada em recentes publicações da área.

Em 2003, GALATI et al. encontraram em uma caverna do Piauí um novo exemplar de flebotomíneo, o qual não se enquadrava em nenhum dos grupos taxonômicos atuais, visto ser uma espécie com características primitivas, a que foi proposto um novo gênero, *Edentomia*, no qual se insere a nova espécie descoberta, *E. piauiensis*. Na América, pela classificação clássica, representa o quarto gênero de flebotomíneos encontrado e o 32º gênero desse grupo pela classificação filogenética.

4.6 – CARACTERES TAXONÔMICOS

Os caracteres utilizados para a descrição e identificação de flebotomíneos têm sido predominantemente morfológicos, referindo-se à morfologia externa e eventualmente à morfologia interna. Para machos e fêmeas de flebotomíneos são descritas estruturas externas e internas que resistem ao processo de clarificação, método em que se utilizam substâncias para facilitar a visualização destas estruturas, tais como o bálsamo do Canadá e o berlese (G.B.I. Laboratories, Manchester, England).

A identificação de flebotomíneos evoluiu nos últimos 25 anos, graças ao emprego de uma variedade de técnicas, o que concorreu para definir, de maneira mais clara, os ciclos de transmissão. Torna-se importante ressaltar que nem sempre é possível fazer a identificação de espécies muito próximas, já que as fêmeas antropófilas, as que transmitem os parasitos ao homem, podem ser morfológicamente muito similares. A importância da correta identificação dos flebotomíneos está diretamente associada às medidas de controle a serem implantadas, bem como ao conhecimento do ciclo de transmissão envolvendo sorodemas de *Leishmania* que provocam diferentes respostas imunes. (RYAN, 1986).

Atualmente, a identificação e caracterização de flebotomíneos pode ocorrer mediante as seguintes técnicas: morfometria (MARCONDES et al., 1998), análise dos perfis bioquímicos por eletroforese de isoenzimas (MILES e WARD, 1978), análise dos hidrocarbonetos da cutícula e hibridização de DNA com sondas específicas que reconhecem diferentes espécies de flebotomíneos morfológicamente semelhantes (READY et al., 1991). O sequenciamento genético, análises de DNA recombinante de determinadas populações e/ou espécies crípticas também tem sido documentado. Na pesquisa de polimorfismos em *Lu. (Nyssomyia) withmani sensu lato* Antunes & Coutinho, 1939, vários trabalhos já identificaram populações distintas, isoladas geograficamente (RANGEL et al., 1996; READY, et al., 1998; ISHIKAWA et al., 1999; COSTA, 2005).

A descrição morfológica das espécies é ainda o método primário de identificação de flebotomíneos. Ao longo do século XX este método de descrição proporcionou o conhecimento de praticamente todas as espécies conhecidas até hoje, sobretudo na década de 40 (figura 3). Os estudos de flebotomíneos no estado do Pará tem sido expressivos há muitos anos pelos trabalhos de diversos pesquisadores com atenção dirigida a grupos de interesse epidemiológico, rendendo assim a descrição de pelo menos 50 espécies pelo Instituto Evandro Chagas desde a década de 30 até 1986, quando a última espécie foi descrita (FRAIHA e RYAN, 1986).

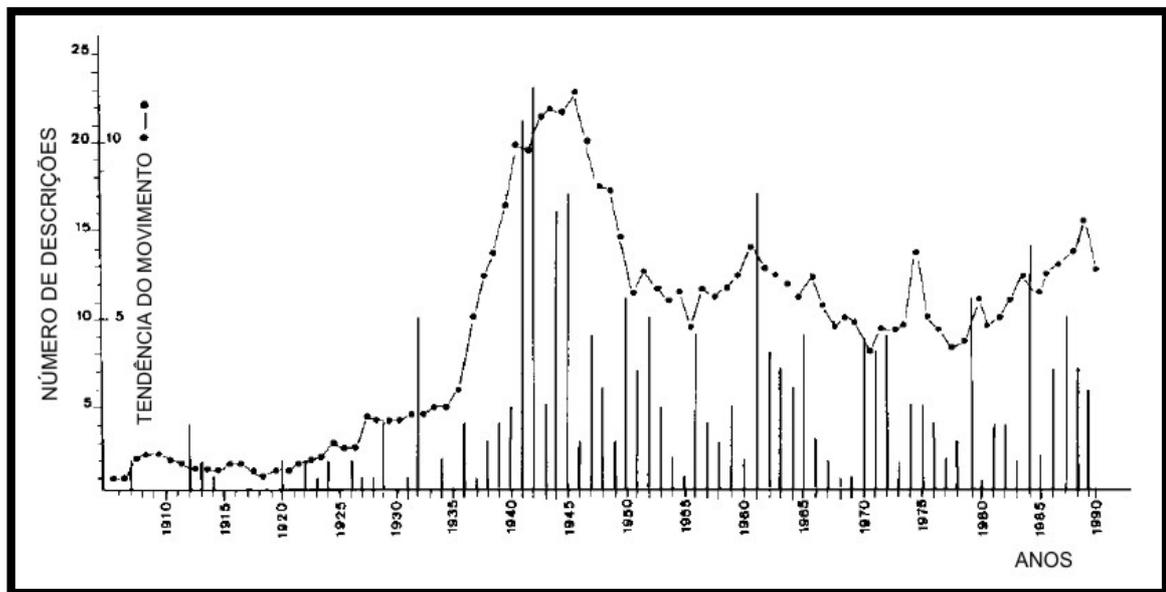


Figura 3 – Número de descrições de flebotomíneos ao longo da linha do tempo, no século XX. (CIPA GROUP, 1993).

A proposta do Computer- aided Identification of Phlebotomine sandflies of America (CIPA) GROUP (1991), de padronizar as descrições dos flebotomíneos americanos, indica que a morfologia permanecerá ainda por muitos anos como o principal método no reconhecimento e descrição das espécies. Entretanto, não se colocam em descarte os métodos moleculares e bioquímicos mencionados, extremamente úteis na diferenciação de espécies crípticas, grupos não taxonômicos e complexos de espécies, pois apesar da boa conservação morfológica dos flebotomíneos após montagem a identificação de algumas espécies e a visualização de certas estruturas tornam-se difíceis devido ao tamanho reduzido destes insetos. Diferenças morfológicas extremamente sutis dificultam também o processo de identificação (LANE, 1988).

Quanto à ascensão de métodos moleculares na protozoologia e na entomologia de flebotomíneos, sabe-se que estudos de diversidade genética são fundamentais e auxiliam na compreensão de múltiplos padrões clínicos que as leishmanioses podem assumir. Variabilidades genéticas encontradas em parasitos isolados de localidades diferentes podem

apresentar diferenças moleculares significantes, coincidentes com diferentes formas clínicas apresentadas. Isto também pode ser entendido na questão dos vetores. Por exemplo, o fato de *Lu. longipalpis* ser, atualmente, considerada um complexo de espécies (BAUZER et al, 2007), poderia talvez ajudar a explicar as diferentes manifestações clínicas da leishmaniose visceral nas Américas, até hoje não totalmente aclaradas (LAINSON e RANGEL, 2005).

4.6.1 - Aspectos Morfológicos

A cabeça dos flebotomíneos é larga e achatada no sentido dorso-ventral, sendo o diâmetro transversal ao nível dos olhos geralmente um pouco maior que o diâmetro longitudinal. Os olhos são formados por um número variável de omatídeos, negros e muito grandes, ocupando parte das faces ântero-laterais (GALATI, 2003^b).

As peças bucais são do tipo sugador pungitivo, formadas pelo labro, um par de mandíbulas, hipofaringe, um par de maxilas e lábio (YOUNG e DUNCAN, 1994).

O cibário (figura 4) é uma cavidade formada por placas de escleritos dorsoventrais que se unem nas laterais, onde são mais esclerosadas e constituem os escleritos laterais. Na margem posterior da face ventral podem estar presentes vários conjuntos de dentes, ocupando áreas e diferentes posições em relação ao lúmen e que constituem a armadura bucal (GALATI, 2003^b).

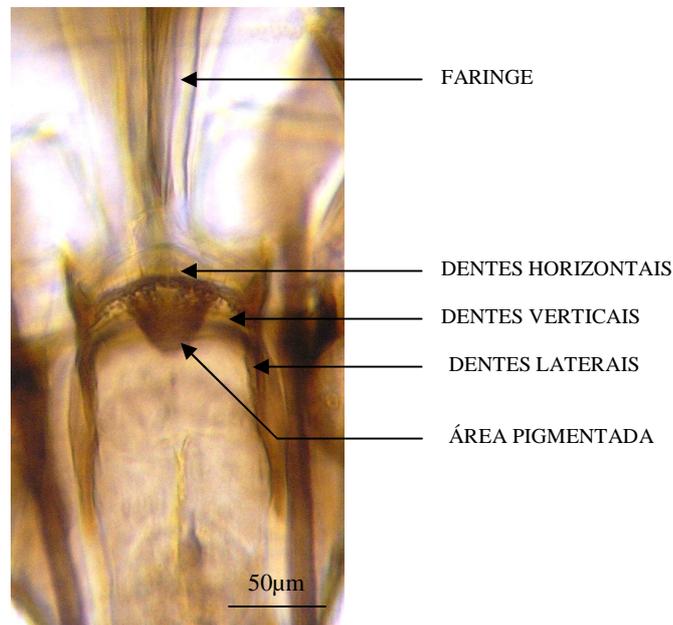


Figura 4 – Cibário de *Lutzomyia longipalpis*. Estruturas observadas nos estudos morfológicos acompanhadas de setas indicadoras (Foto: Thiago V. Santos).

O tórax é constituído pelo protórax, muito reduzido e pouco visível, o mesotórax, bem desenvolvido e que forma a maior parte do tórax, e o metatórax, também relativamente pouco desenvolvido. O pronoto é pequeno e se encontra recoberto pelo mesonoto, que é muito desenvolvido (FORATTINI, 1973).

Quanto às asas (figura 5), as nervuras transversais são em número de 6 e se acham situadas todas na metade basal das asas. São intensamente pilosas, em repouso sua posição é ereta e divergente, de onde vem a terminologia popular “orelha de veado”. O sistema proposto por REDTENBATCHER (1886) apud McALPINE (1981) reconhece estas seis veias primárias: costa (C), subcosta (Sc), radial (R), média (M), cubital (Cu) e anal (A).

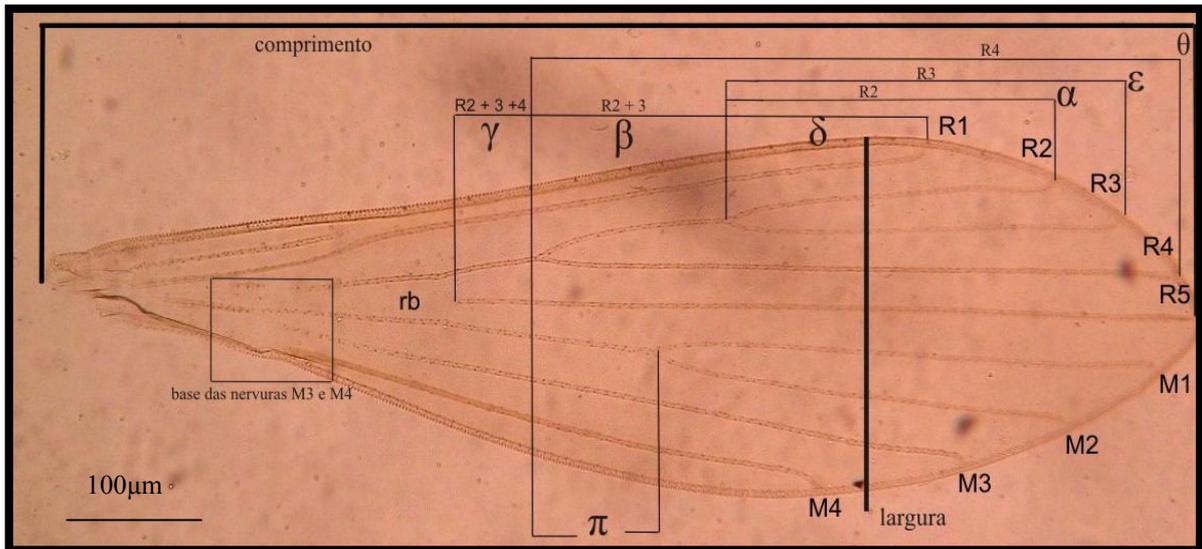


Figura 5- Asa de Phlebotominae com parâmetros de cálculos de morfometria alar. *Lutzomyia antunesi* (foto: Thiago V. Santos).

Têm sido mencionadas várias medidas de veias alares, desde o início dos estudos sistemáticos. As mais empregadas são: largura da asa, obtida em seu ponto mais largo; comprimento da asa, comprimento de R_5 , comprimento do ramo R_2 (α), comprimento do ramo R_{2+3} (β), comprimento do ramo R_{2+3+4} (γ), comprimento da distância entre o ponto de bifurcação de R_2R_3 e a extremidade de R_1 (δ), comprimento da distância entre os pontos de bifurcação de $R_{2+3}R_4$ e a M_1M_2 (π) (McALPINE, 1981). As razões alares propostas por França (1919) também podem ser utilizadas, e dentre as mais importantes, destaca-se o índice alar, que é a razão α / β .

As patas são longas, delgadas e recobertas de escamas curtas e largas, com algumas cerdas finas e longas entremeadas. Compõem-se de coxa, trocânter, fêmur, tíbia e tarso pentarticulado. A razão entre os comprimentos de alguns segmentos das pernas tem sido útil na separação de espécies ou de grupos, tais como: fêmur/tíbia, tarsômero I, tarsômero II+III+IV+V (McALPINE, 1981).

O abdômen consta de 10 segmentos, sendo os dois últimos modificados para constituir o aparelho genital externo, terminália, genitália, ou hipopígio. Os segmentos abdominais propriamente ditos não apresentam caracteres de importância, salvo a existência de cerdas sobre alguns tergitos (superfície dorsal). Nas fêmeas, a porção final do abdome é ligeiramente arredondada, sendo os últimos segmentos telescopados. Nos machos, o 9° e o 10° segmentos são bifurcados e compõem, juntamente com outros elementos, a genitália masculina (YOUNG e DUNCAN, 1994).

O aparelho genital masculino externo constitui, no macho, a armadura genital que se compõe de basistilos, dististilos, edeago, parâmeros e lobos laterais (figura 6). O aparelho genital feminino externo compõe-se de 2 pares de apêndices curtos e de aspecto foliáceo; um superior ou dorsal, maior, e outro inferior ou ventral, menor (FORATTINI, 1973).

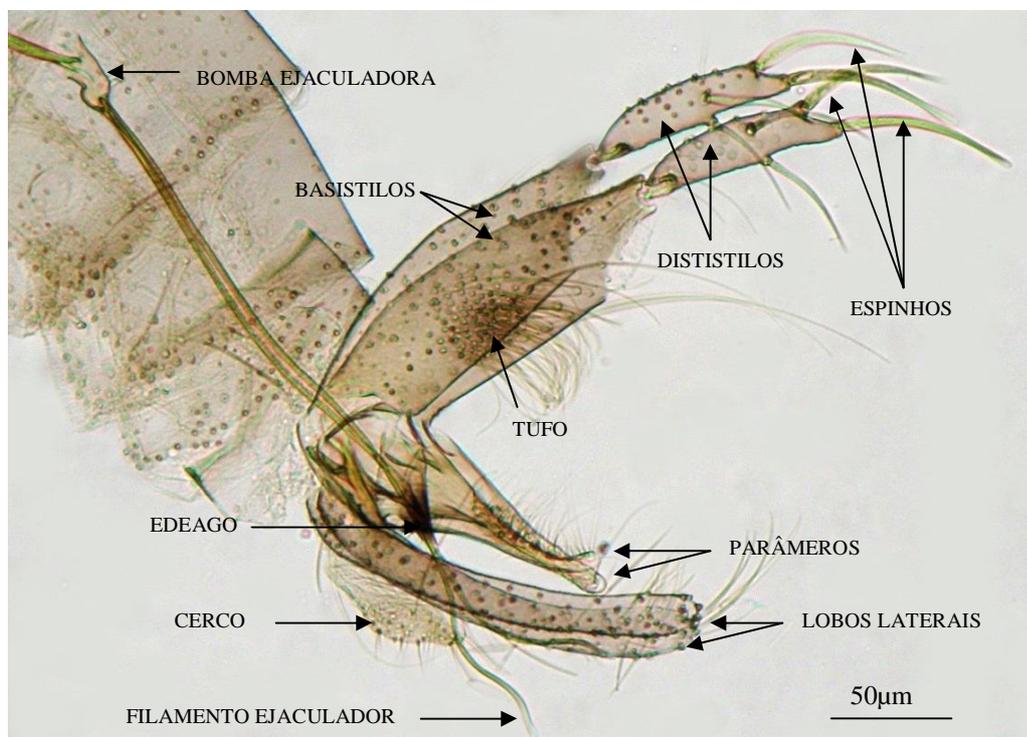


Figura 6 - Genitália externa de macho de flebotomíneo *Luzomyia antunesi*. Estruturas observadas nos estudos morfológicos acompanhadas de setas indicadoras (Foto: Thiago V. Santos).

Quanto à morfologia interna, o aparelho digestivo consta da cavidade bucal, esôfago, estômago e intestino (figura 7). O intestino pode ser subdividido em intestino anterior, médio e posterior (CHAPMAN, 1998). Como glândulas anexas do tubo digestivo temos: as glândulas salivares (não apreciadas na figura) e os tubos de Malpighi. As glândulas salivares são em número de duas. Acham-se situadas ventralmente, de cada lado da parte anterior do tórax; são esféricas e revestidas por uma só camada de epitélio cúbico. Os tubos de Malpighi são em número de quatro, que se unem dois a dois imediatamente antes de se abrirem no intestino, logo após a união deste com o estômago (JOBBLING, 1987).

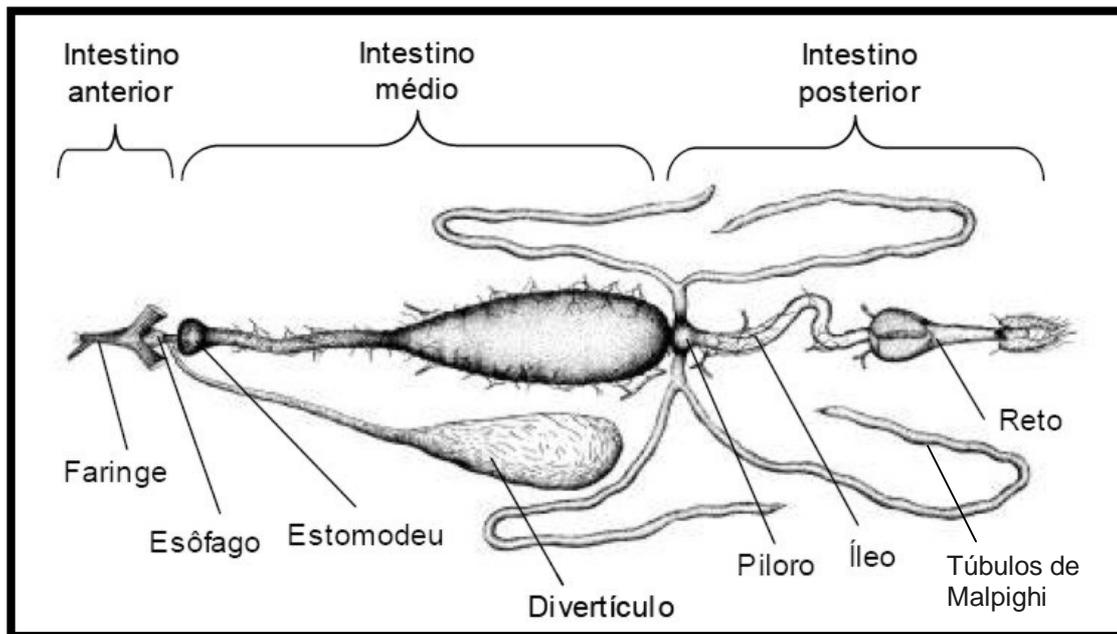


Figura 7 - Ilustração do aparelho digestivo de flebotômio. *Phlebotomus papatasi* (JOBBLING, 1987).

A morfologia do aparelho genital masculino consiste em 2 testículos ovulares, com a extremidade distal ou anterior afilada, que lançam os espermatozoides; 2 canais deferentes curtos e relativamente grossos; 1 vesícula seminal fusiforme. Associados ao edeago seguem

as estruturas internas: dutos ejaculadores, bomba ejaculadora, e esta última se subdivide em pavilhão, pistão, haste esclerosada e câmara ejaculadora.

Na fêmea, as estruturas internas constam das seguintes partes: dois ovários, ovóides; dois ovidutos curtos, que logo se fundem logo em um canal ovariano; a vagina que se abre externamente pelo orifício genital. As espermatecas (figura 8) constam de três partes: uma porção distal ou cabeça, revestida de cerdas ou pelos e provida ou não de colo adelgado; uma porção mais volumosa, o corpo; outra porção terminal, ou duto, mais delgada que o corpo.

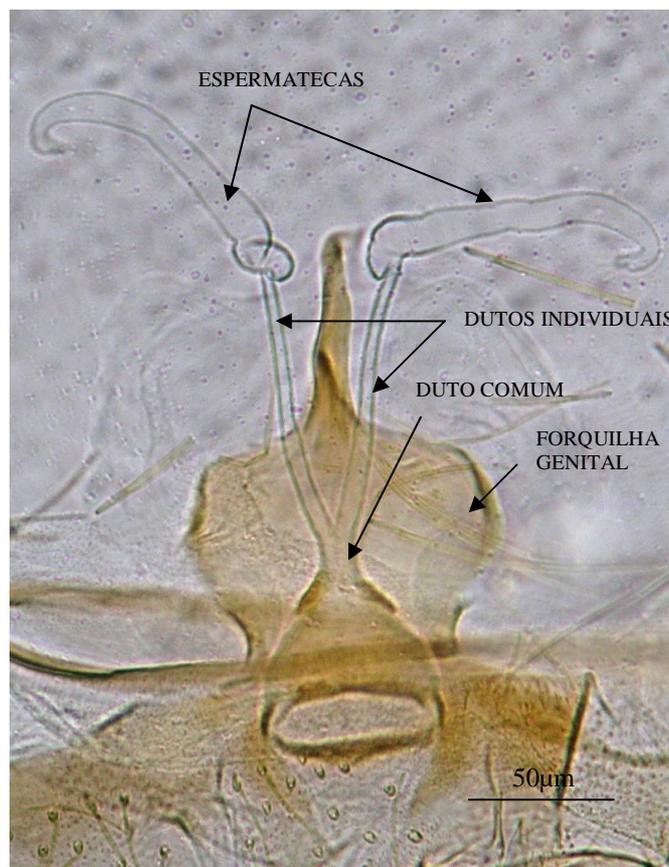


Figura 8 - Principais estruturas a serem observadas na caracterização de fêmeas de flebotomíneos. genitália feminina interna de *Lutzomyia monstruosa*. (Fotos: Thiago V. Santos).

A partir deste conhecimento, podem-se distinguir determinadas espécies com base em sutis e notáveis diferenças nas estruturas de maior interesse taxonômico, sendo que nas fêmeas estas estruturas são representadas pelas espermatecas e pelo cibário, e no caso dos machos, pela genitália ou terminália. Nas espermatecas, observa-se o formato das estruturas, comprimento dos dutos, consistência, esclerotinização, cabeça, quantidade de anéis, tamanho, presença de dutos individuais, aspecto da forquilha genital. No cibário, observa-se sua esclerotinização, forma do arco, e principalmente a quantidade, tamanho e conformação dos dentes, caracteres imprescindíveis na confirmação em caso de dúvida na identificação pelas espermatecas. A terminália dos machos é estrutura bastante variável de espécie para espécie, sendo os caracteres mais utilizados na identificação a quantidade de espinhos e sua distribuição, pilosidade das estruturas, presença de tufo, tamanho das peças, formato, com ênfase a estruturas especiais como o parâmero e o edeago, compreendendo a taxonomia fálca (FORATTINI, 1973; RYAN, 1986).

4.7 - SUBGÊNERO *Psychodopygus*

Octávio Mangabeira Filho, ao estudar os flebotomíneos do Pará fornecidos ao mesmo pelo Serviço de Estudo das Grandes Endemias, órgão responsável pelo controle das doenças enêmicas da região, encontrou 3 espécies que, quando observou os aspectos da genitália, principalmente o segmento distal da gonapófise superior, muito se assemelhavam com às do gênero *Psychoda*, fazendo-o supor tratar-se de um grupo primitivo de *Phlebotomus*. Deste modo, às espécies descritas, foi sugerida e inteiramente justificada a separação em um novo subgênero (MANGABEIRA FILHO, 1941).

São flebotomíneos de coloração variada, completamente pálido ao marrom escuro, possuem ascóides antenais simples, palpômero 5 muito pequeno, menor que o comprimento

do palpômero 3. Olhos grandes, cibário com 4 a 8 dentes horizontais e dentes verticais com intensa variabilidade em número. Faringe inerme, fêmeas com espermatecas imbricadas de aspecto telescopado. Nos machos são encontrados de 1 a 6 grandes ou pequenos espinhos do dististilo, parâmero simples ou altamente modificado (YOUNG e DUNCAN, 1994).

As espécies de *Psychodopygus* (abreviada como *Ps.*) eram agrupadas na primeira revisão taxonômica informalmente em 3 ou mais séries ou complexos, baseados em caracteres masculinos e usualmente femininos (MARTINS et al., 1978). A partir destas considerações os mesmos autores e YOUNG e DUNCAN (1994) classificaram este subgênero nas seguintes séries: 1-*squamiventris*, machos com dististilo apresentando um espinho terminal e três cerdas menores sub-apicais, parâmero com uma fila de cerdas sub-transversas, basistilo bilobado ou não; 2- *guyanensis*: machos apresentando dististilo como grande espinho terminal e três cerdas ou espinhos sub-apicais menores; 3- *davisi*: machos apresentando cinco espinhos no dististilo; 4-*panamensis*: parâmero sem armadura dorsal. Alguns flebotomíneos ainda permanecem à categoria de subespécies, entretanto a maioria já está elevada à categoria específica (DUJARDIN e LE PONT, 2000). A partir dos anos 2000, pode-se considerar que, com análise filogenética, a classificação segue aproximadamente 34 espécies descritas em 6 séries distintas, conforme a tabela 4 (GALATI, 2003a).

Estes flebotomíneos possuem distribuição restrita a áreas florestais e, com algumas exceções podem ser encontrados em domicílios humanos. As espécies deste subgênero estão amplamente distribuídas no território brasileiro, sendo algumas incriminadas como vetoras de *Leishmania*, com grande importância epidemiológica devido a suas características antropófilas, picando a espécie humana diuturnamente, mesmos nos dias claros e com sol a pino, a exemplo da série *squamiventris*, cujas espécies pertencentes são todas antropófilas, e pelo menos 4 são incriminadas como vetoras de *Leishmania*, mais especificamente as espécies do

subgênero *Viannia* (FRAIHA, SHAW e LAINSON, 1971; READY et al., 1984; RYAN, 1986; YOUNG e DUNCAN, 1994; RANGEL e LAINSON, 2009).

Tabela 4 – Espécies de *Psychodopygus* descritas e agrupadas em suas respectivas séries.

SÉRIE	ESPÉCIE
<i>arthuri</i>	<i>Lutzomyia (Psychodopygus) lloydi</i> Antunes, 1937
	<i>Lu. (Ps.) matosi</i> Barreto & Zago Filho, 1956
	<i>Lu. (Ps.) arthuri</i> Fonseca, 1936
<i>bispinosa</i>	<i>Lu. (Ps.) bispinosa</i> Fairchild & Hertig, 1951
<i>chagasi/squamiventris</i>	<i>Lu. (Ps.) bernali</i> Osorno-Mesa, Morales & Osorno, 1967
	<i>Lu. (Ps.) fairtigi</i> Martins, 1970
	<i>Lu. (Ps.) leonidasdeanei</i> Fraiha, Ryan, Ward, Lainson & Shaw, 1986
	<i>Lu. (Ps.) complexa</i> Mangabeira Filho, 1941
	<i>Lu. (Ps.) wellcomei</i> Fraiha, Shaw & Lainson, 1971
	<i>Lu. (Ps.) chagasi</i> Costa Lima, 1941
	<i>Lu. (Ps.) killicki</i> Feliciangeli, Ramírez-Pérez & Ramírez, 1988
	<i>Lu. (Ps.) douradoi</i> Fé, Freitas & Barret, 1998
	<i>Lu. (Ps.) squamiventris maripaensis</i> Floch & Abonnenc, 1946
	<i>Lu. (Ps.) squamiventris squamiventris</i> Lutz & Neiva, 1912
<i>davisi</i>	<i>Lu. (Ps.) davisi</i> Root, 1934
	<i>Lu. (Ps.) clauserei</i> Abonnenc, Léger e Fauran, 1979
	<i>Lu. (Ps.) amazonensis</i> Root, 1934
<i>guyanensis</i>	<i>Lu. (Ps.) lainsoni</i> Fraiha & Ward, 1974
	<i>Lu. (Ps.) corossoniensis</i> Le Pont & Pajot, 1978
	<i>Lu. (Ps.) geniculata</i> Mangabeira Filho, 1941
	<i>Lu. (Ps.) guyanensis</i> Floch & Abonnenc, 1941
	<i>Lu. (Ps.) dorlinsis</i> Le Pont & Desjeux, 1988
<i>panamensis</i>	<i>Lu. (Ps.) llanosmartinsi</i> Fraiha & Ward, 1980
	<i>Lu. (Ps.) recurva</i> Young, 1973
	<i>Lu. (Ps.) panamensis</i> Shannon, 1926
	<i>Lu. (Ps.) nicaraguensis</i> Faichild & Hertig, 1961
	<i>Lu. (Ps.) hirsuta</i> Mangabeira Filho, 1942
	<i>Lu. (Ps.) ayrozai</i> Barretto & Coutinho, 1940
	<i>Lu. (Ps.) fairchildi</i> Barretto, 1966
	<i>Lu. (Ps.) carrerai</i> Barreto, 1946
	<i>Lu. (Ps.) thula</i> Young, 1979
	<i>Lu. (Ps.) paraensis</i> Costa Lima, 1941
	<i>Lu. (Ps.) nocticola</i> Young, 1973
<i>Lu. (Ps.) yucumensis</i> Le Pont, Caillard, Tibayrenc & Desjeux, 1986	

5 - MATERIAL E MÉTODOS

5.1 - CAPTURA DE ESPÉCIMES

Os flebotomíneos utilizados no estudo foram capturados pela equipe de entomologia do Laboratório de Leishmanioses do Instituto Evandro Chagas, com os mais variados tipos de armadilhas, como CDC, Shannon, Disney, armadilha de caixa e diretamente em troncos de árvores, visto que algumas espécies só podem ser coletadas por meio de iscas específicas.

Após captura, os insetos apreendidos nas armadilhas foram coletados com auxílio de um aspirador de Castro ou de um simples pincel, identificados a olho nu até o nível de subfamília (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) e armazenadas em tubos contendo álcool a 70%.

5.2 - MONTAGEM E PRESERVAÇÃO DE ESPÉCIMES

Os flebotomíneos mantidos em álcool a 70% foram lavados com sabão neutro diluído com salina a 0,9%, com a finalidade de retirar todos os pêlos existentes no corpo dos espécimes. Em seguida foram lavados duas vezes com solução salina para eliminar o excesso de sabão. Após as sucessivas lavagens, foram classificados com base na morfologia externa e realizada a montagem em lâmina microscópica com auxílio de uma lupa entomológica. As lâminas foram identificadas com os seguintes dados: data, localidade, sexo, método de captura, além da rubrica do identificador.

A montagem foi realizada da seguinte maneira: Para espécimes fêmea foram colocadas duas gotas de berlese; em seguida, com auxílio de estiletos cortou-se o flebotomíneo em três partes (cabeça, tórax e abdome), a cabeça com a parte bucal virada para cima; o tórax na

posição latero-lateral, com as asas e pernas na vertical e por último o abdômen na posição dorso-ventral, com a parte ventral para cima. No caso dos machos, na lâmina colocaram-se duas gotas de berlese; em seguida, o flebotomíneo foi posicionado horizontalmente sobre a gota, com as asas e pernas na vertical. O material assim montado foi coberto com lamínula de vidro e levado ao microscópio bacteriológico para identificação. O tempo para a manipulação das lâminas após a montagem foi de no máximo 12 horas. As lâminas eram mantidas na horizontal, enquanto sucessivas complementações do berlese que secava com o passar do tempo entre a lâmina e a lamínula conferiram qualidade à preparação.

5.3 - SELEÇÃO DO MATERIAL

Foram selecionadas de um total de 5000 lâminas, somente as que apresentavam melhor qualidade de visualização de flebotomíneos do subgênero *Psychodopygus* capturados nos diversos ecótopos do estado do Pará no período de 1970 a 2009, compreendendo uma fauna de 17 espécies, distribuídas em quatro grupos ou séries (*bispinosa*, *davisi*, *squamiventris* e *panamensis*), sendo que esta composição não significa o encontro de ambos os sexos. O material selecionado foi composto substancialmente por espécimes constituintes do acervo do Insetário de Flebotomíneos do Laboratório de Leishmanioses do Instituto Evandro Chagas montados a partir de 1970 capturados em expedições de campo no território paraense, previamente identificados por técnicos e entomólogos, de acordo com a classificação proposta por Young e Duncan (1994), montados em goma de Berlese (LANGERON, 1949; CERQUEIRA, 1943).

Como o IEC desenvolve estudos entomológicos em Serra dos Carajás com intuito de esclarecer o processo saúde doença frente às diversas alterações que a área vem sofrendo, esta compreende uma das mais diversificadas faunas flebotomínicas estudadas até o momento e a

disponibilização de material a fresco é fundamental na obtenção de imagens em boa qualidade, utilizamos também material proveniente dos estudos da região.

5.4 - CAPTURA DE IMAGENS

As imagens das espécies foram obtidas com auxílio de três sistemas de captura: 1) Sistema Axiostar (Zeiss®), composto por um microscópio de campo claro e uma câmera digital Firewire acoplada a um computador para visualização via software Axiovision®, com aquisição, captura e morfometria em tempo real, com definição máxima de 12 megapixels (MP). Este sistema esteve disponível no Laboratório de Leishmanioses do IEC e no Laboratório de Transmissores de Leishmanioses da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ); 2) Sistema Canon®, composto por uma câmera digital de 8MP acoplada via “fototubo” a um microscópio de campo claro, disponível no Insetário de Flebotomíneos do IEC; 3) Sistema amador de captura, composto por uma câmera digital Canon de 7MP sobreposta diretamente na ocular do microscópio de campo claro com auxílio da destreza manual do operador, disponível nas viagens de campo. A múltipla opção de sistemas de captura esteve relacionada com a disponibilidade dos equipamentos nos diferentes laboratórios em que foi realizado o estudo.

Foram realizados vários registros fotográficos de cada lâmina selecionada com diferentes ajustes micrométricos, de condensação e contraste de luz, para seleção de apenas uma imagem avaliada qualitativamente com melhor definição, nitidez ou resolução pela equipe técnica.

As imagens obtidas foram organizadas em ordem alfabética, armazenadas em banco de dados informatizado, obedecendo a seus grupos taxonômicos por subgênero, grupo e série, a fim de facilitar sua utilização por parte dos interessados.

Foram utilizadas as imagens de Forattini, 1973, Ryan, 1986, Young e Duncan, 1994 e Galati, 2003 como padrão comparativo entre as imagens capturadas e expostas nas pranchas. Quando possível, também foram incluídas as imagens de descrições originais e revisões taxonômicas de *Psychodopygus*.

5.5 - TRATAMENTO DAS IMAGENS

Para o tratamento das imagens utilizamos o software Adobe Photoshop CS4® na limpeza de estruturas desprezíveis na identificação, como manchas, sujeiras, cerdas, fragmentos, evitando o desvio da atenção na observação das imagens.

A focalização das estruturas mais importantes para cada espécie foi realizada por meio da inclusão de setas indicadoras nas imagens e uma legenda referente a cada seta, devidamente numerada. A edição de textos, marcações, paginações foi realizada mediante o uso do software Corel Draw 11.0® (Corel Photo Paint).

Para cada espécie redescrita em imagem constaram no mínimo três fotografias. No caso dos machos foi fotografada a genitália, e no caso das fêmeas foram fotografados a espermateca e o cibário. Algumas espécies necessitaram de fotografias adicionais de outras estruturas ou órgãos. A apresentação das pranchas seguiu a seqüência das séries apresentadas e similaridades interespecíficas de acordo com a chave de identificação de Young e Duncan (1994), respeitada a ausência de espécies não pertencentes ao objeto de estudo.

6 - RESULTADOS

Do total de 2105 lâminas, foram capturadas 222 imagens de flebotomíneos provenientes de diversos municípios do estado do Pará por meio do sistema utilizado no estudo. Um banco de dados contendo 344 arquivos em 17 pastas referentes às diferentes espécies de *Psychodopygus* foram formados no decorrer da coleta de dados no Laboratório de Transmissores de Leishmanioses/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ) e no Laboratório de Leishmanioses/ IEC-PA, correspondente a 17 espécies do subgênero encontradas até o momento no estado do Pará (tabela 5).

Tabela 5 – Flebotomíneos do subgênero *Psychodopygus* provenientes do acervo entomológico do Laboratório de Leishmanioses - IEC utilizados na captura de imagens.

SÉRIES	ESPÉCIE	LAMINAS	IMAGENS	%*
série <i>bispinosa</i>	<i>Lu. (Ps.) bispinosa</i>	36	16	44
série <i>squamiventris</i>	<i>Lu. (Ps.) leonidasdeanei</i>	66	17	25
	<i>Lu. (Ps.) complexa</i>	328	8	2
	<i>Lu. (Ps.) wellcomei</i>	226	6	2
	<i>Lu. (Ps.) chagasi</i>	78	11	14
	<i>Lu. (Ps.) squamiventris maripaensis</i>	166	18	10
	<i>Lu. (Ps.) squamiventris squamiventris</i>	165	30	18
série <i>davisi</i>	<i>Lu. (Ps.) davisi</i>	254	6	2
	<i>Lu. (Ps.) clautrei</i>	124	24	19
	<i>Lu. (Ps.) amazonensis</i>	121	13	10
série <i>guyanensis</i>	<i>Lu. (Ps.) lainsoni</i>	85	18	21
	<i>Lu. (Ps.) corossoniensis</i>	60	7	11
	<i>Lu. (Ps.) geniculata</i>	70	10	14
série <i>panamensis</i>	<i>Lu. (Ps.) hirsuta</i>	95	5	5
	<i>Lu. (Ps.) ayrozai</i>	58	8	13
	<i>Lu. (Ps.) carrerai</i>	98	7	7
	<i>Lu. (Ps.) paraensis</i>	75	18	24
TOTAL		2105	222	

* Porcentagem de aproveitamento de lâminas para fotografia

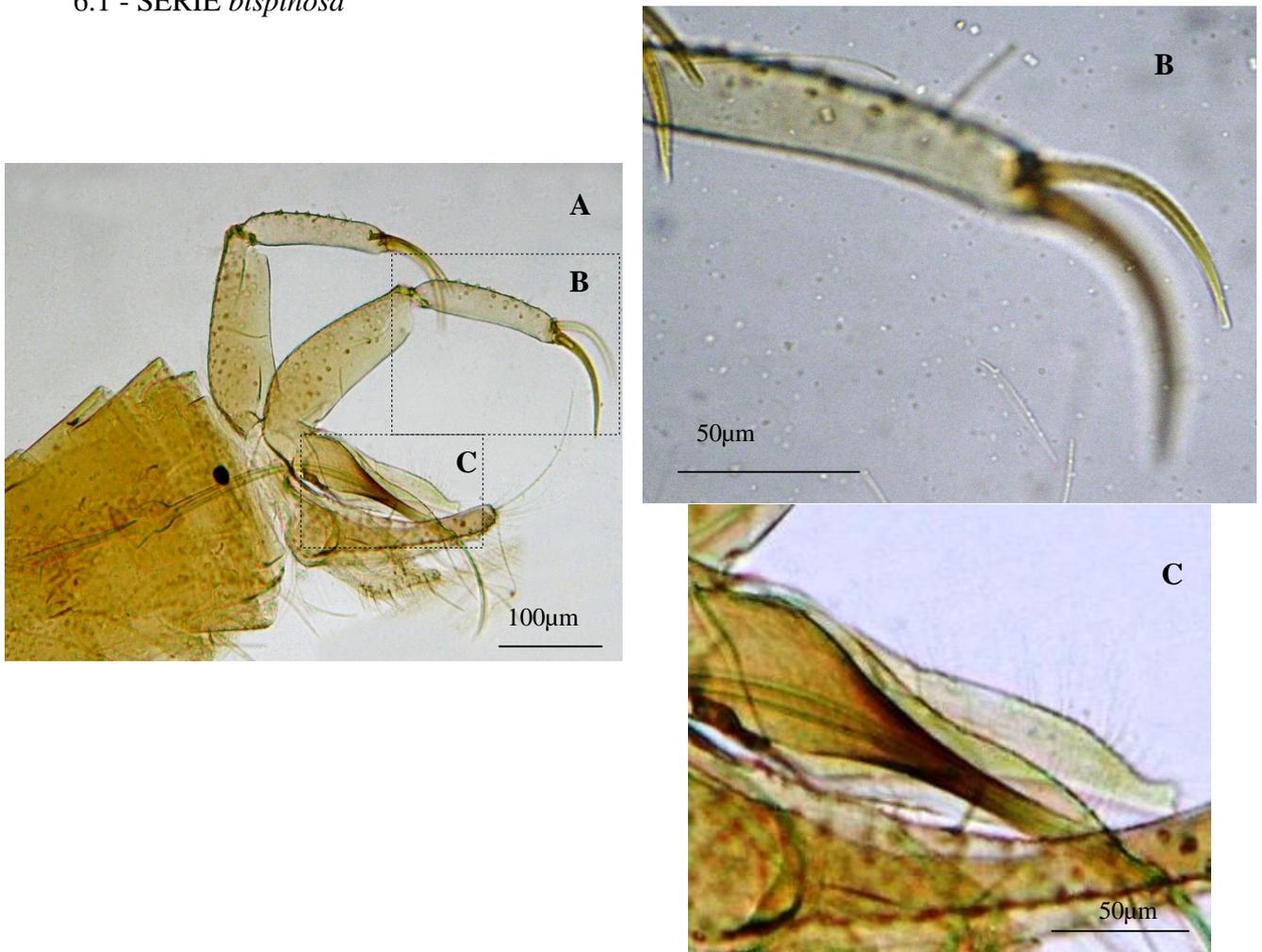
6.1 - SÉRIE *bispinosa*

Figura 9 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps.) bispinosa*. A: genitália masculina. B: detalhe dos espinhos do dististilo em outra magnitude e micrometragem. C: ampliação do parâmero e edeago.

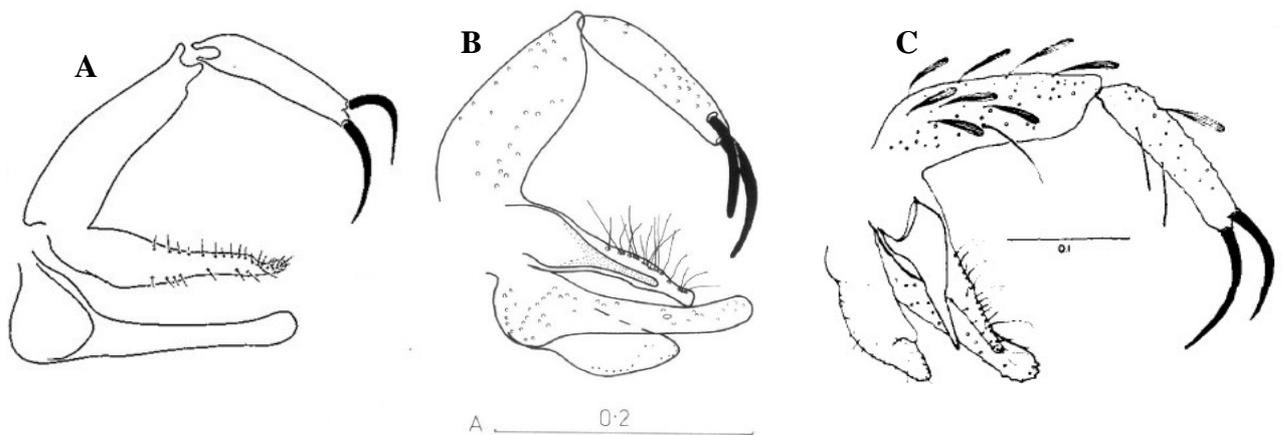


Figura 10 - Ilustrações de genitálias de macho de *Lu.(Ps.) bispinosa* em chaves de identificação. A: Forattini, 1973, B: Ryan, 1986, C: Young & Duncan, 1994.

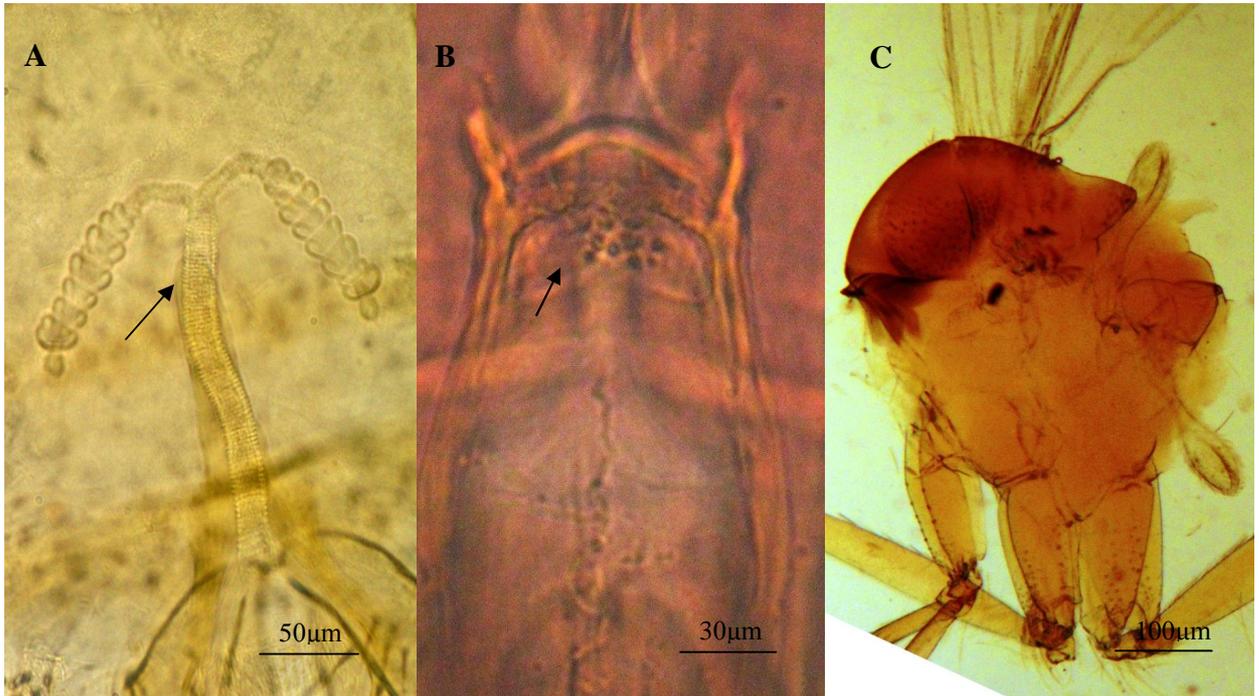


Figura 11 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) bispinosa*. A: espermateca, seta indicando extremidade arredondada da forquilha genital. B: cibário, seta indicando disposição dos dentes verticais. C: Tórax.

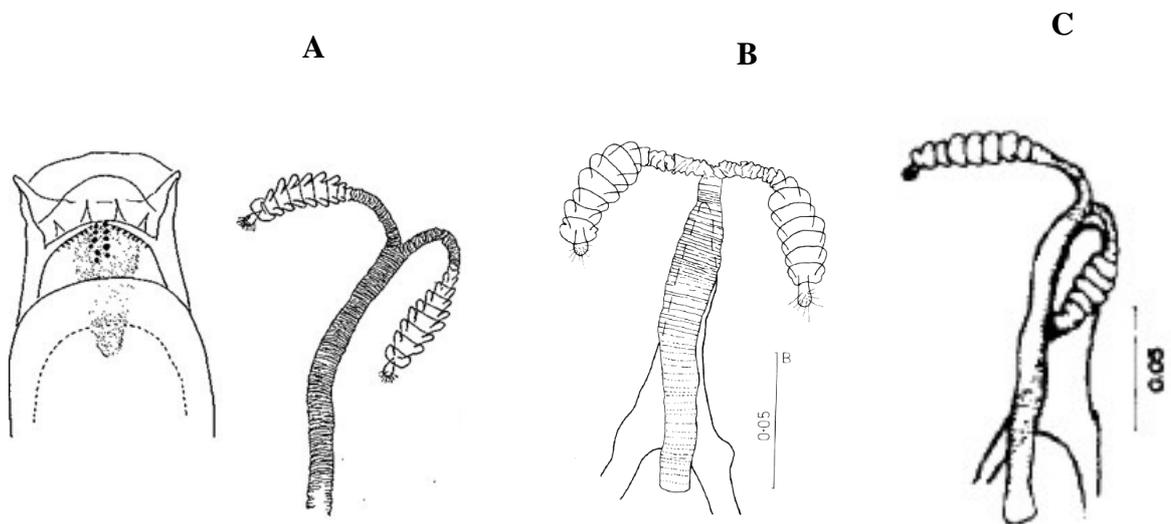


Figura 12 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) bispinosa* em chaves de identificação. A: cibário e espermateca em Forattini, 1973, B: espermateca em Ryan, 1986, C: espermateca em Young & Duncan, 1994.

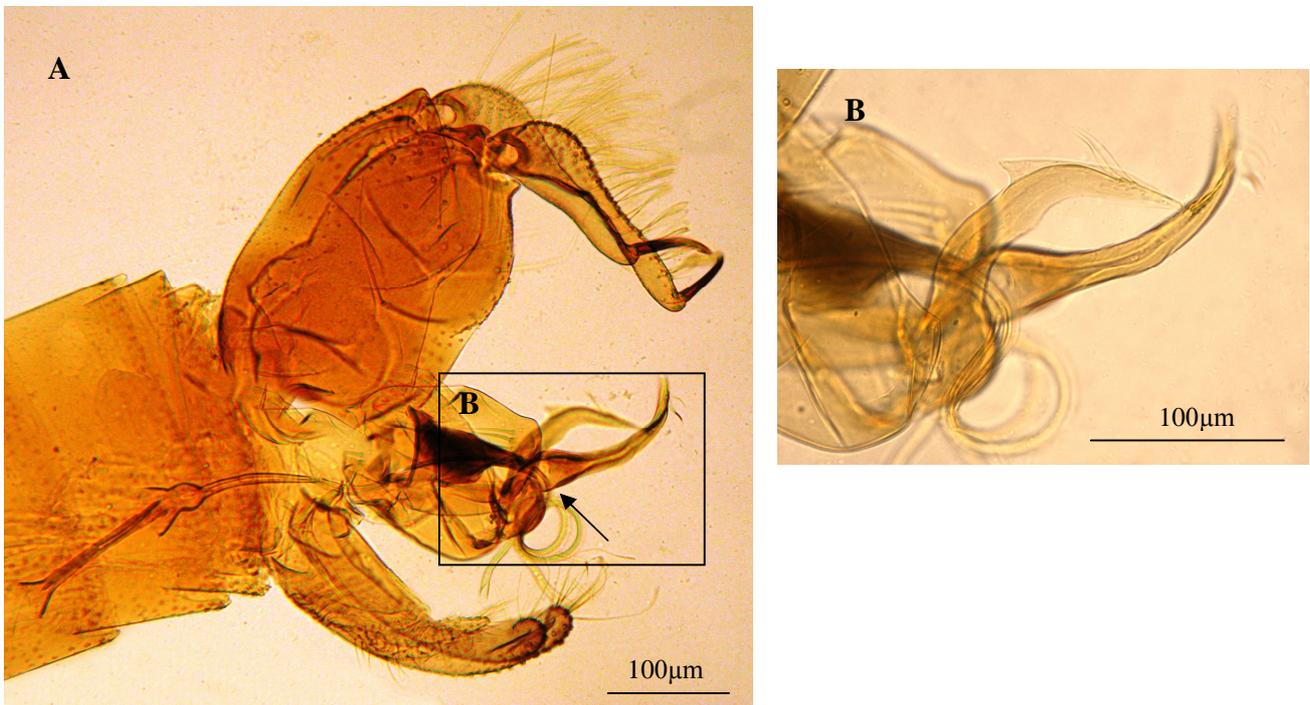
6.2- SÉRIE *squamiventris*

Figura 13 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu. (Ps.) leonidasdeanei*. A: genitália masculina, seta indicando parâmero. B: detalhe do parâmero e característica projeção de armadura dorsal.

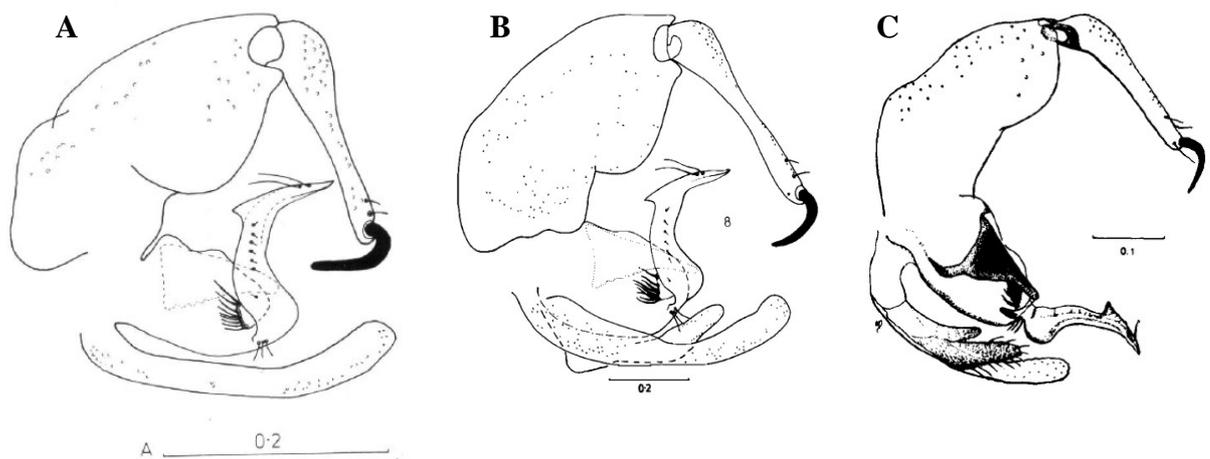


Figura 14 - Ilustrações de genitália de macho de *Lu. (Ps.) leonidasdeanei* em chaves de identificação. A: Ryan, 1986. B: Fraiha et al., 1986; C: Young & Duncan, 1994.

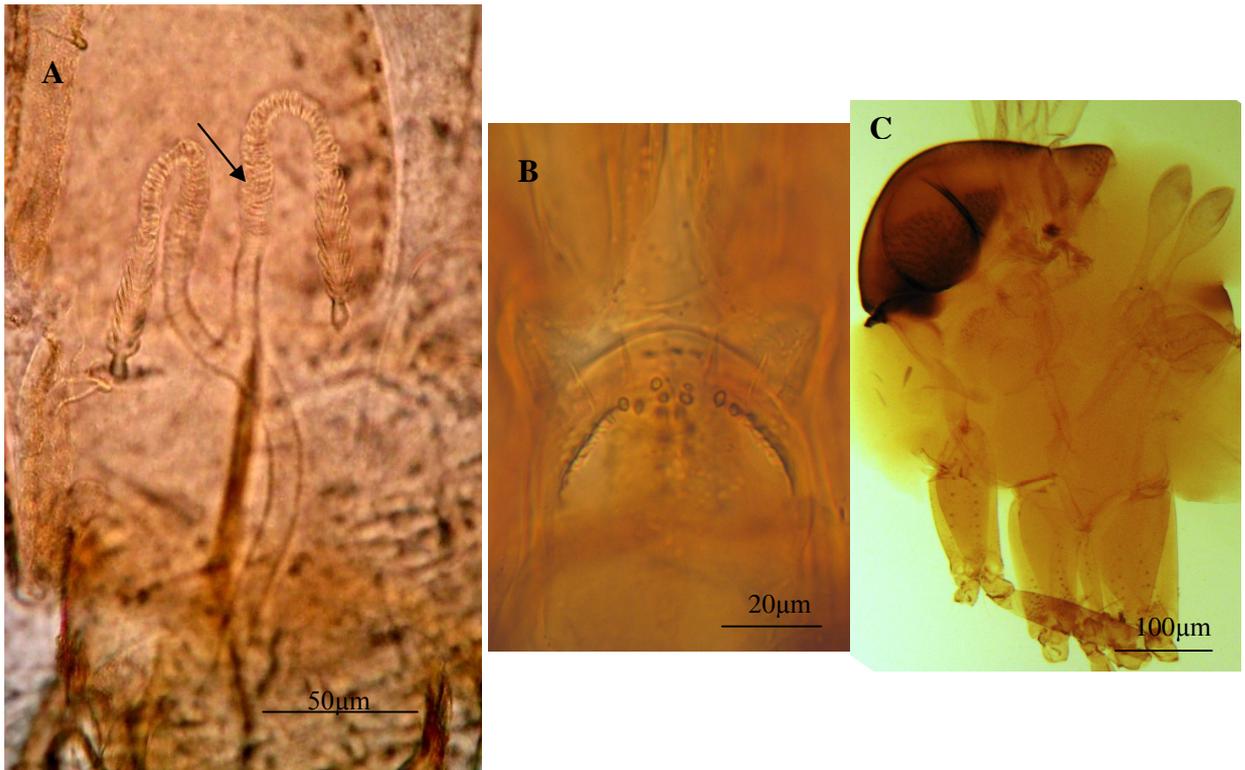


Figura 15 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) leonidasdeanei*. A: espermateca, seta indicando espessamento e rugosidade do duto individual. B: cibário. C: tórax

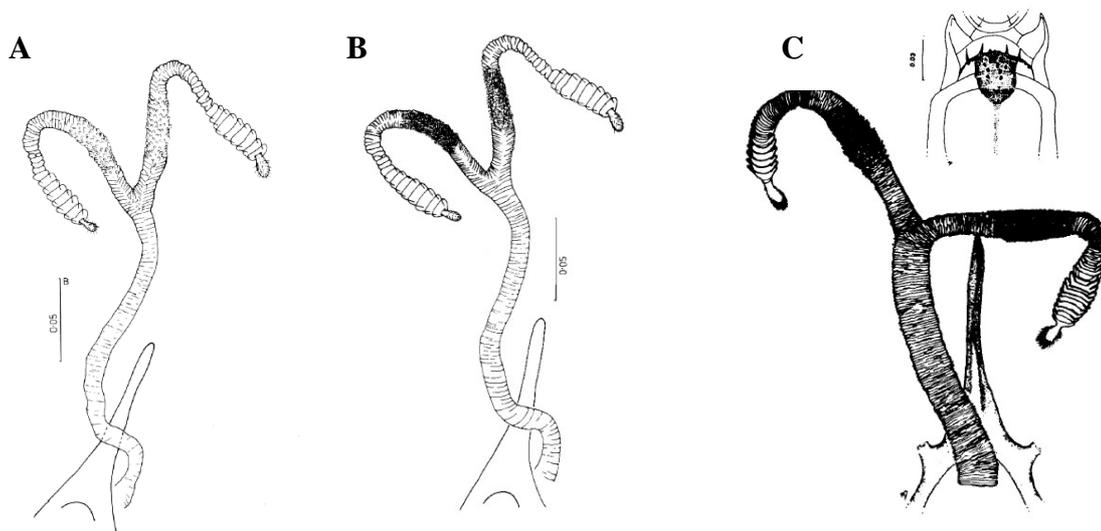


Figura 16 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) leonidasdeanei* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986. B: espermateca em Fraiha et al., 1986; C: espermateca e cibário em Young & Duncan, 1994.

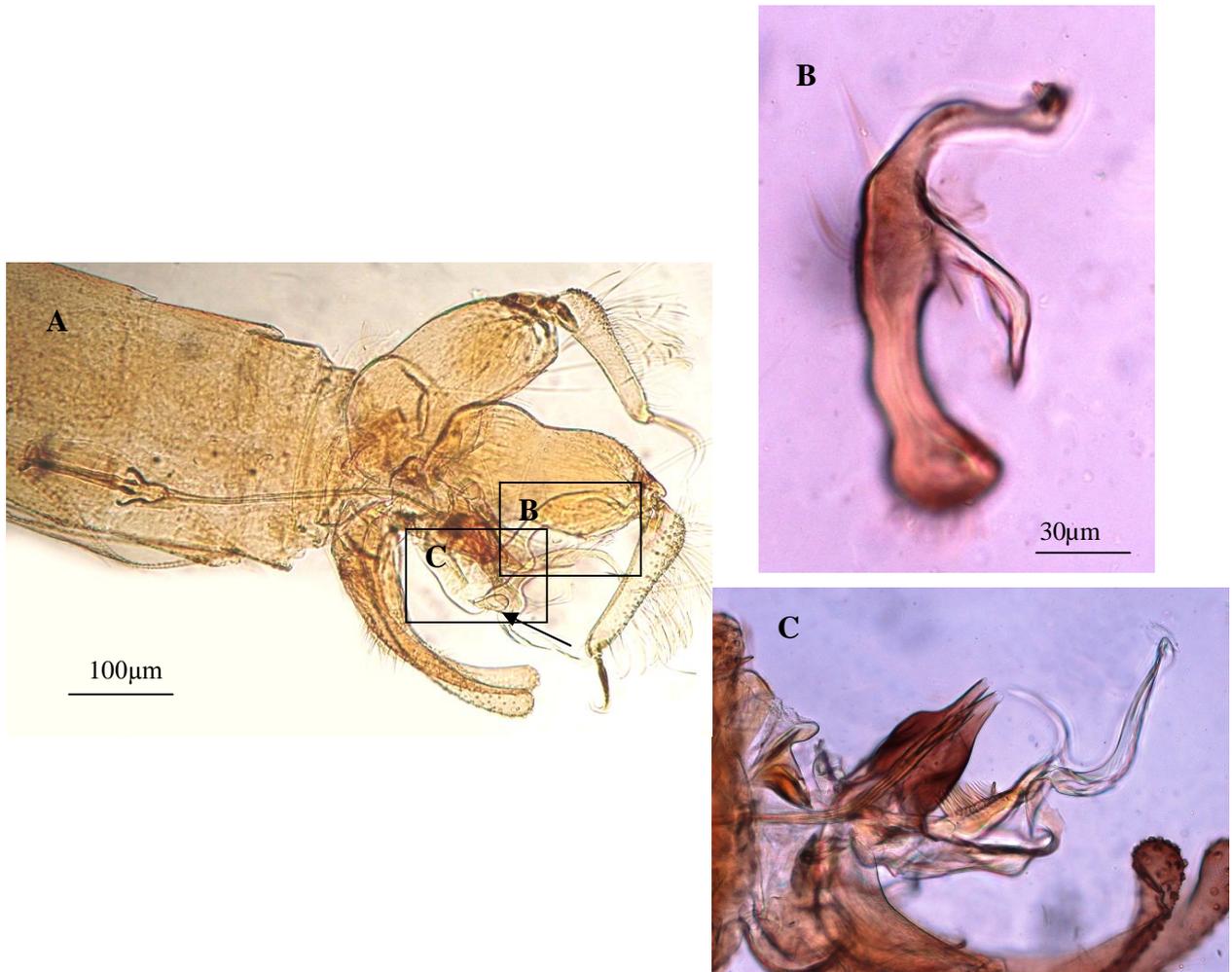


Figura 17 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu. (Ps) complexa*. A: genitália de macho, seta indicando implantação do apêndice do parâmero. B: projeção da armadura dorsal do parâmero. C: edeago e base do parâmero destacados.

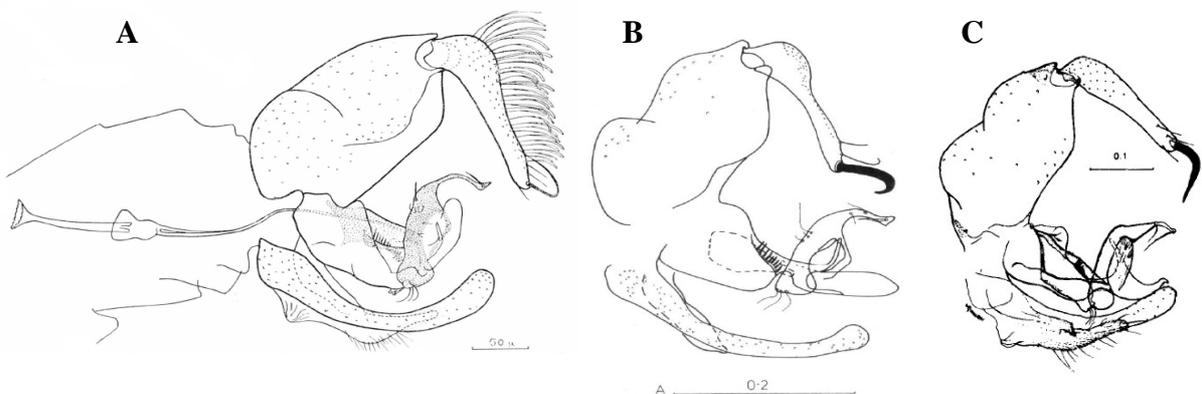


Figura 18 - Ilustrações de genitália de macho de *Lu. (Ps) complexa* em chaves de identificação. A: Mangabeira Filho, 1941. B: Ryan, 1986. C: Young & Duncan, 1994.

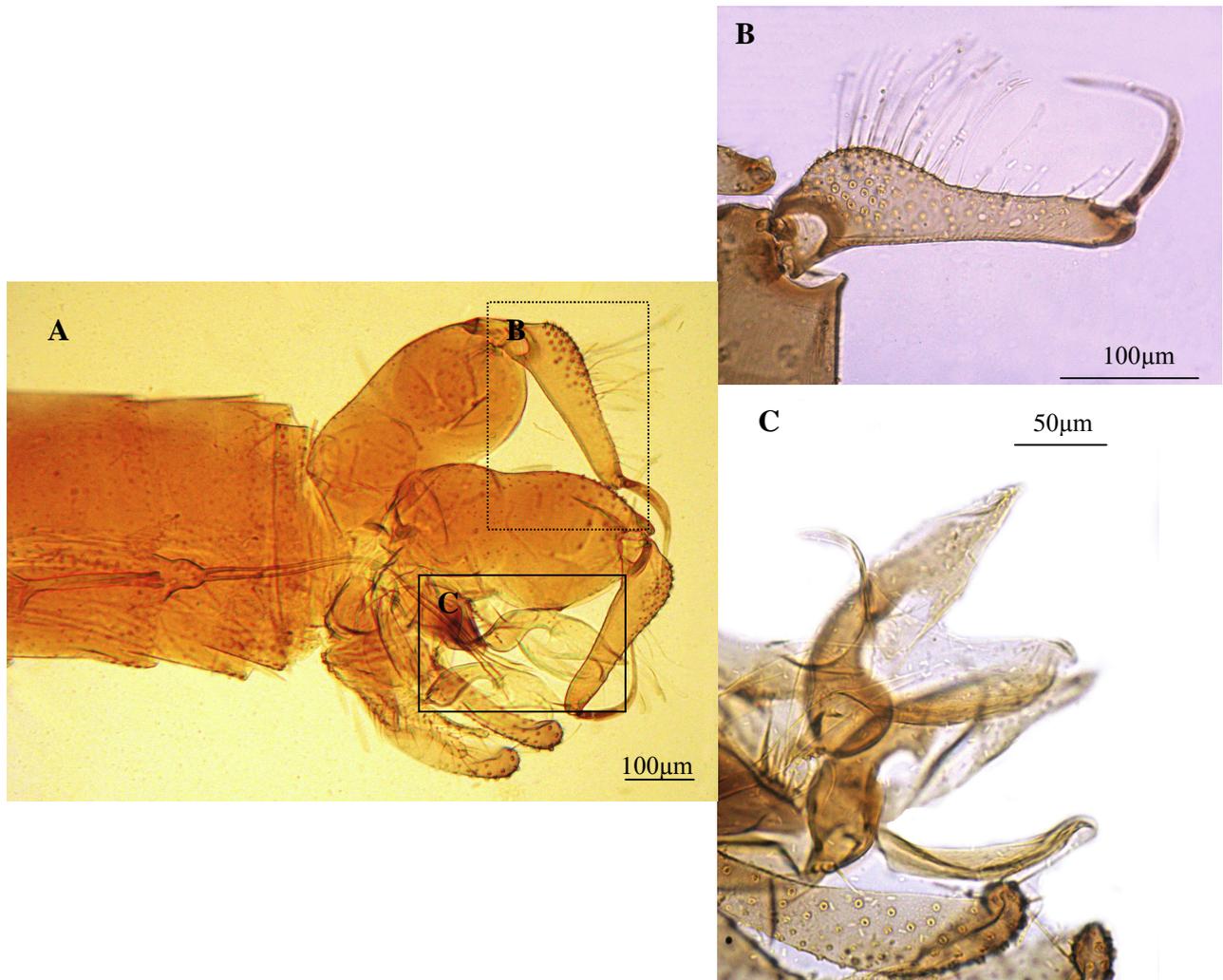


Figura 19 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) wellcomei*. A: genitália de macho. B: detalhe do dististilo, C: parâmetro, de fundamental importância na distinção de *Lu. (Ps.) wellcomei*.

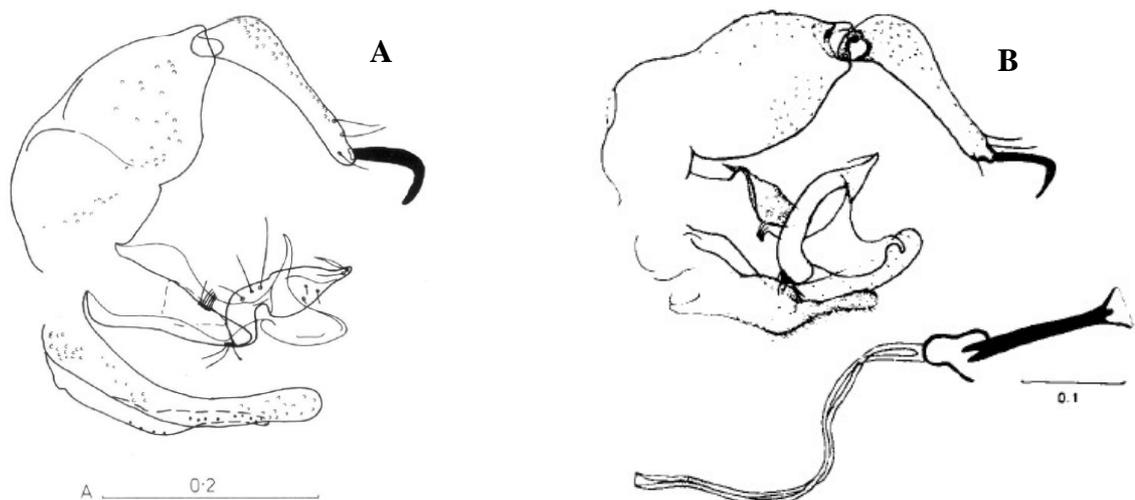


Figura 20 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) wellcomei* em chaves de identificação. A: genitália em Ryan, 1986. B: genitália e aparelho ejaculador (bomba e filamentos) em Young & Duncan, 1994.

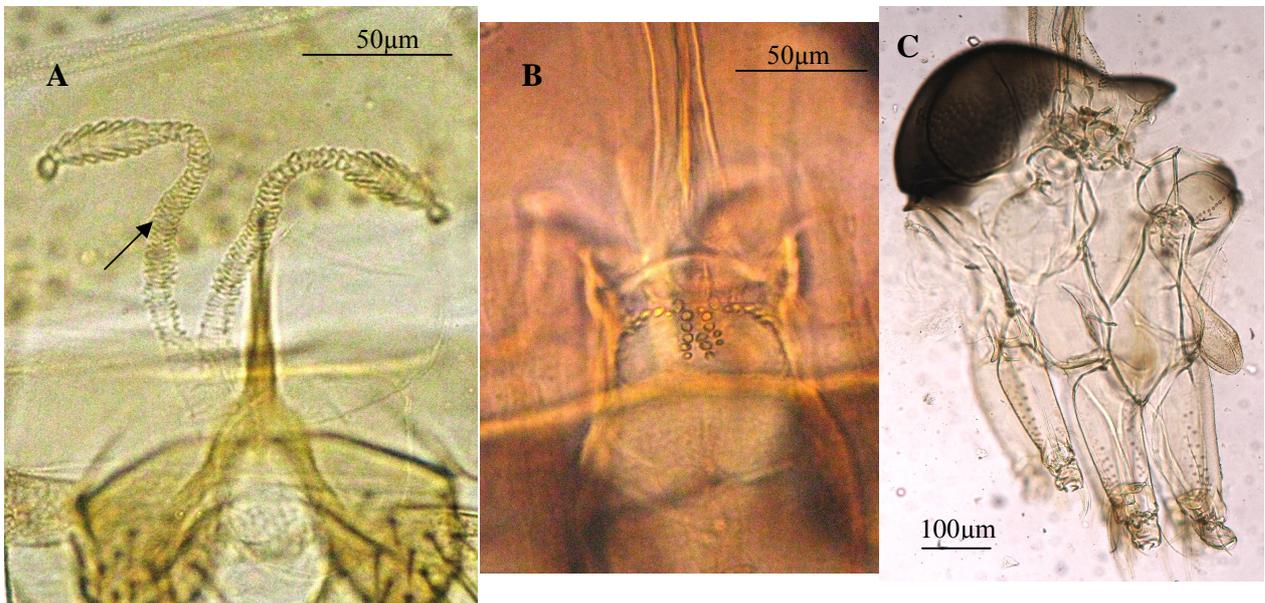


Figura 21 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps) wellcomei/complexa*, seta indicando rugosidade do duto individual. A: espermateca. B: cibário. C: tórax.

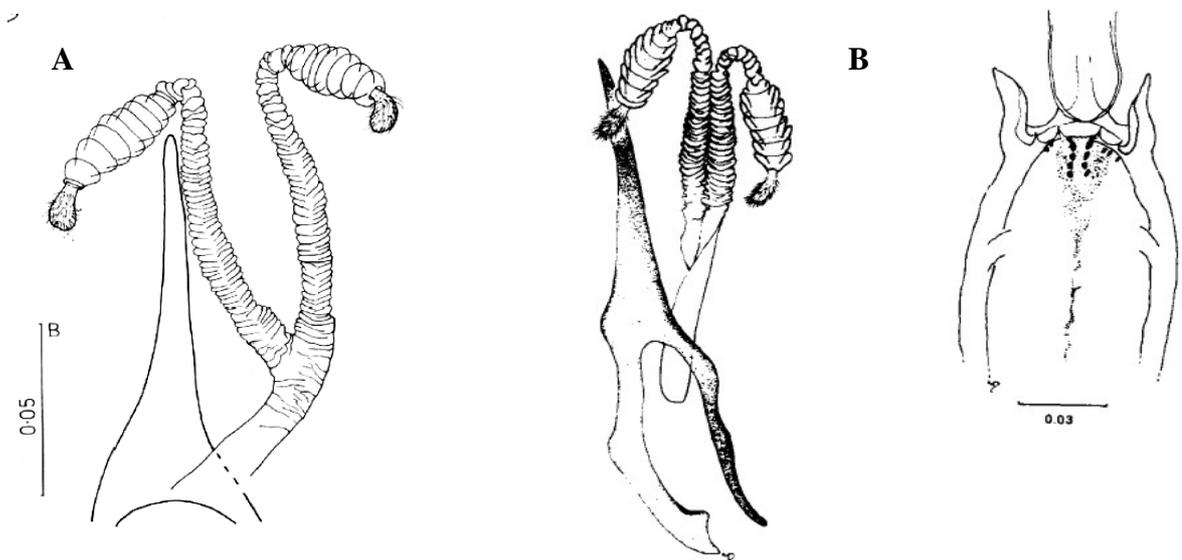


Figura 22 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps) wellcomei/complexa* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: espermateca e cibário em Young & Duncan, 1994.

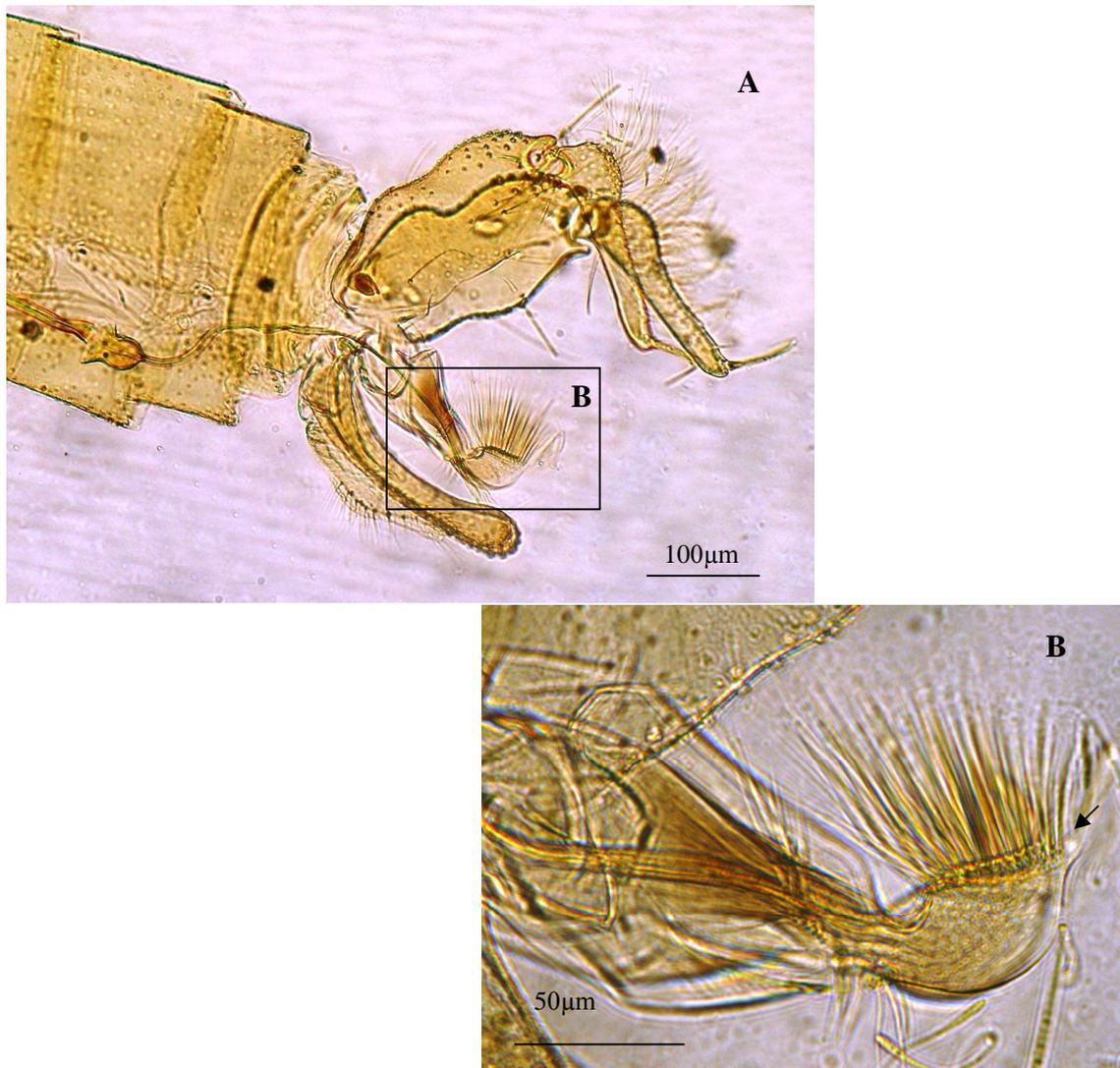


Figura 23 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) chagasi*. A: genitália de macho. Seta destacando posição do parâmero. B: destaque do parâmero, seta indicando implantação de cerdas em porção subterminal da estrutura.

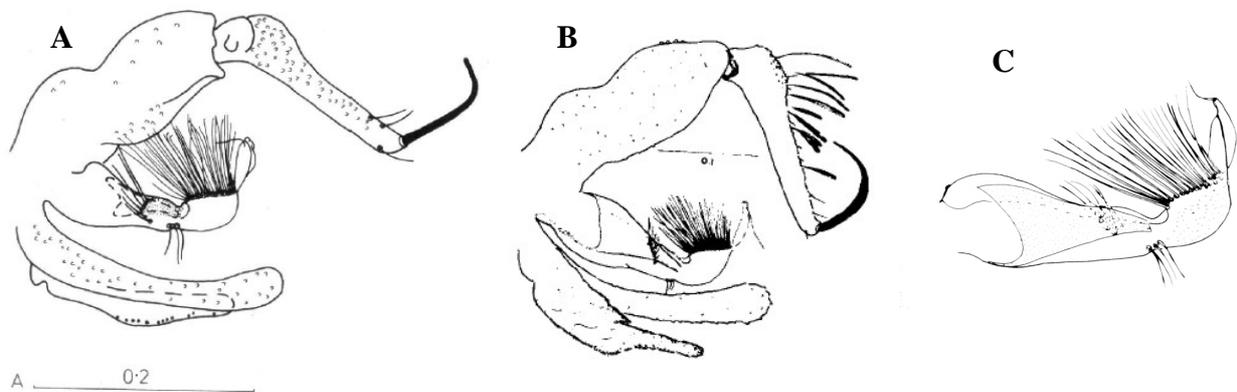


Figura 24 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) chagasi* em chaves de identificação. A: genitália em Ryan, 1986; B: genitália em Young & Duncan, 1994; C: detalhe do parâmero em Galati, 2003.



Figura 25 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps) chagasi*. (espermateca).

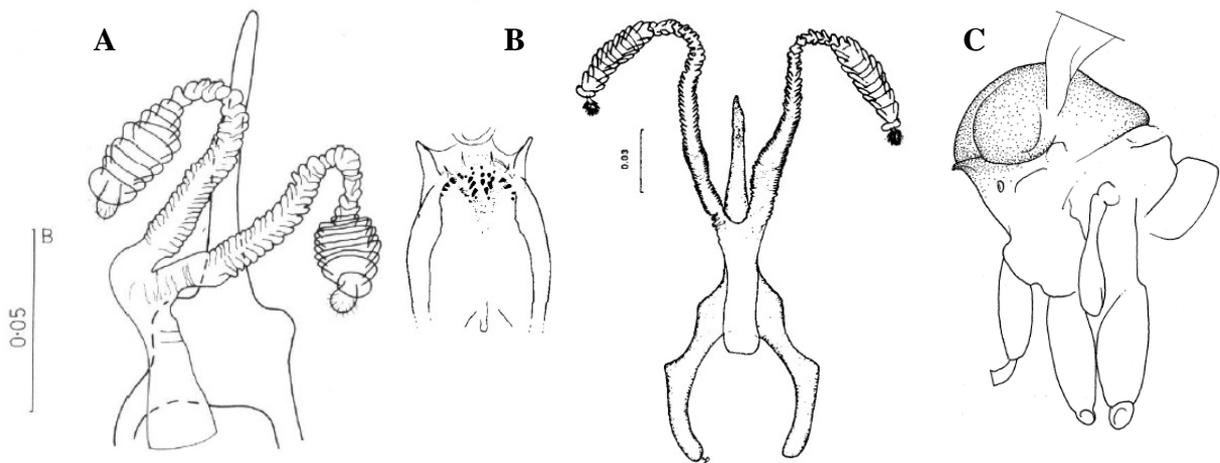


Figura 26 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps) chagasi* em chaves de identificação. A: Espermateca em Ryan, 1986; B: Cibário e espermateca em Young e Duncan, 1994; C: Tórax em Fé et al., 1998.

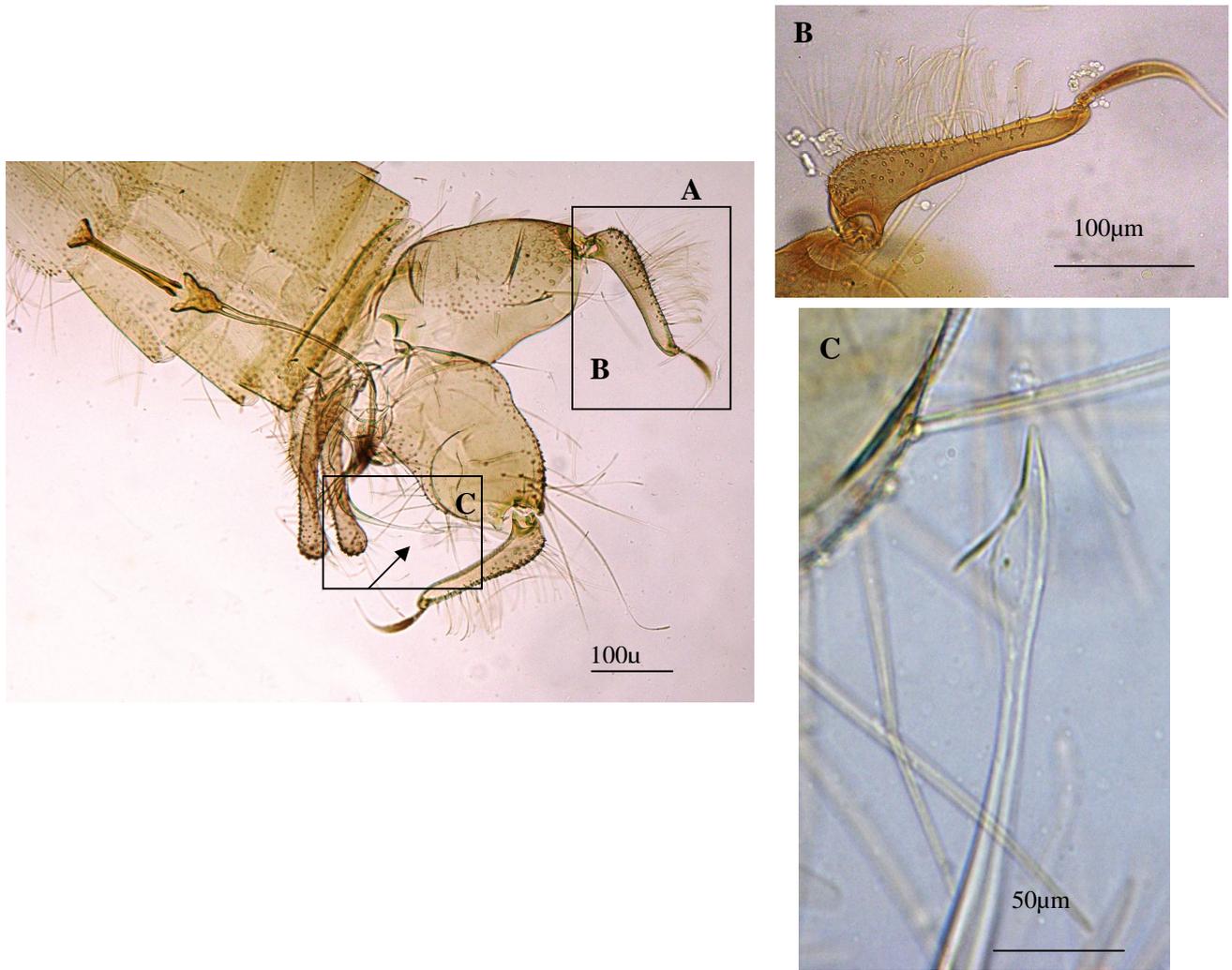


Figura 27 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) squamiventris squamiventris*. A: genitália de macho. Seta indicando localização da extremidade do parâmero. B: dististilo destacado. C: detalhe da projeção do parâmero.

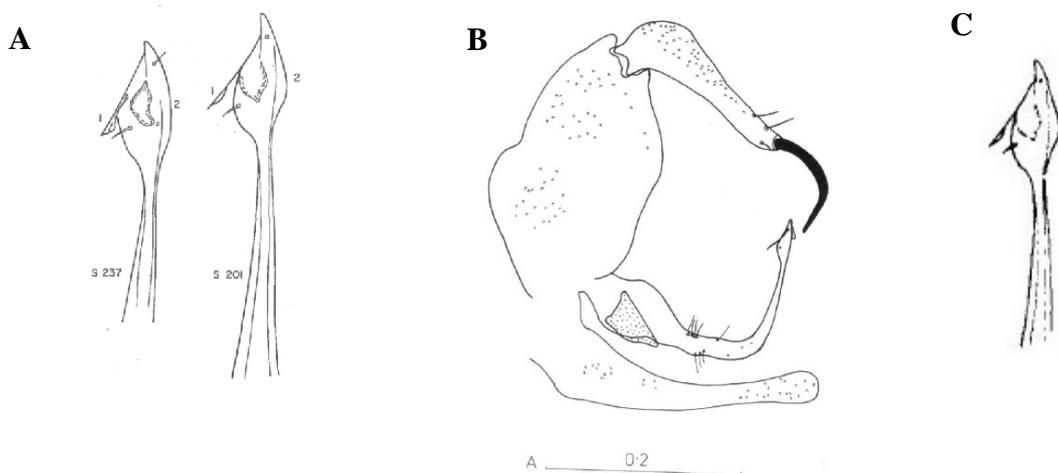


Figura 28 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) squamiventris squamiventris* em chaves de identificação. A: extremidade do parâmero em Ready et al., 1982; B: genitália em Ryan, 1986; C: Extremidade do parâmero em Young & Duncan, 1994.

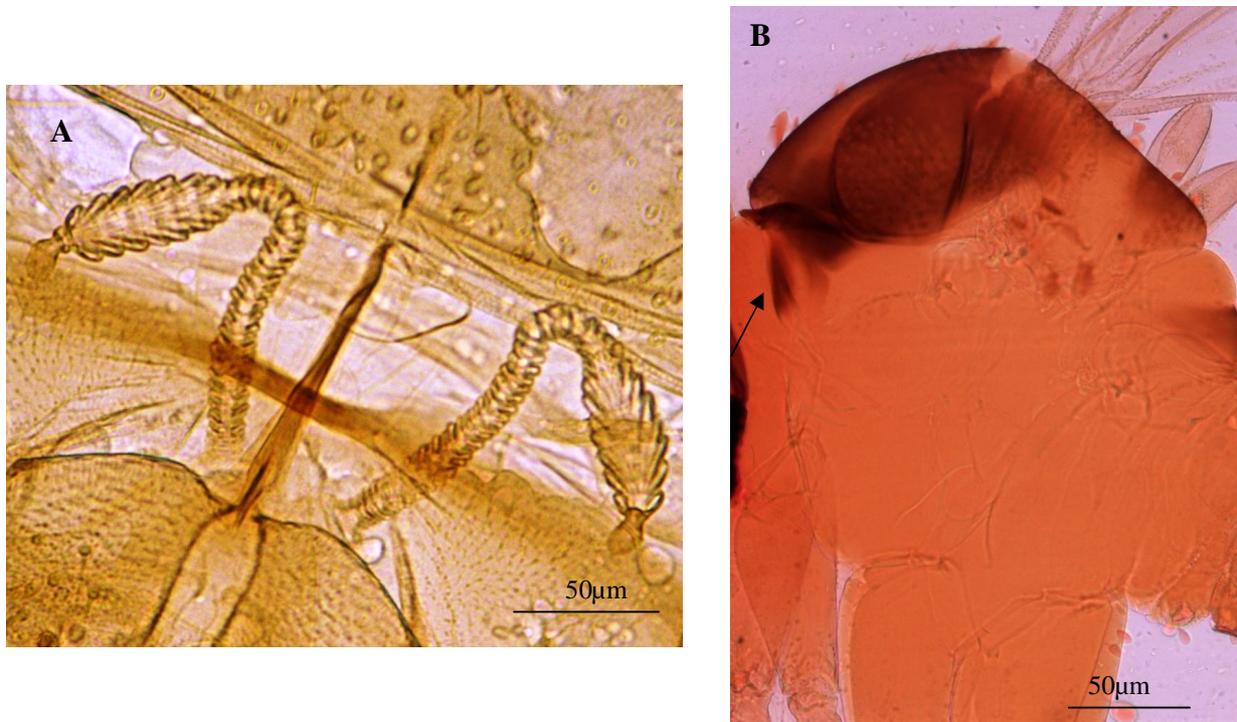


Figura 29 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps)squamiventris squamiventris*. A: espermateca. B: tórax, seta indicando pigmentação do pronoto.

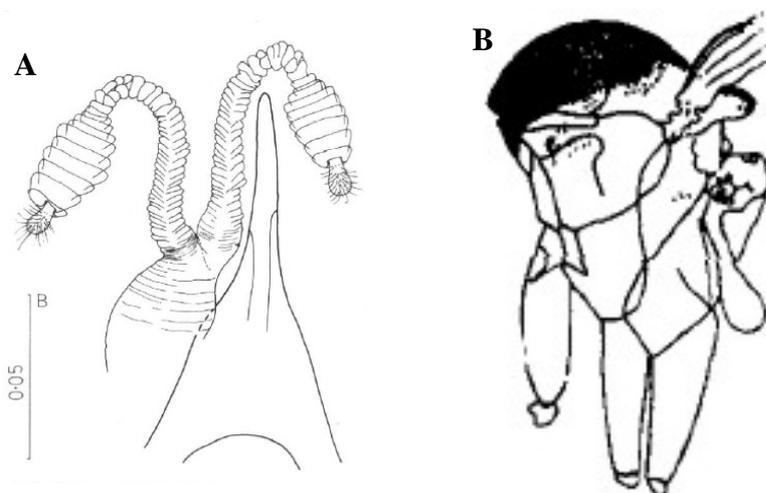


Figura 30 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps)squamiventris maripaensis* em chaves de identificação A: espermateca em Ready et al., 1982 (mesma ilustração em Ryan, 1986); B: tórax em Young & Duncan, 1994.

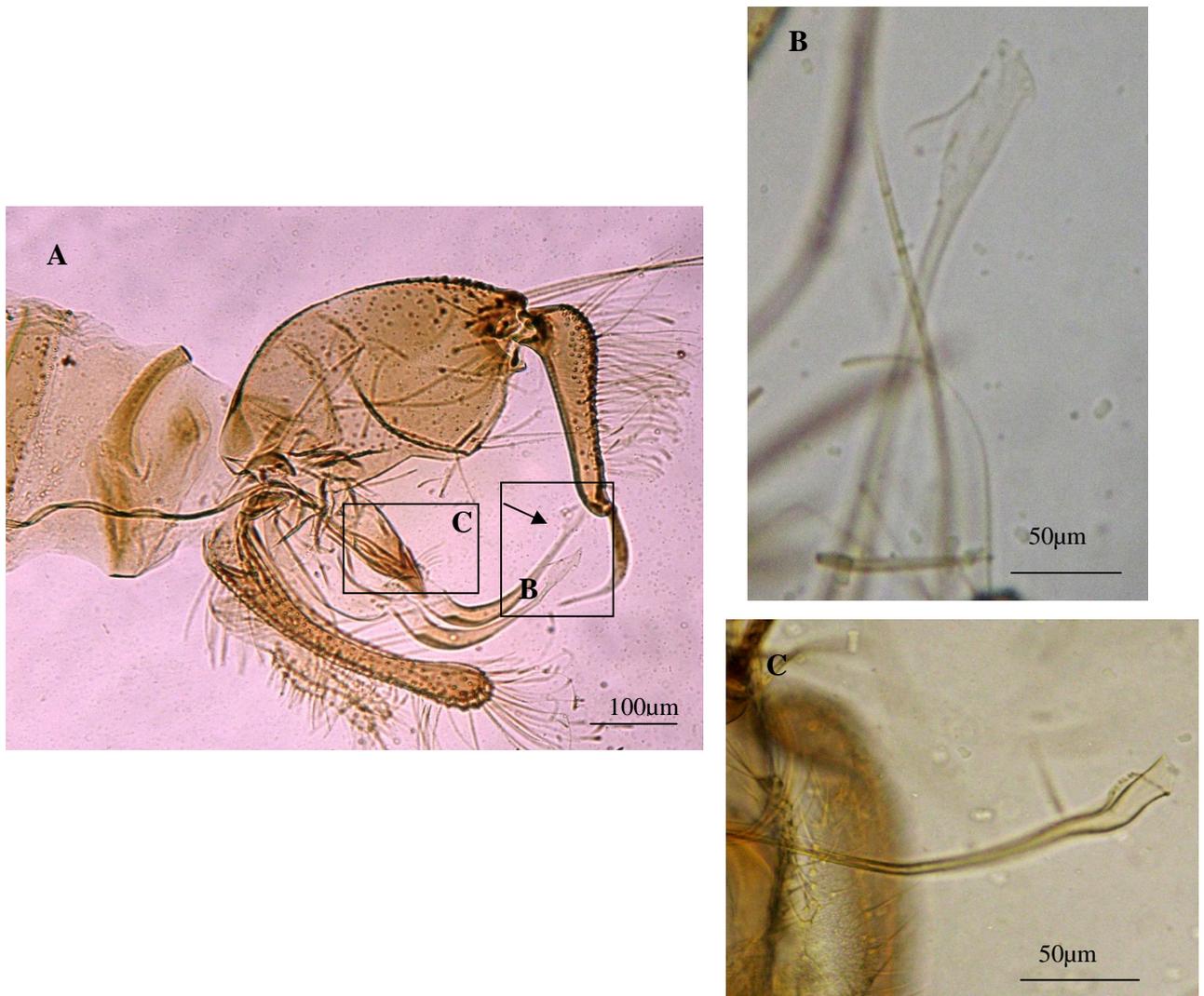


Figura 31 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) squamiventris maripaensis*. A: genitália de macho. B: detalhe da projeção do parâmetro. C: extremidade do filamento genital, em forma de cartucho.

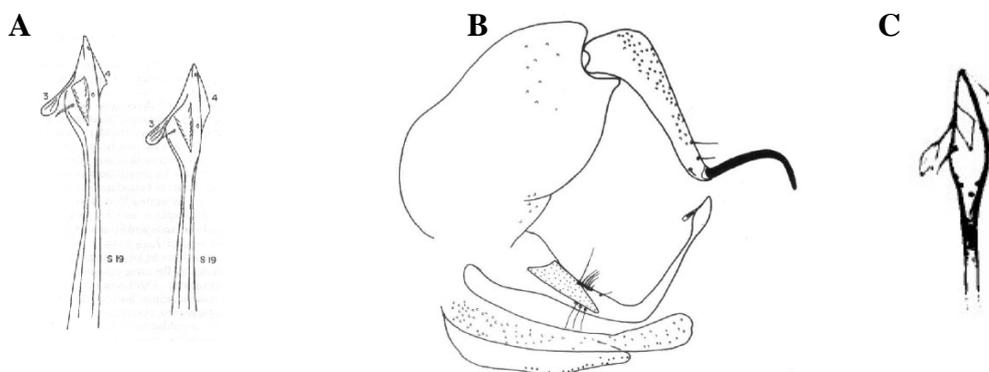


Figura 32 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) squamiventris maripaensis* em chaves de identificação A: Extremidade do parâmetro em Ready et al., 1982; B: genitália em Ryan, 1986; C: parâmetro em Young & Duncan, 1994.

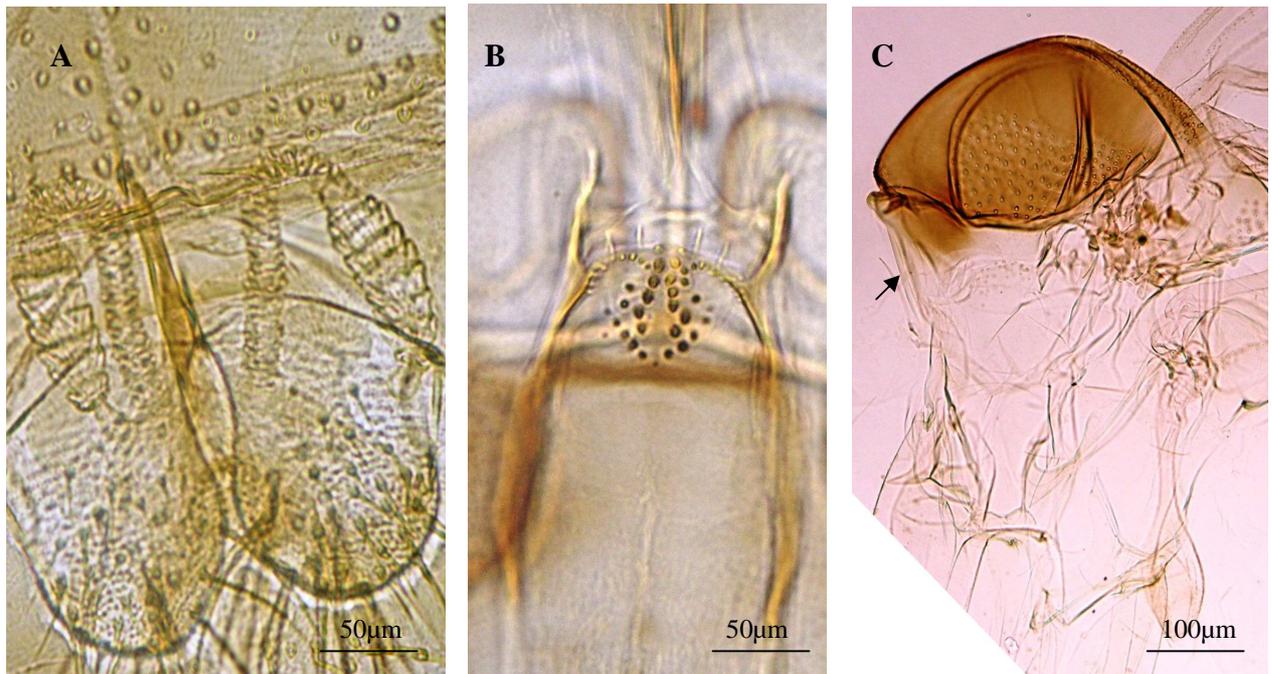


Figura 33 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps) squamiventris maripaensis*. A: espermateca. B: cibário. C: tórax, seta indicando ausência de pigmentação do pronoto.

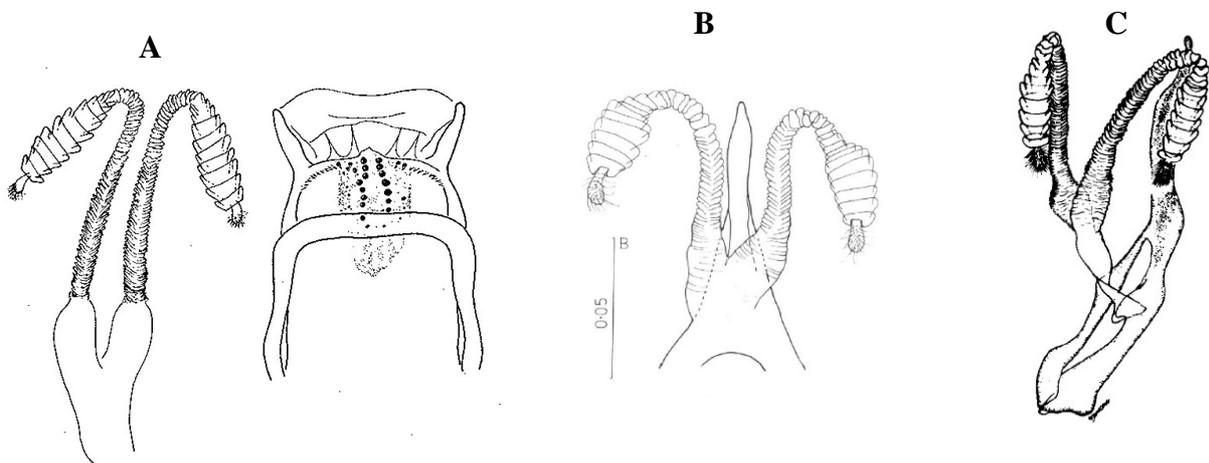


Figura 34 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps) squamiventris maripaensis* em chaves de identificação. A: Espermateca e cibário em Forattini, 1973; B: espermateca em Ryan, 1986; C: espermateca em Young & Duncan, 1994.

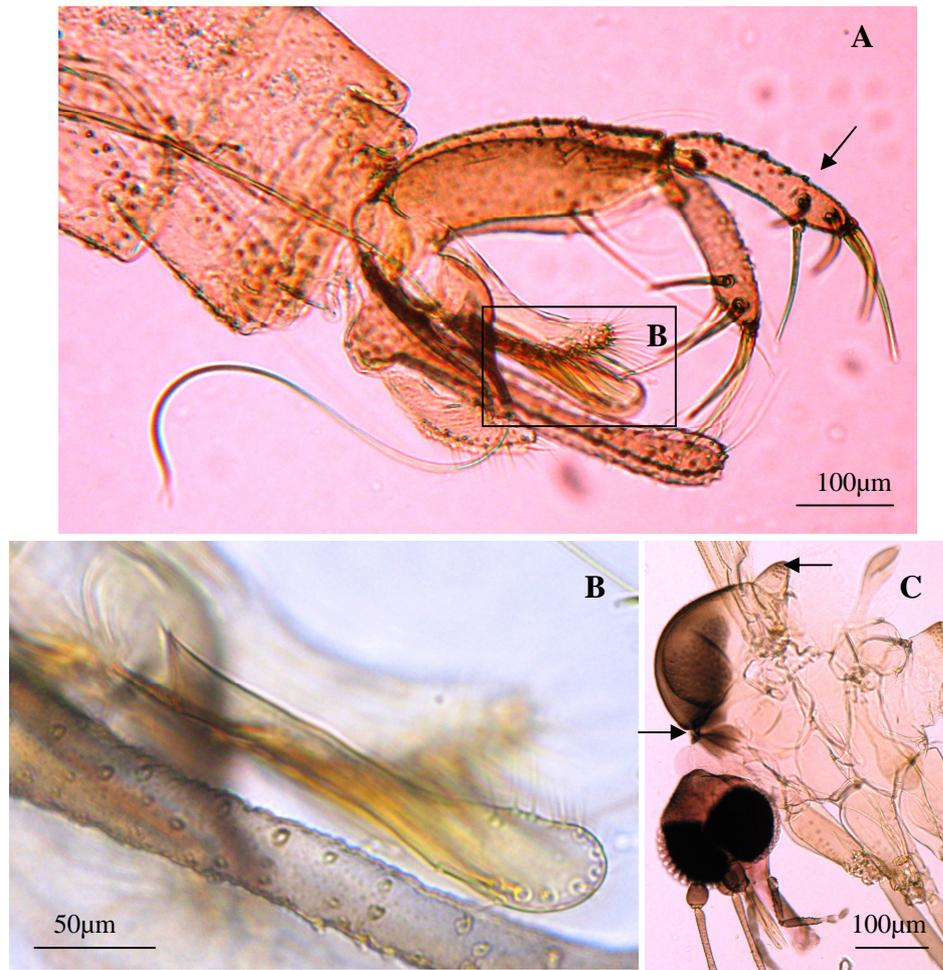
6.3 - SÉRIE *davisi*

Figura 35 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) davisi*. A: genitália de macho, seta indicando disposição dos espinhos basais. B: detalhe da projeção do braço lateral. C: tórax, setas indicando pigmentação marrom escura no pronoto e paratergito e palidez do escutelo.

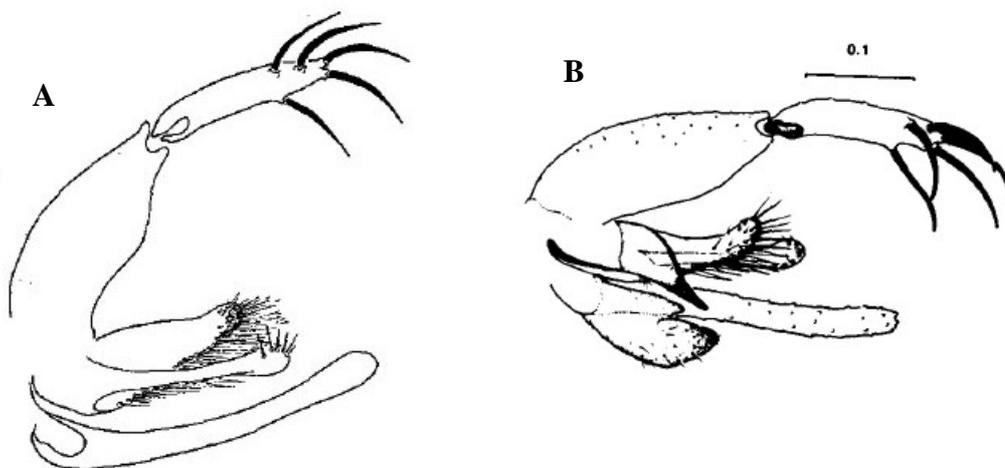


Figura 36 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) davisi* em chaves de identificação. A: Ryan, 1986; B: Young & Duncan, 1994.

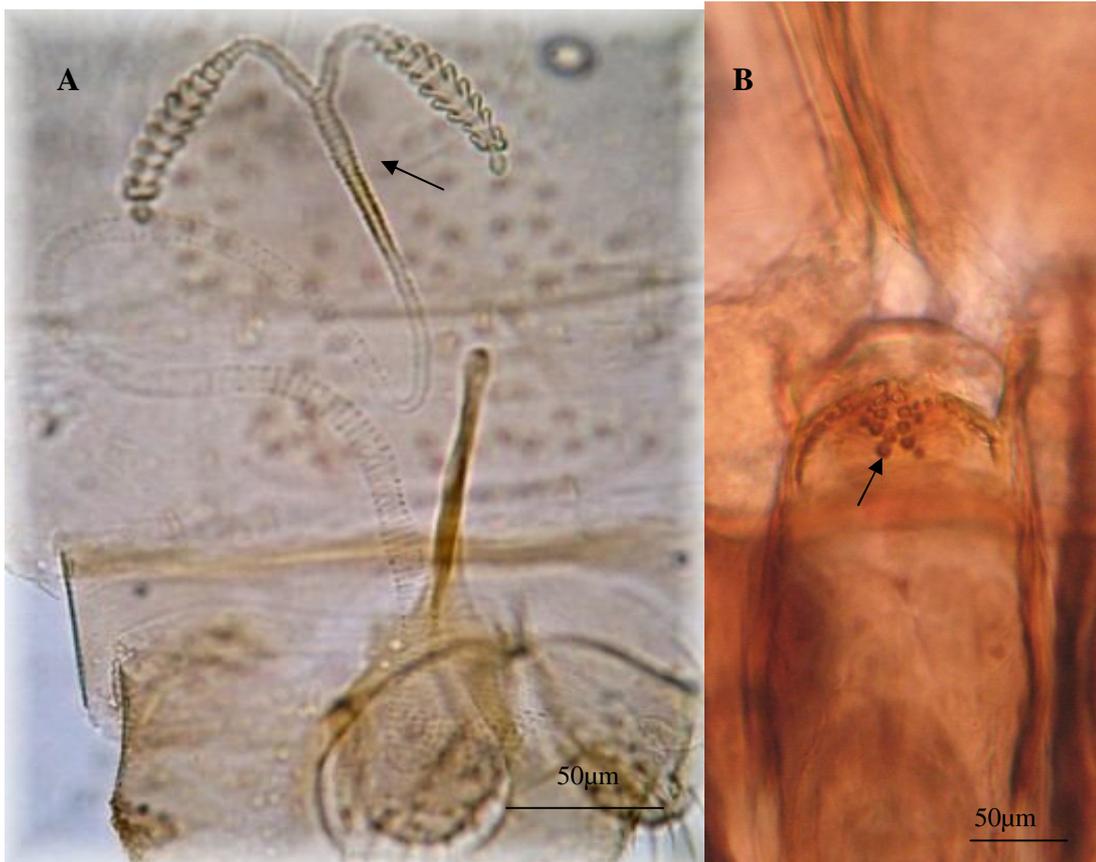


Figura 37 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) davisi*. A: espermateca, seta indicando rugosidade na porção distal do duto comum. B: cibário, seta indicando disposição dos dentes verticais.

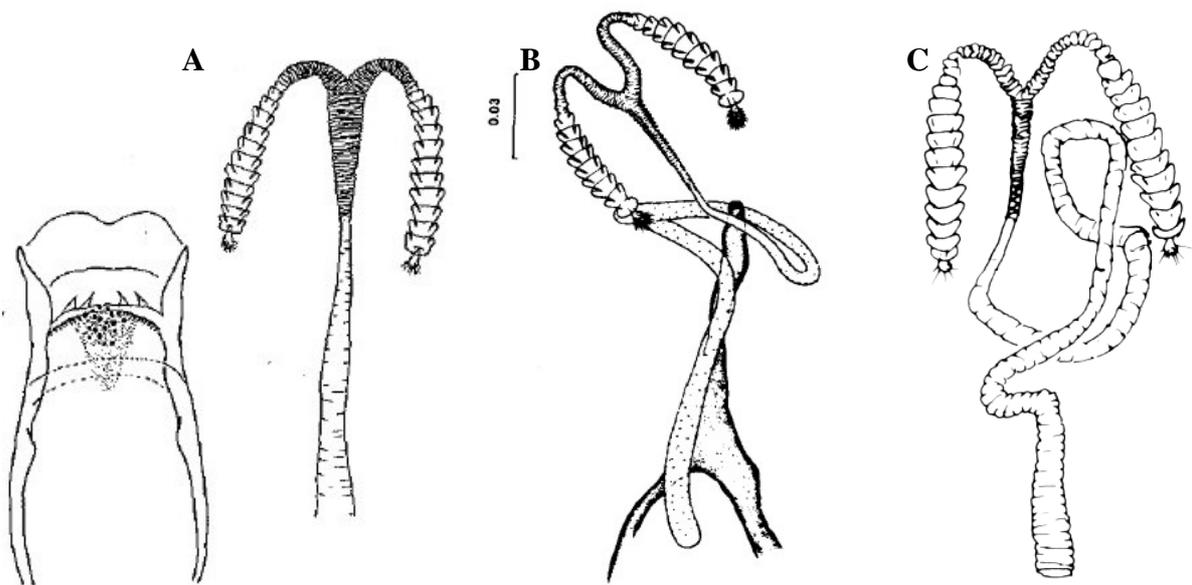


Figura 38 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) davisi* em chaves de identificação. A: cibário e espermateca em Forattini, 1973; B: Young & Duncan, 1994, C: Galati, 2003a.

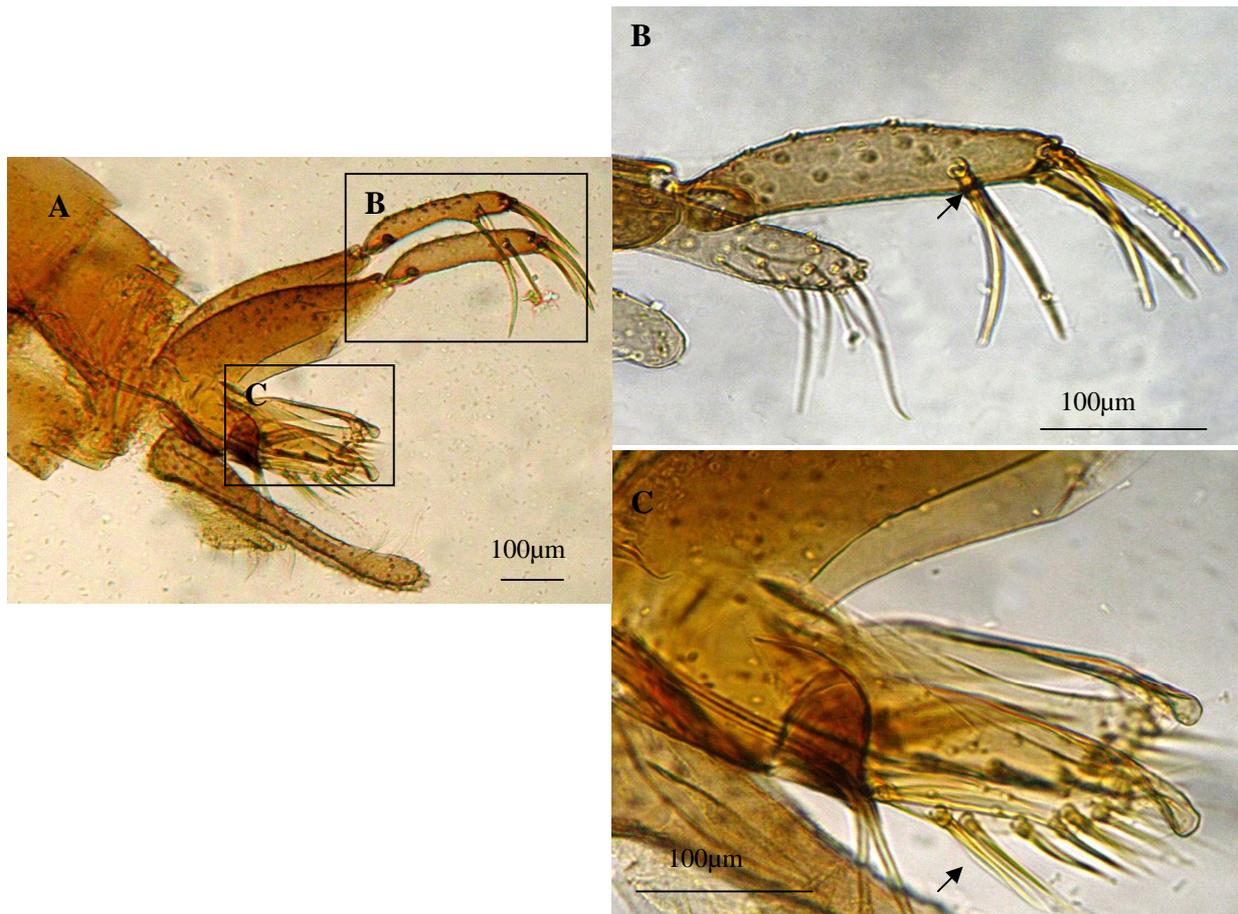


Figura 39 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) claustrai*. A: genitália de macho. B: detalhe dos espinhos do dististilo, seta indicando implantação dos espinhos proximais. C: parâmero, seta indicando aspecto foliáceo das cerdas.

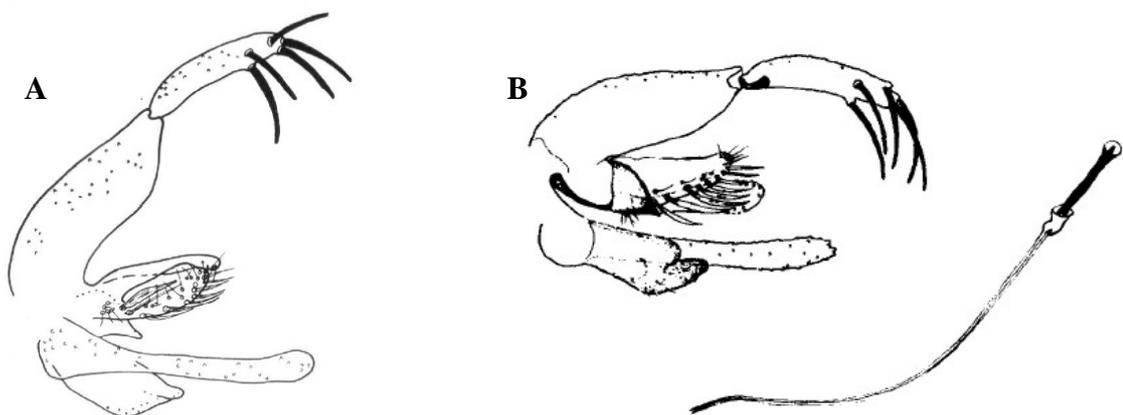


Figura 40 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) claustrai* em chaves de identificação. A: genitália em Ryan, 1986; B: genitália e aparelho ejaculador (bomba e filamentos) em Young & Duncan, 1994.

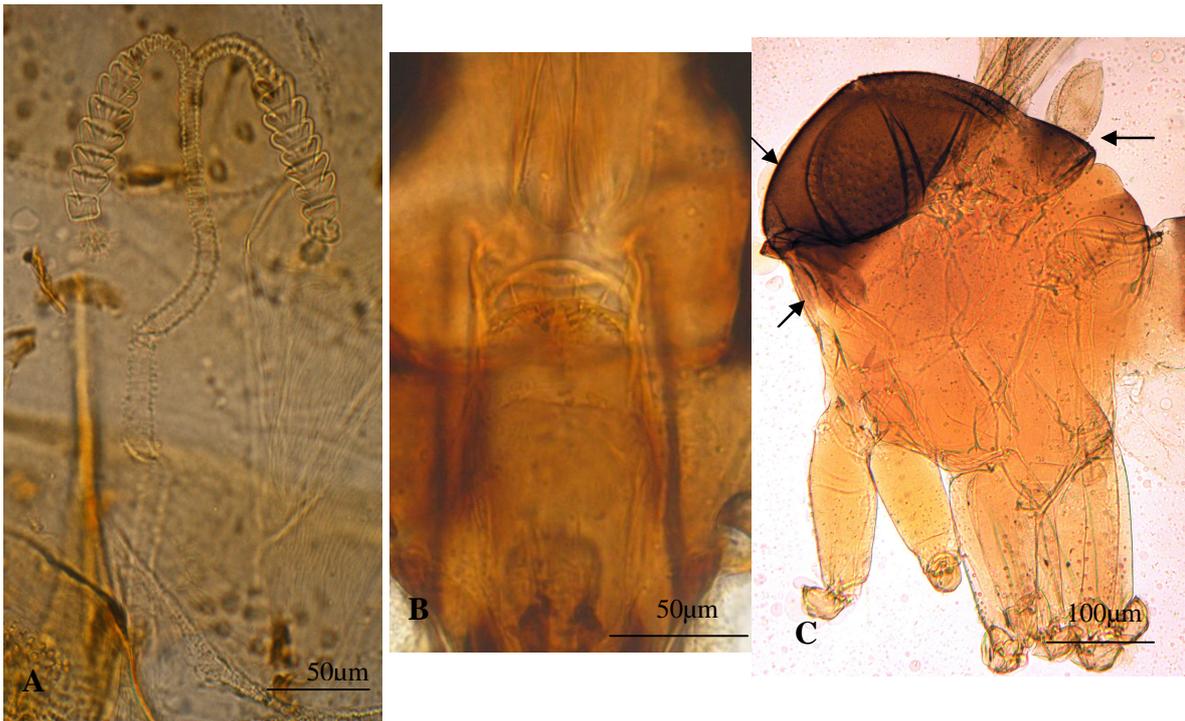


Figura 41 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps) clauserei*. A: espermateca. B: cibário. C: tórax, setas indicando pigmentação do pronoto, pré-escudo e escutelo.

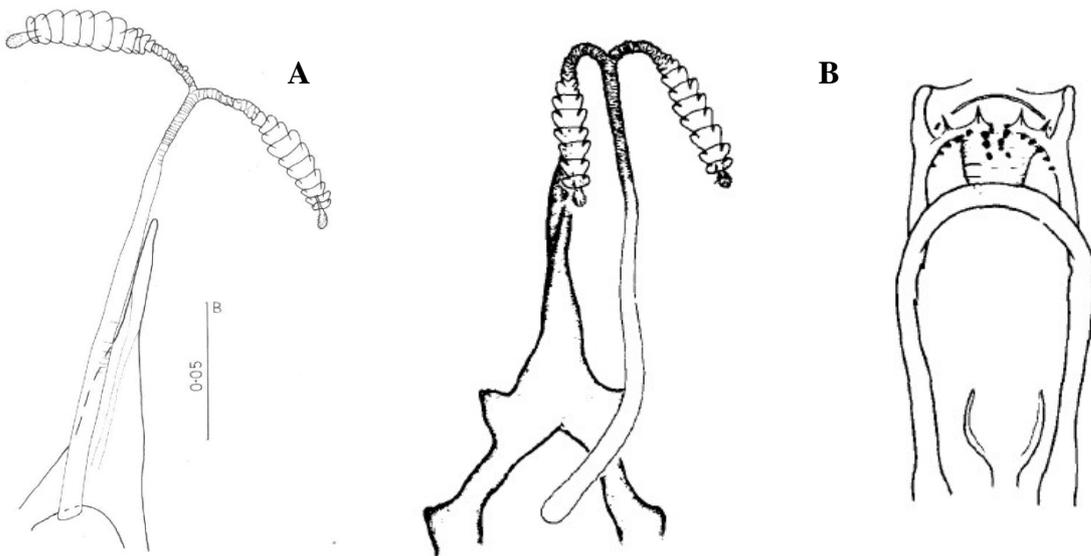


Figura 42 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps) clauserei* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: espermateca e cibário em Young & Duncan, 1994.

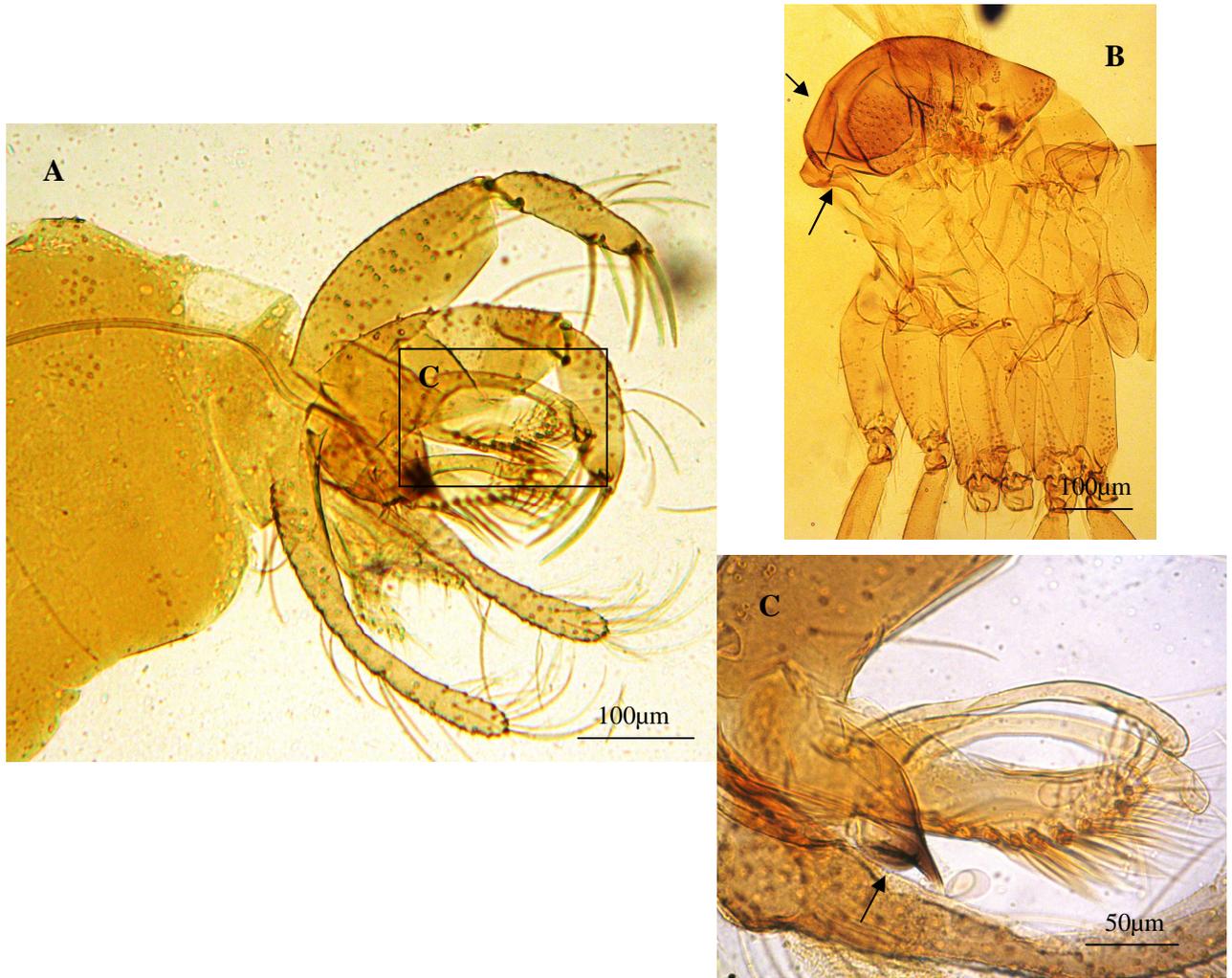


Figura 43 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps) amazonensis*. A: genitália. B: tórax, setas indicando a fraca pigmentação do pronoto e pré-escudo. C: destaque do parâmero, seta indicando dilatação latero-inferior do edeago.

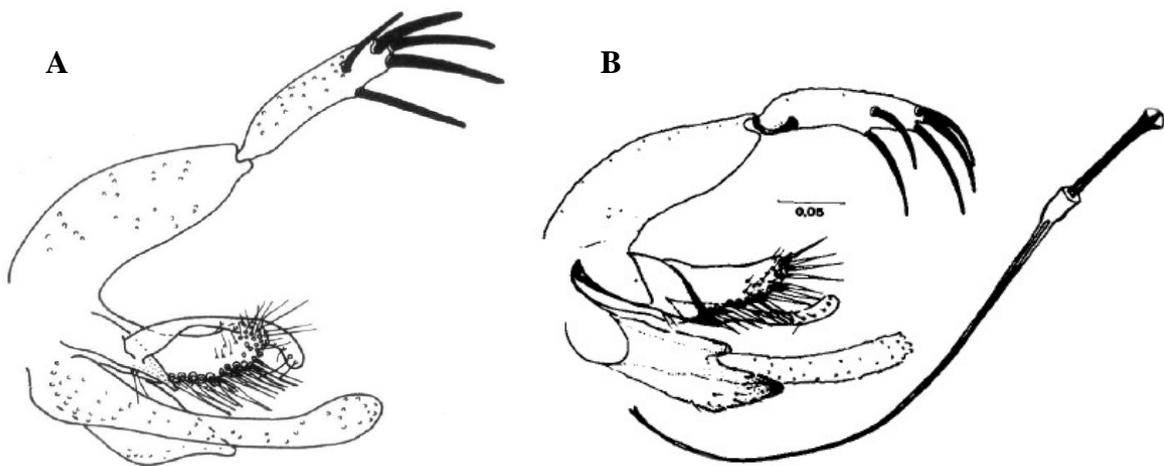


Figura 44 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps) amazonensis* em chaves de identificação. A: Forattini, 1973; B: Ryan, 1986; C: Young & Duncan, 1994.

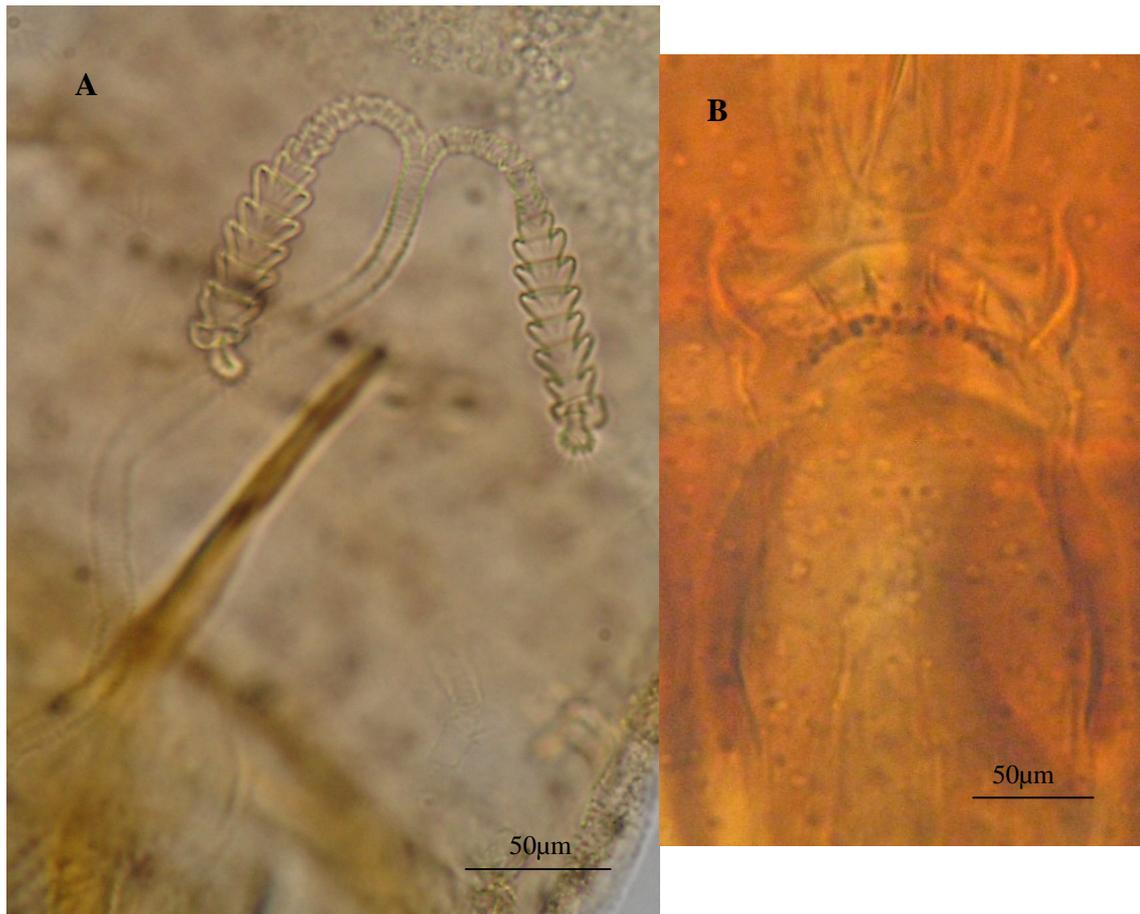


Figura 45 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps) amazonensis*. A: espermateca. B: cibário.

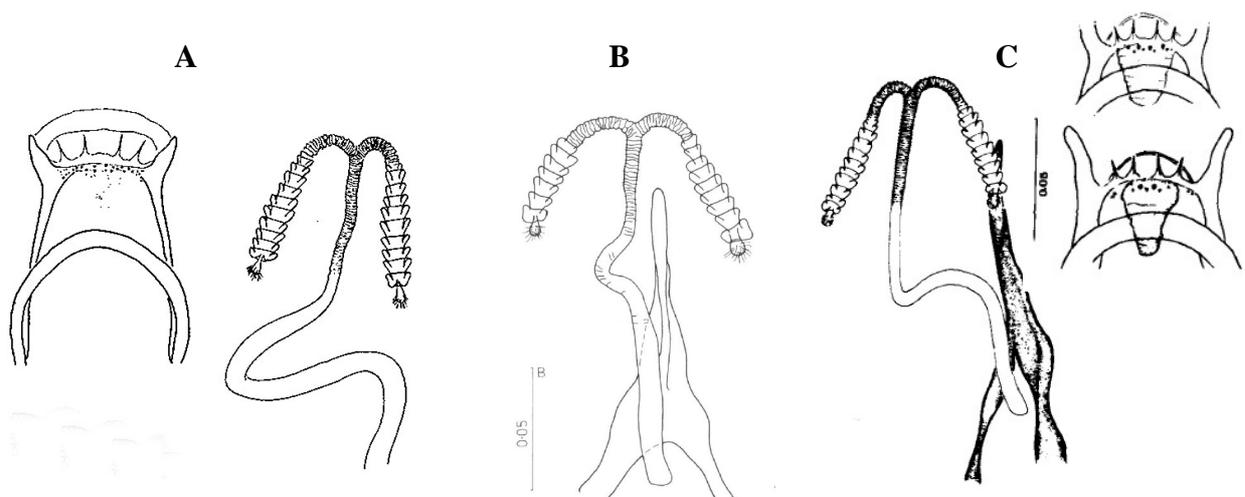


Figura 46 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps) amazonensis* em chaves de identificação. A: cibário e espermateca em Forattini, 1973; B: espermateca em Ryan, 1986; C: espermateca e cibário (variações) em Young & Duncan, 1994.

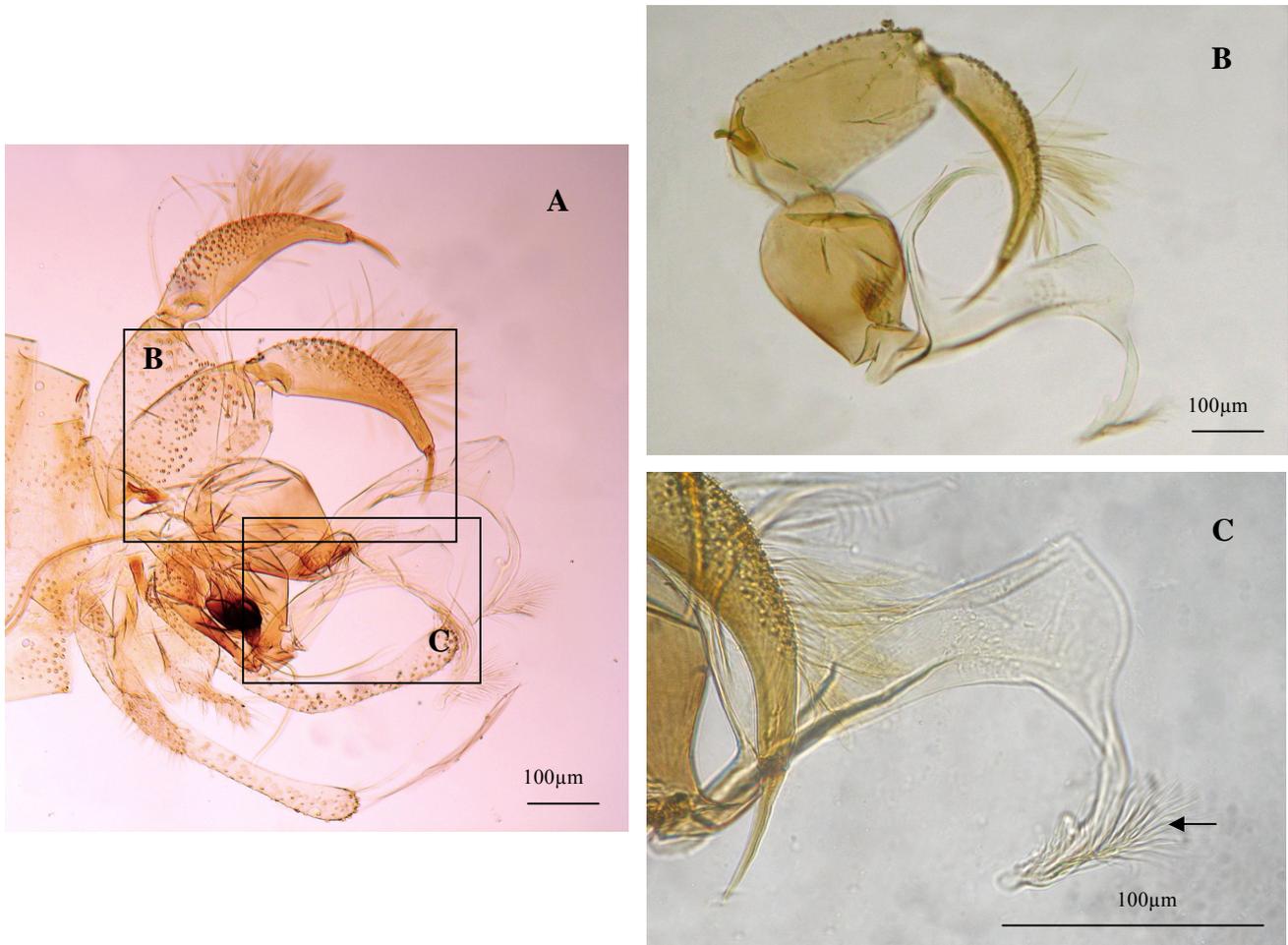
6.4- SÉRIE *guyanensis*

Figura 47 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps.) lainsoni*. A: genitália masculina. B: detalhe de secção longitudinal da genitália. C: detalhe da armadura dorsal do parâmero, de caracterização específica, seta indicando implantação de cerdas na armadura dorsal.

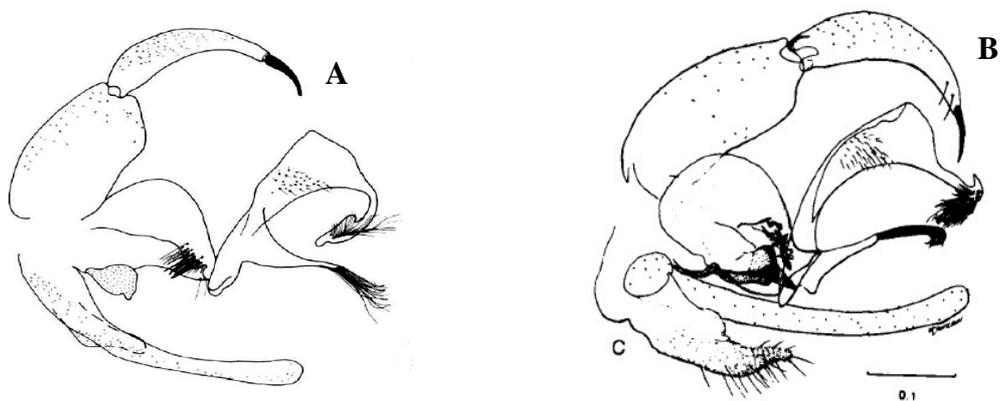


Figura 48 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) lainsoni* em chaves de identificação. A: Ryan, 1986; B: Young & Duncan, 1994.

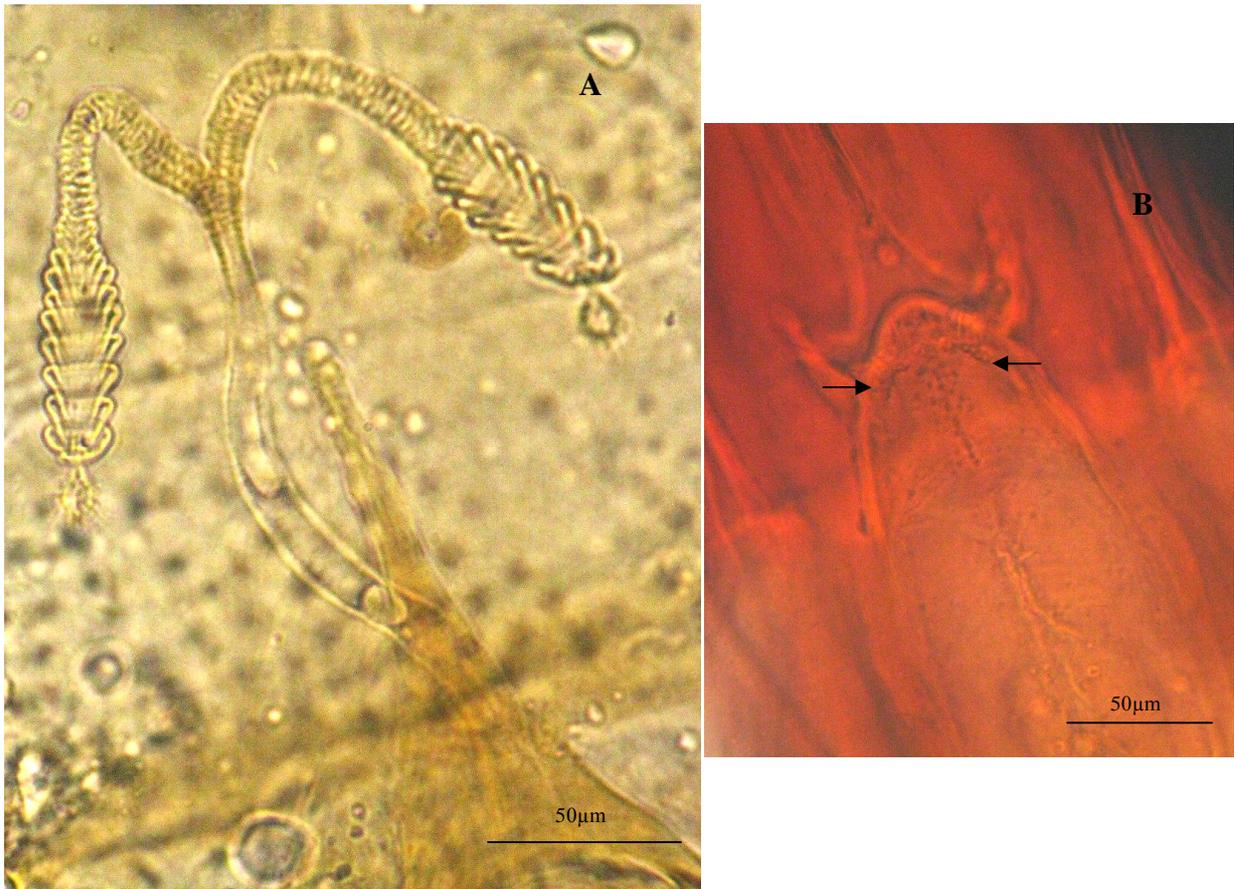


Figura 49 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) lainsoni*. A: espermateca. B: cibário.

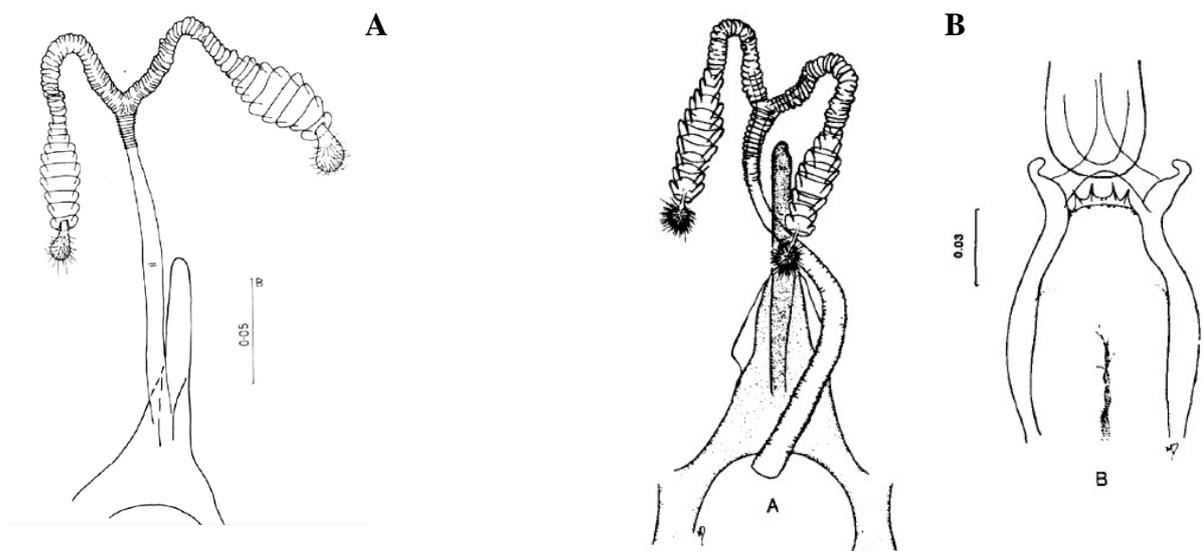


Figura 50 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) lainsoni* chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: espermateca e cibário em Young & Duncan, 1994.

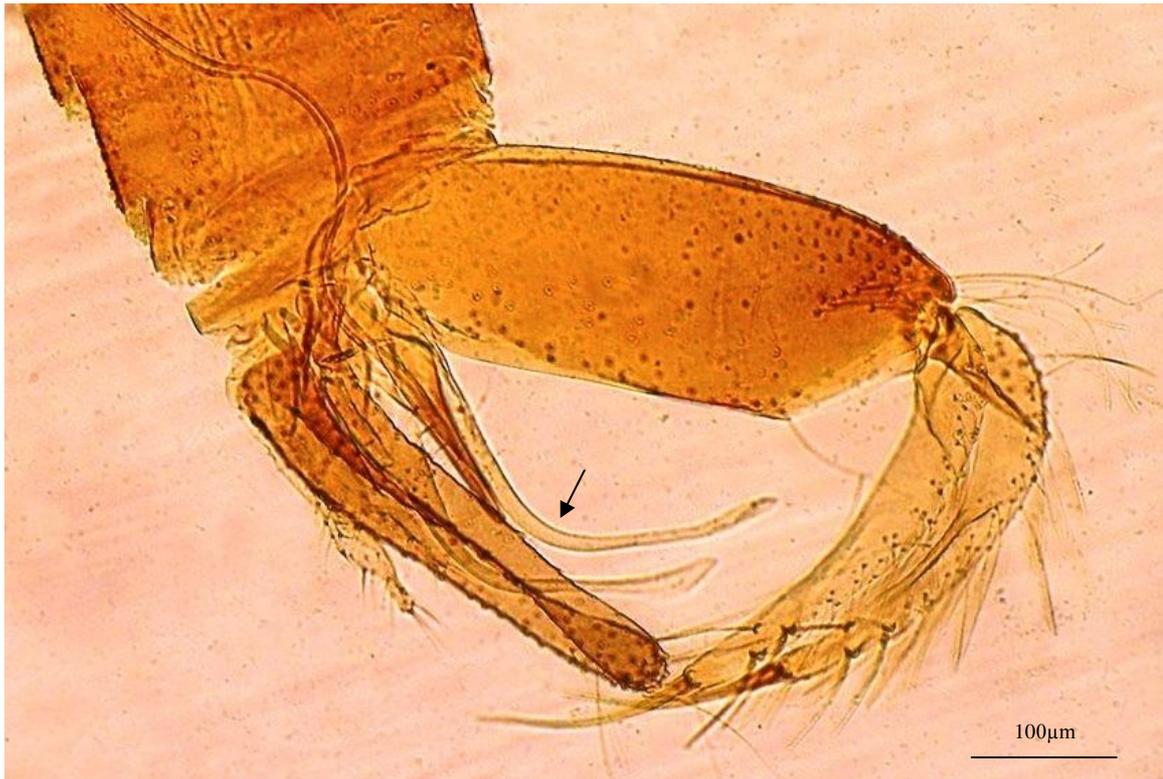


Figura 51 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu. (Ps.) corossoniensis*. A: genitália masculina, seta indicando forma do parâmero.

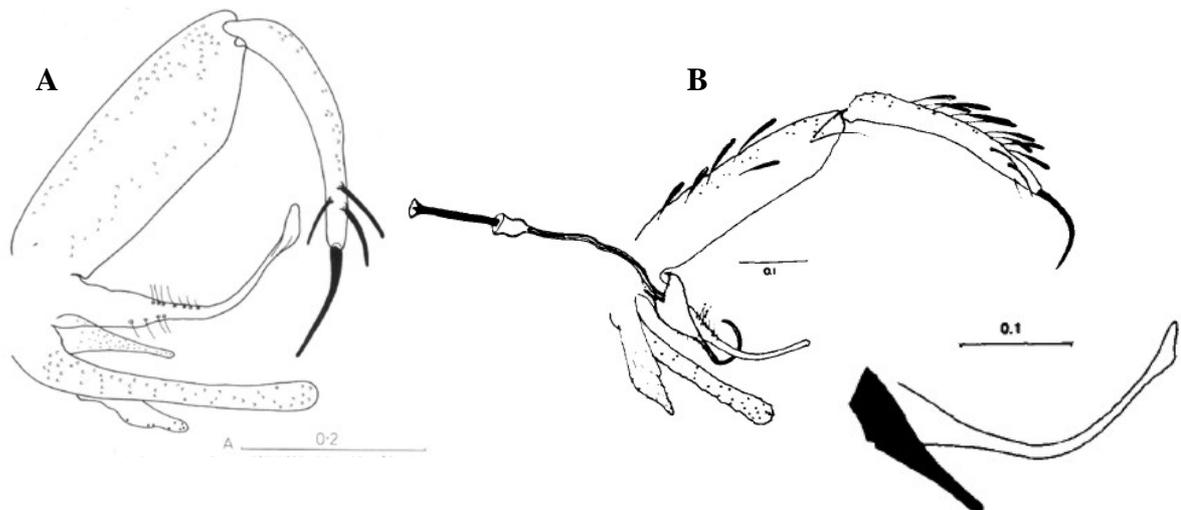


Figura 52 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) corossoniensis* em chaves de identificação. A: genitália em Ryan, 1986; B: genitália e parâmero em destaque em Young & Duncan, 1994.

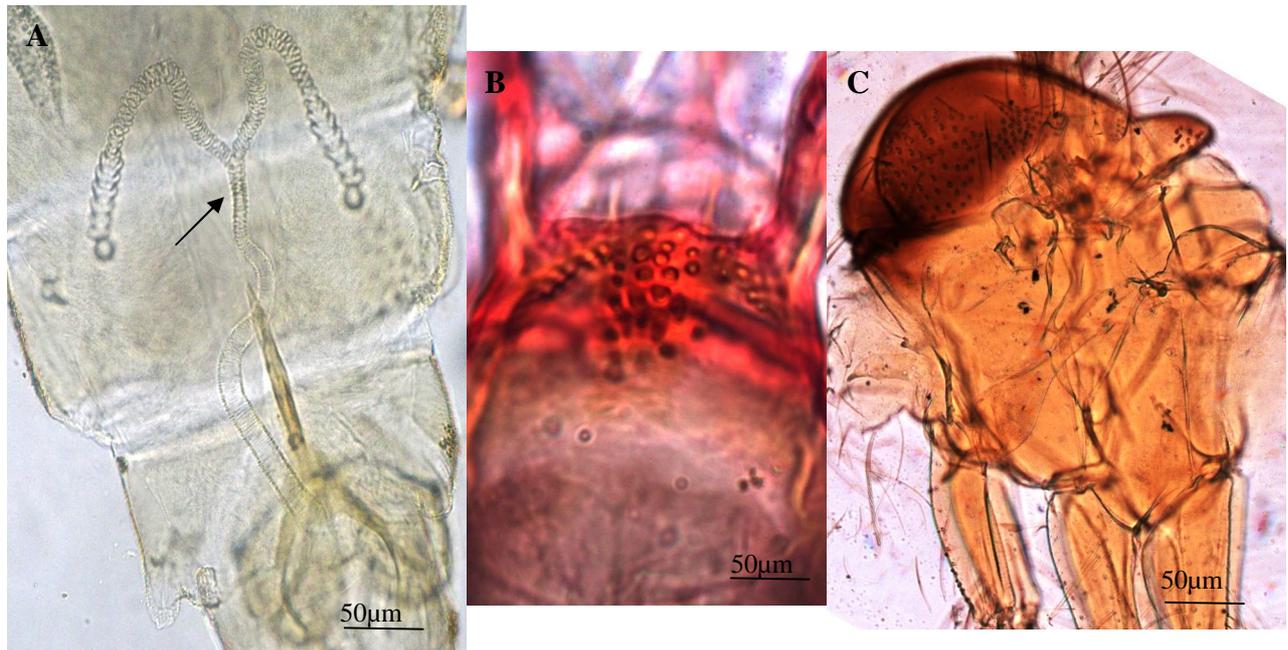


Figura 53 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) corossoniensis*: A: espermateca, seta indicando estreitamento da parte distal do duto comum antes da bifurcação dos dutos individuais, B: cibário; C: tórax.

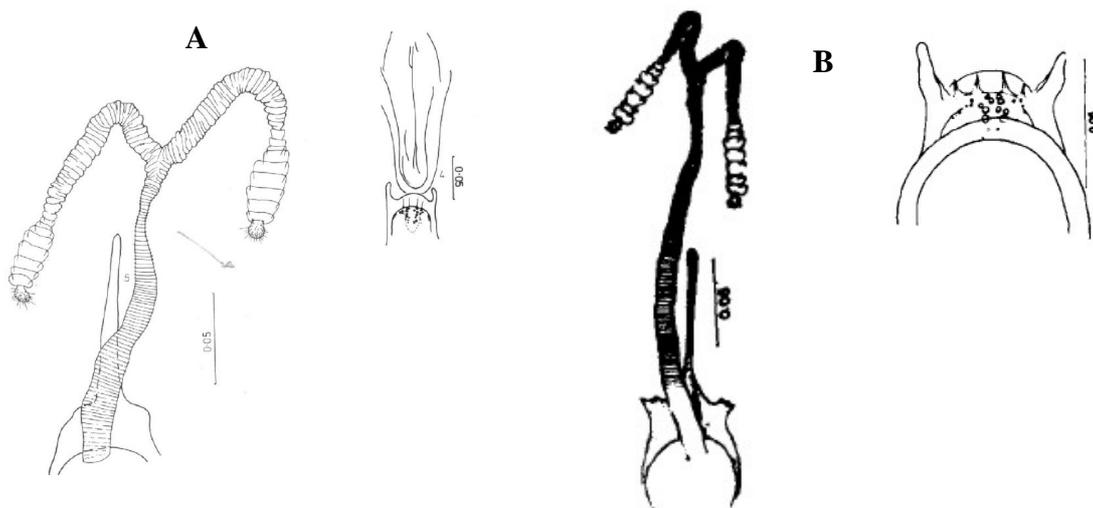


Figura 54 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) corossoniensis* em chaves de identificação. A: Ryan, 1986; B: Young & Duncan, 1994.

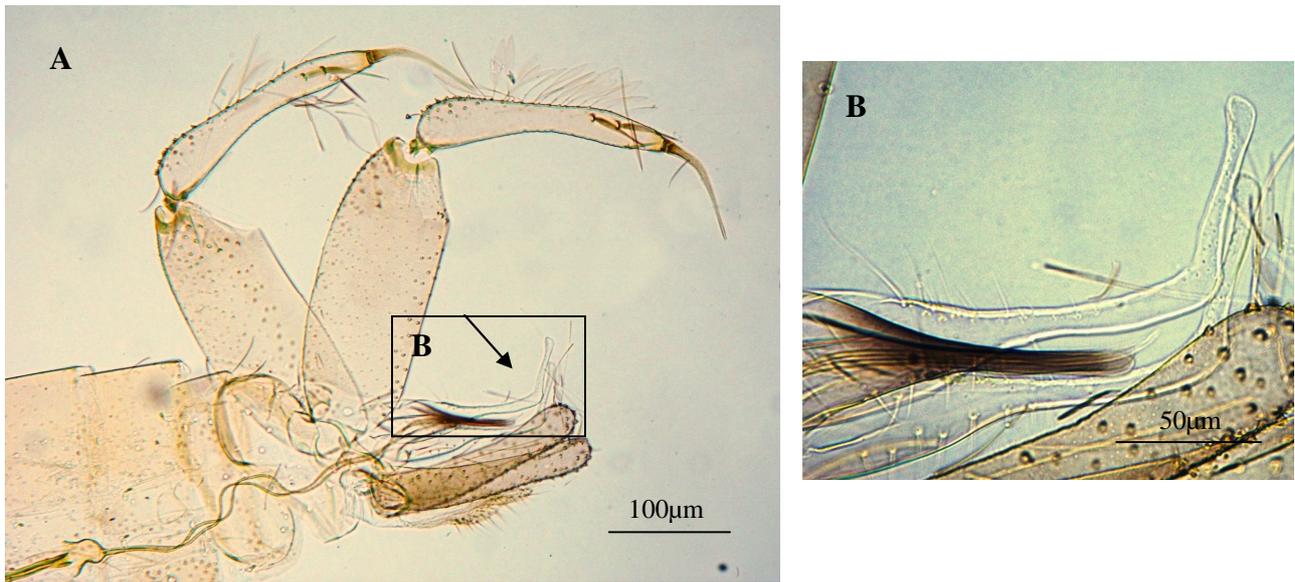


Figura 55 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps.) geniculata*. A: genitália masculina, seta indicando parâmero. B: detalhe do parâmero.

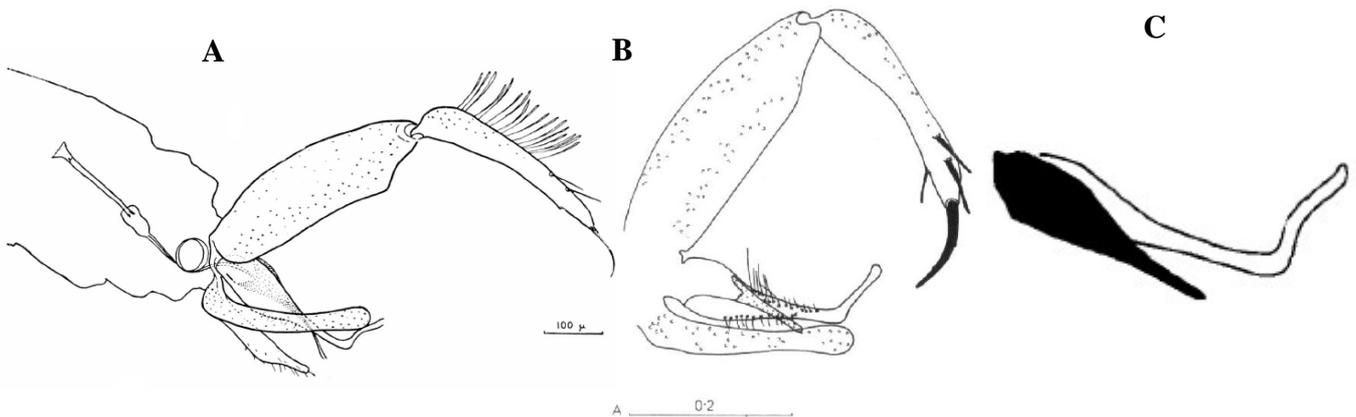


Figura 56 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) geniculata* em chaves de identificação. A: genitália em Mangabeira, 1941. B: genitália em Ryan, 1986. C: detalhe do parâmero em Young & Duncan, 1994.

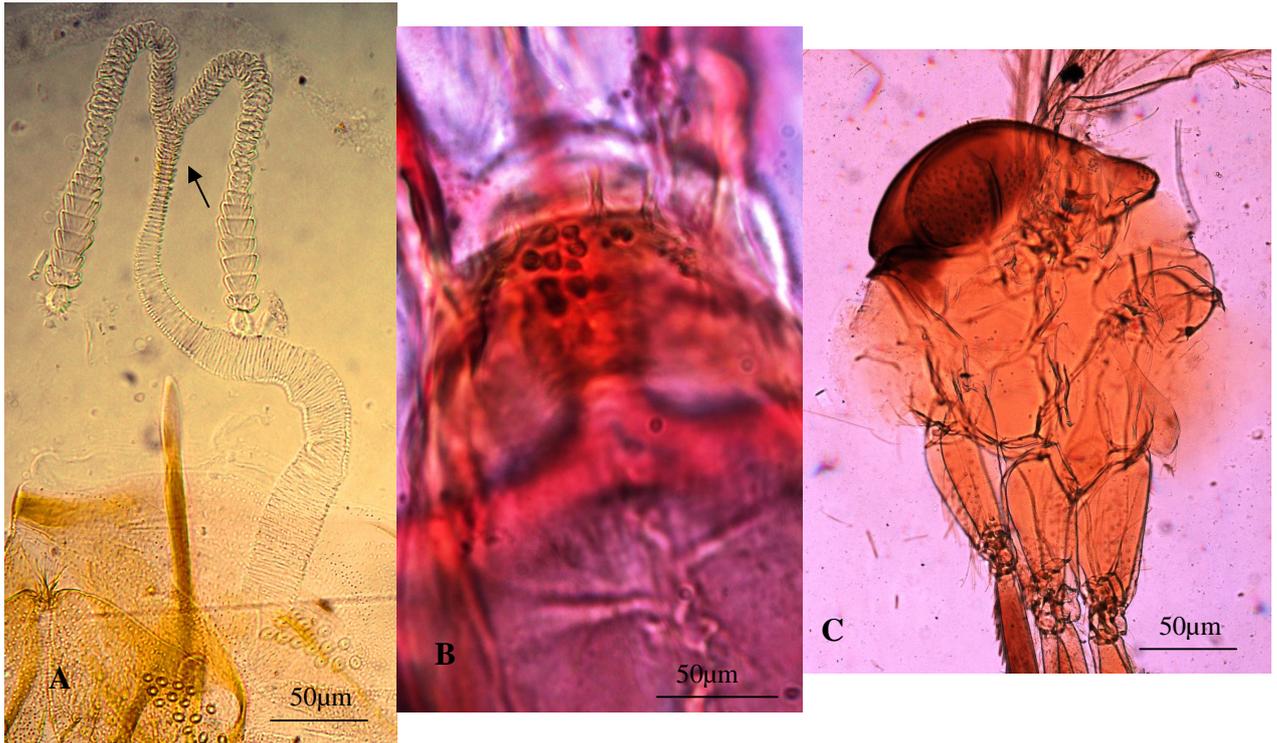


Figura 57 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu. (Ps.) geniculata*. A: espermateca , seta indicando estreitamento do ducto comum na região distal, próxima à bifurcação dos dutos comuns; B: cibário; C: tórax.

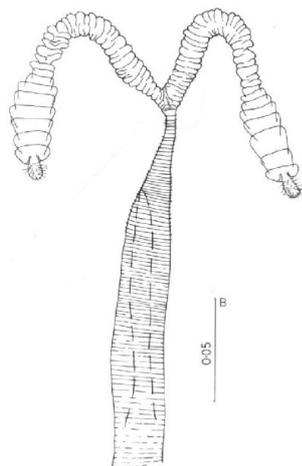


Figura 58 - Ilustração de fêmea de *Lu. (Ps.) geniculata* em chaves de identificação. Ryan, 1986.

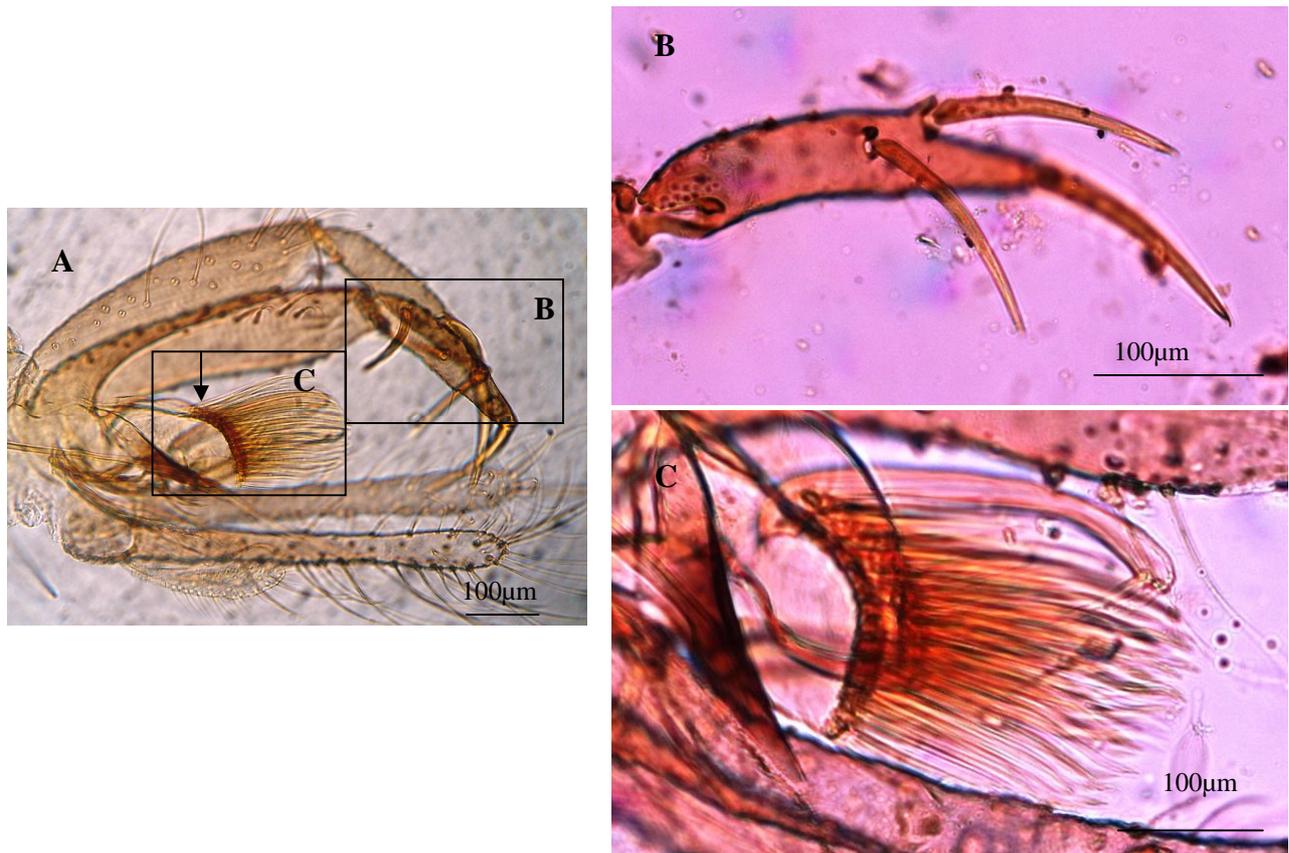
6.5 – SÉRIE *panamensis*

Figura 59 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps.) hirsuta*. A: genitália masculina, seta indicando implantação característica das cerdas, B: detalhe dos espinhos do dististilo, C: ampliação das cerdas do parâmero.

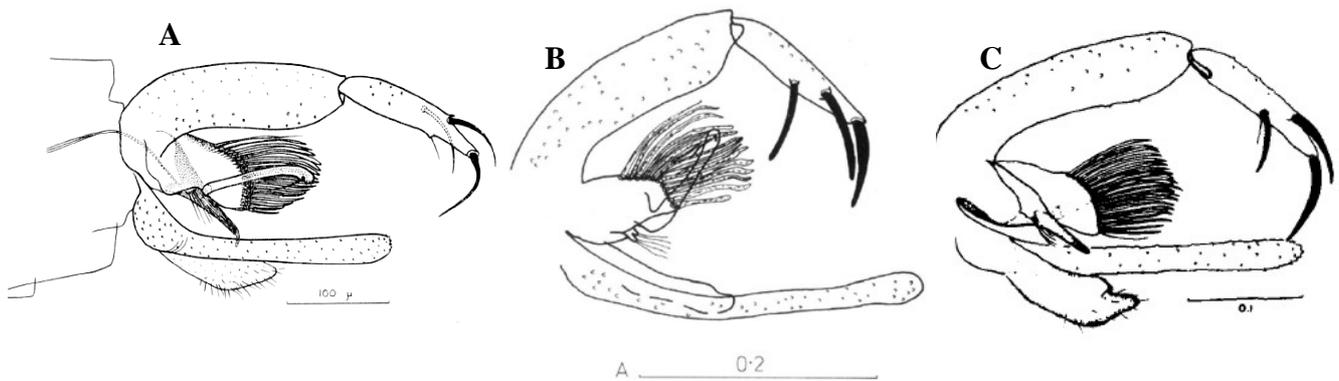


Figura 60 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) hirsuta* em chaves de identificação. A: Mangabeira, 1942; B: Ryan, 1986; C: Young & Duncan, 1994.

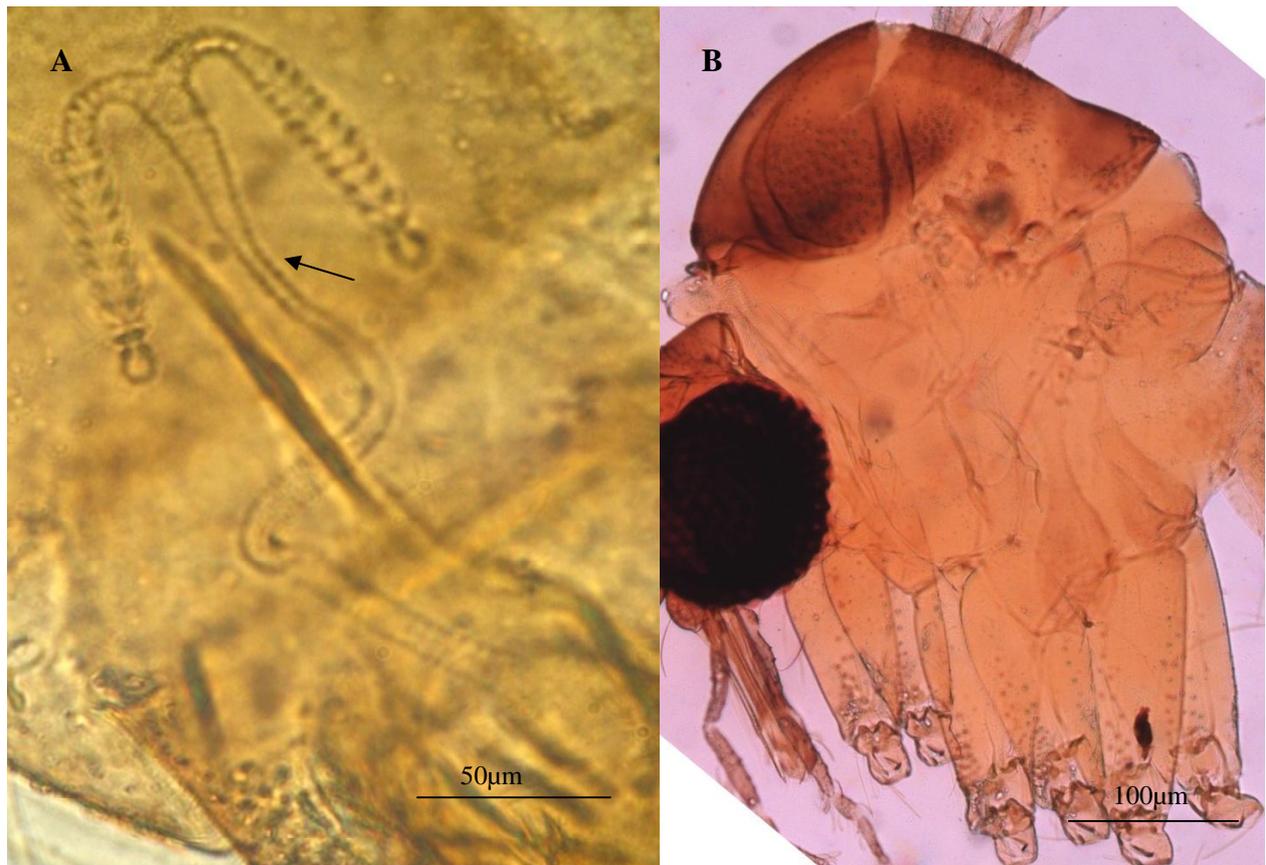


Figura 61 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) hirsuta*. A: espermateca. Seta indicando estreitamento de duto individual; B: tórax.

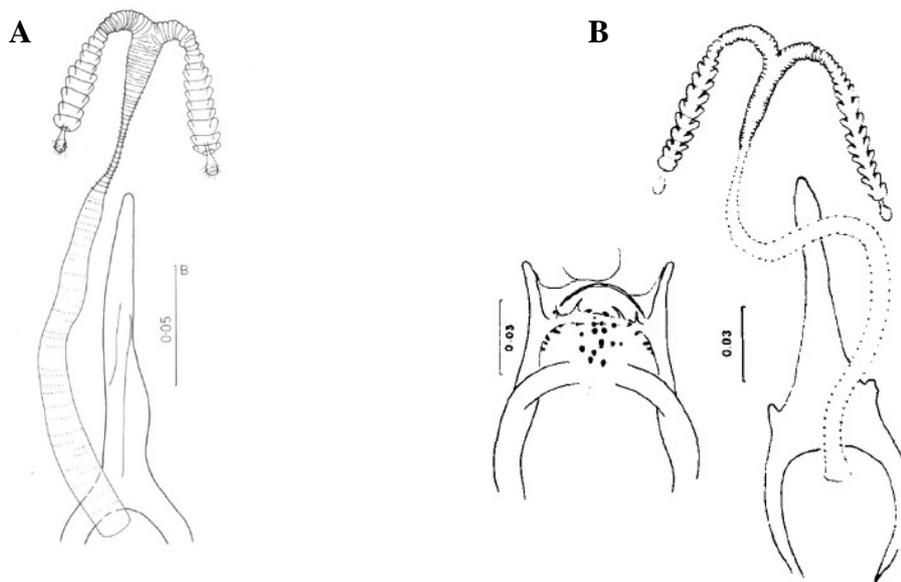


Figura 62 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) hirsuta* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: cibário e espermateca em Young & Duncan, 1994.

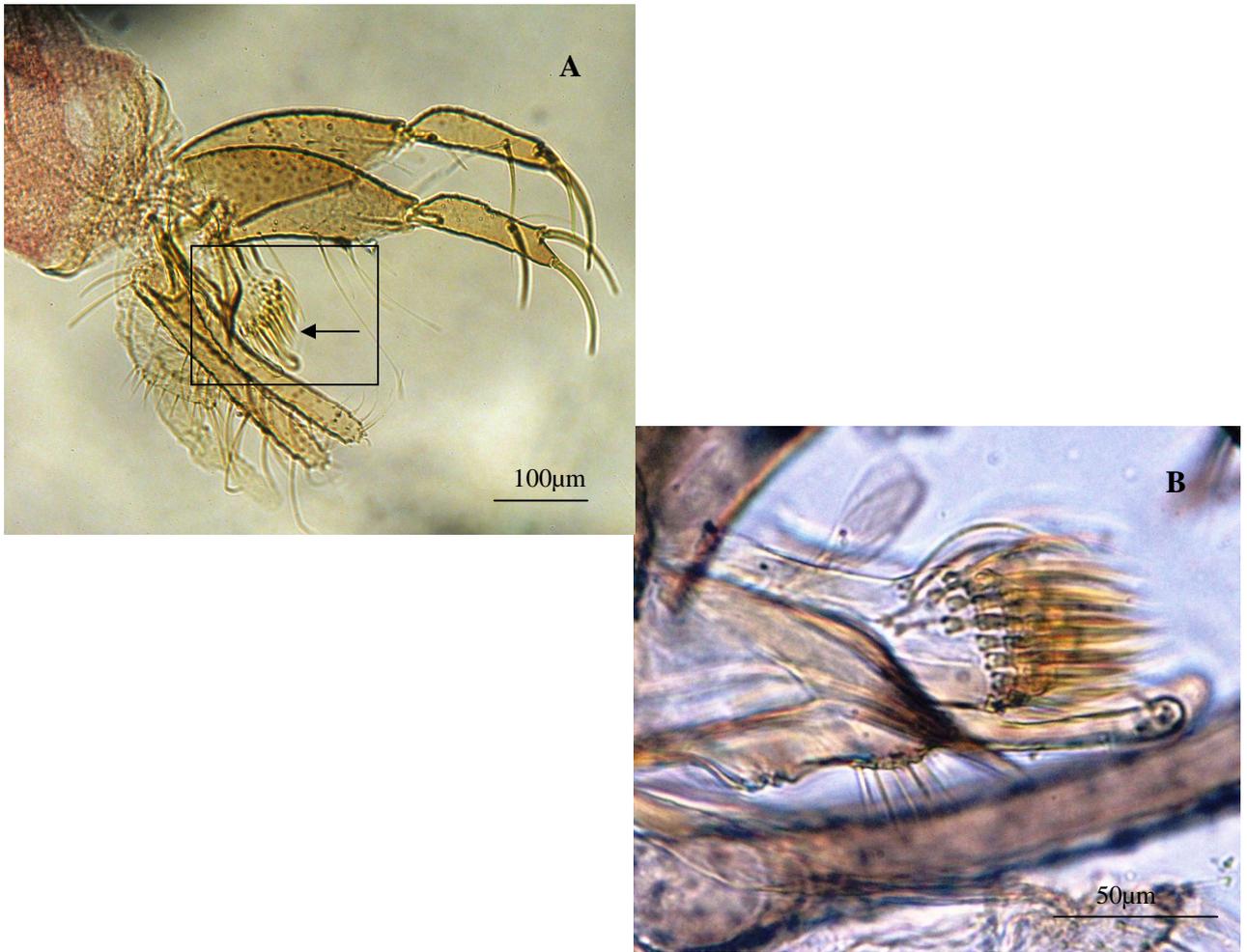


Figura 63 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu. (Ps.) ayrozai*. A: genitália maculina, seta indicando disposição das cerdas do parâmero. B: ampliação da estrutura.

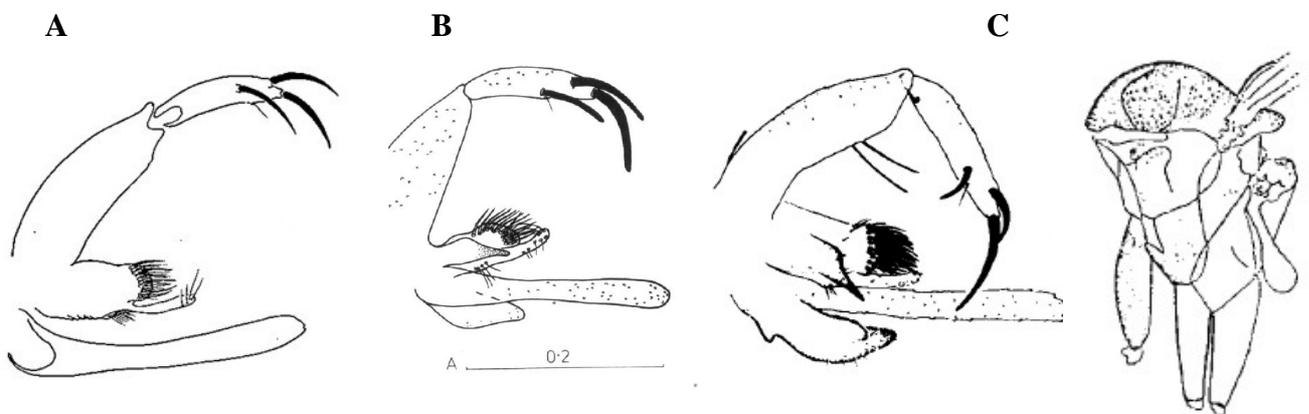


Figura 64 - Ilustrações de macho de *Lu. (Ps.) ayrozai* em chaves de identificação. A: genitália em Forattini, 1973; B: genitália em Ryan, 1986; C: genitália e tórax em Young & Duncan, 1994.

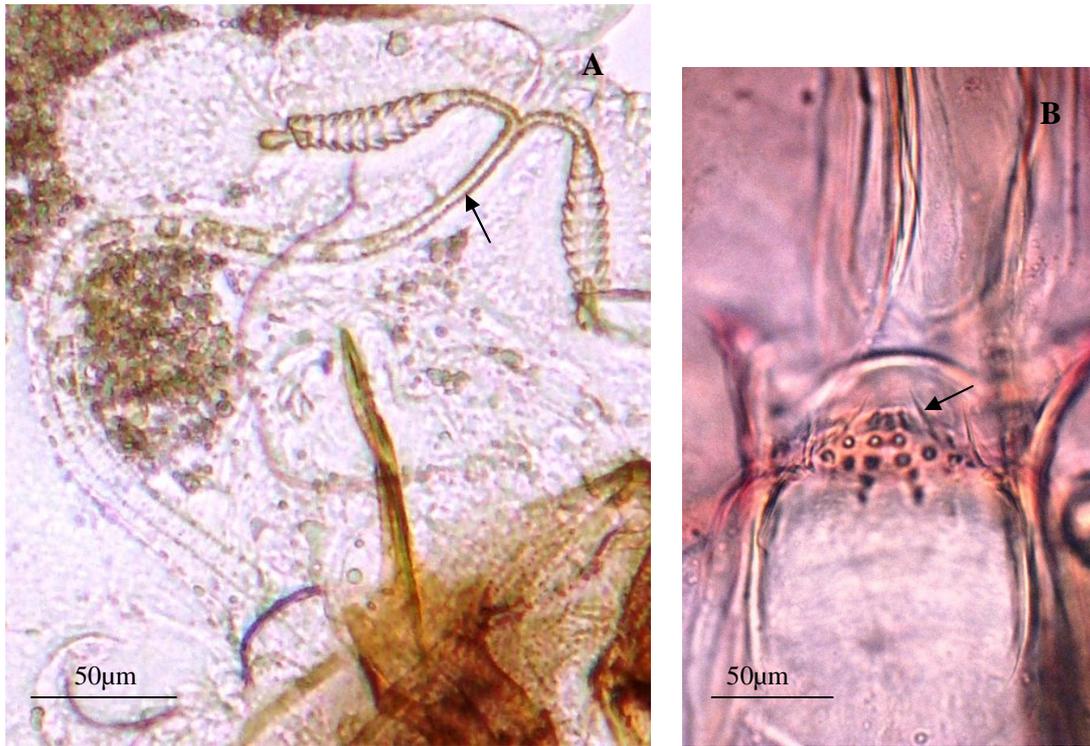


Figura 65 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu. (Ps.) ayrozai*. A: espermateca, seta indicando estriação do terço distal do duto comum. B: cibário, seta indicando disposição inclinada em 45° dos dentes horizontais.

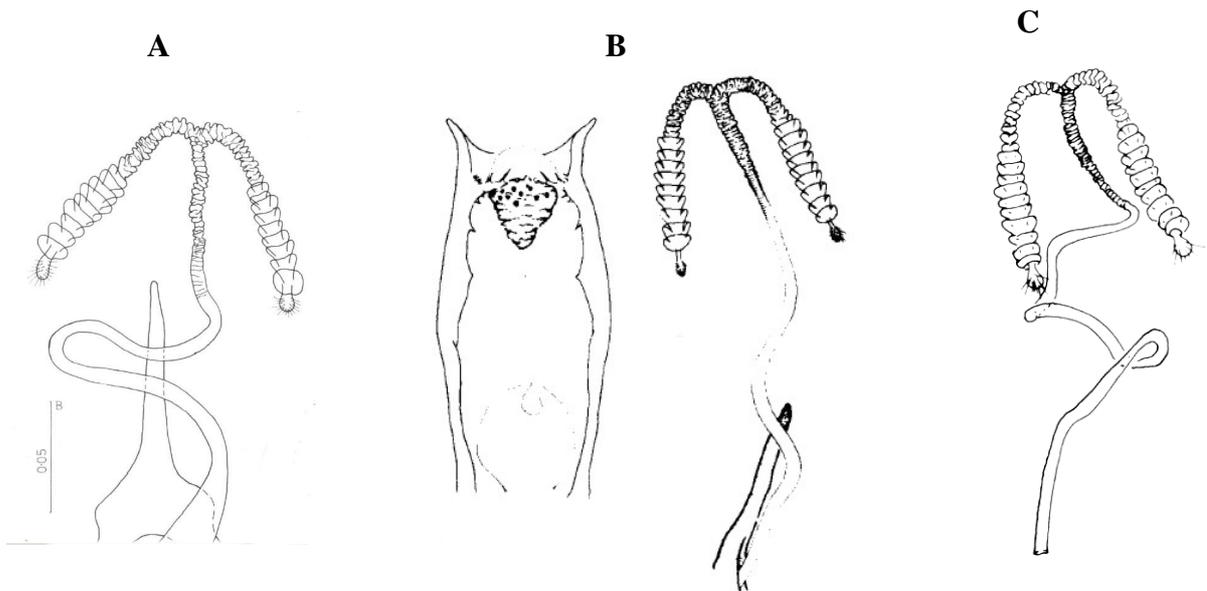


Figura 66 - Ilustrações de fêmea de *Lu. (Ps.) ayrozai* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986, B: cibário e espermateca em Young & Duncan, 1994. C: espermateca em Galati, 2003.

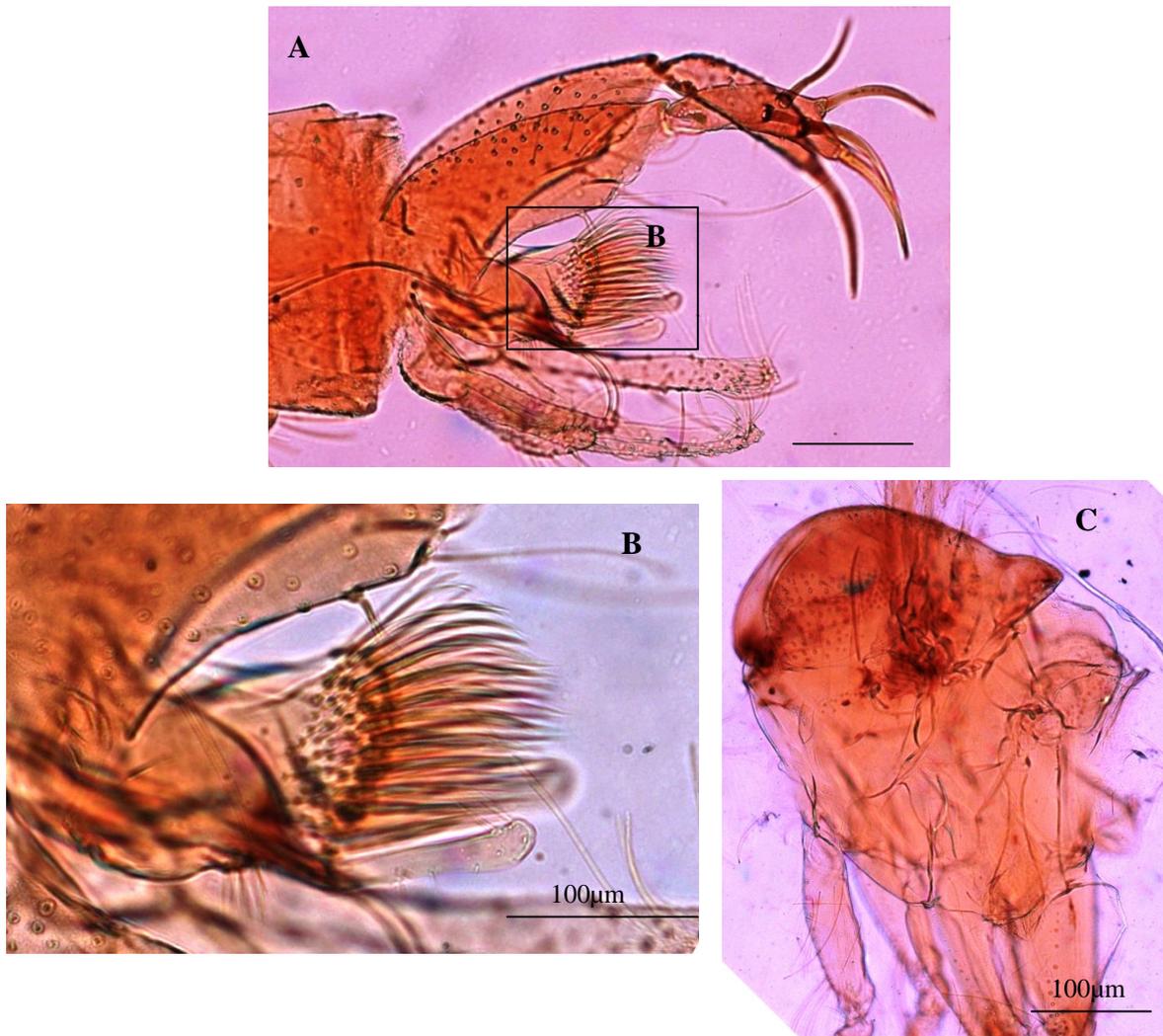


Figura 67 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu. (Ps.) carrerai*. A: genitália masculina. B: detalhe do parâmero; C: tórax.

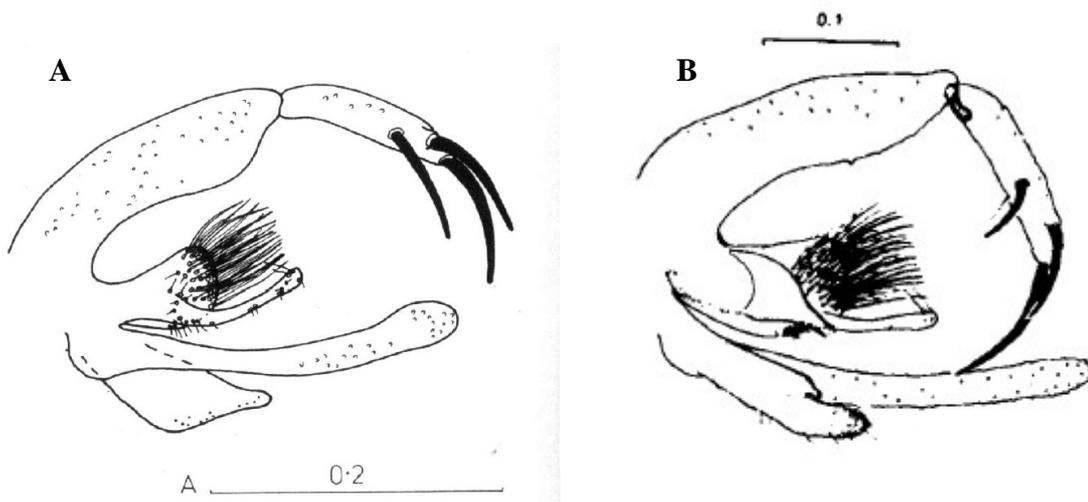


Figura 68 - Ilustrações de macho de *Lu. (Ps.) carrerai* em chaves de identificação. A: genitália em Ryan, 1986. B: genitália em Young & Duncan, 1994.

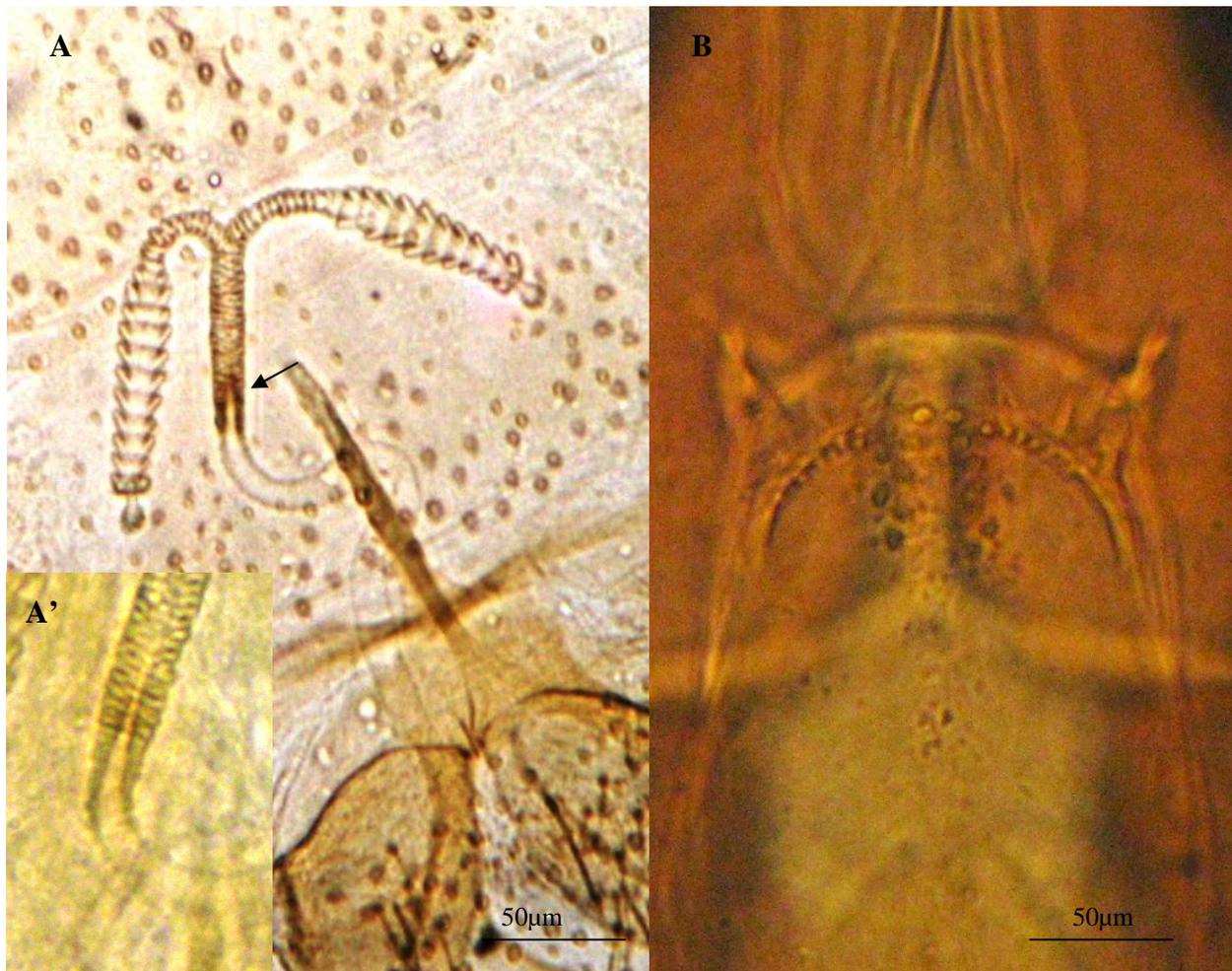


Figura 69 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) carrerai*. A: espermateca, A': Detalhe da projeção em "V" invertido do duto comum. B: cibário.

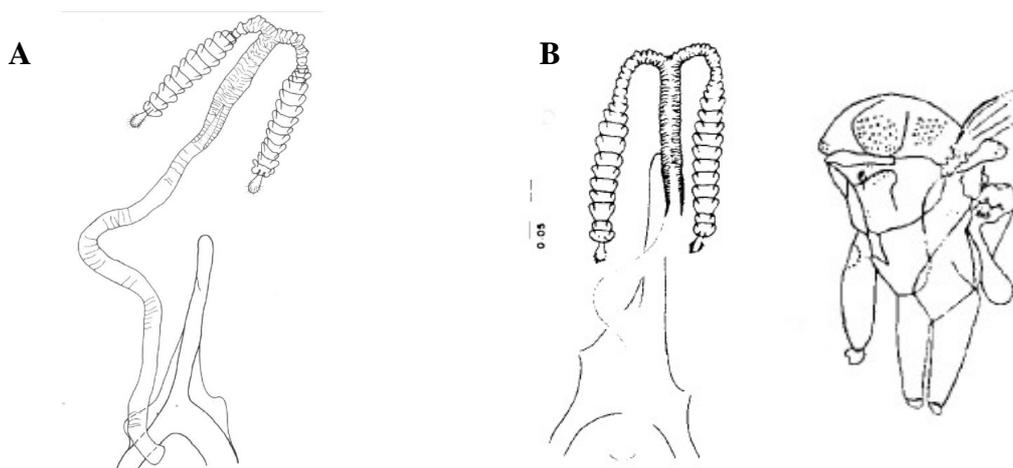


Figura 70 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) carrerai* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: espermateca e tórax em Young & Duncan, 1994.



Figura 71 - Fotomicrografia digital de macho de *Lu.(Ps.) paraensis*. A: genitália masculina. B: detalhe do parâmero, setas indicando divergência das cerdas, área pigmentada na base do parâmero.

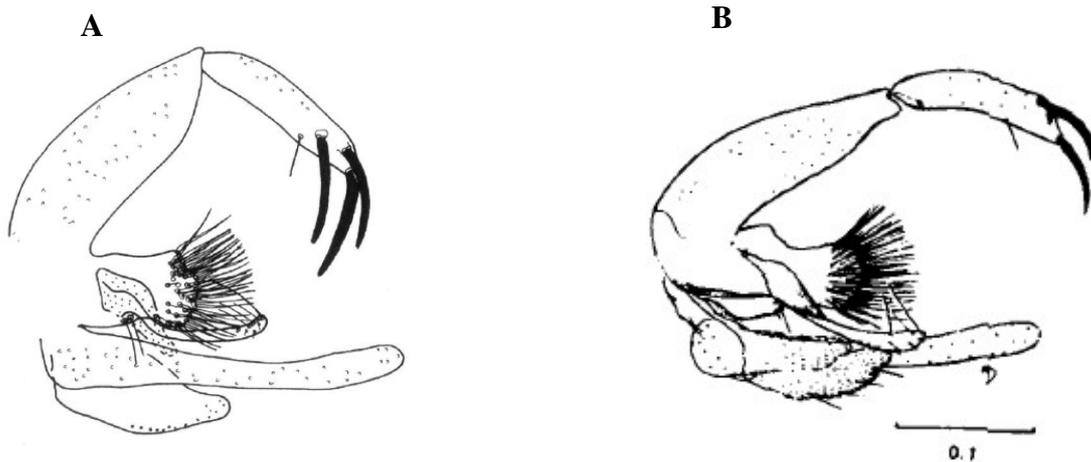


Figura 72 - Ilustrações de macho de *Lu.(Ps.) paraensis* em chaves de identificação. A: Ryan, 1986; B: Young & Duncan, 1994.

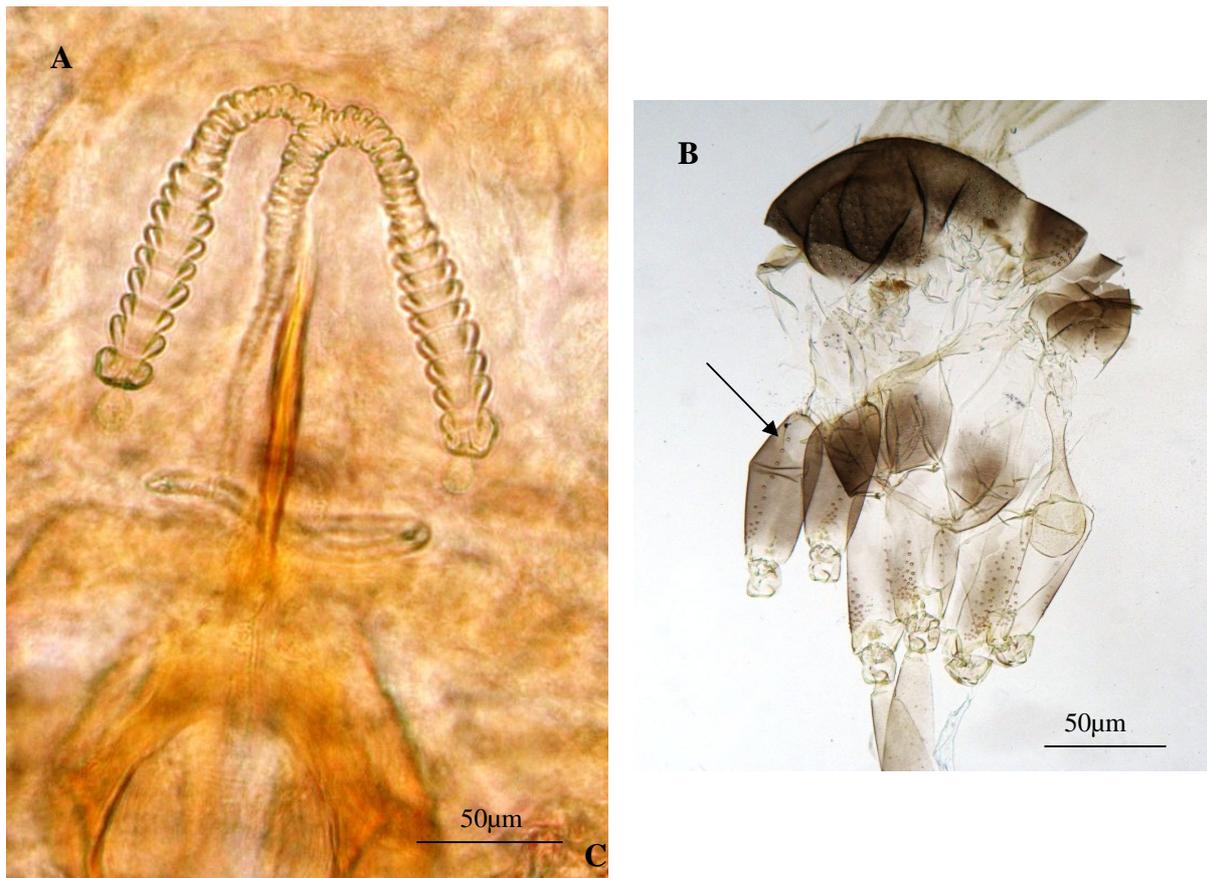


Figura 73 - Fotomicrografia digital de fêmea de *Lu.(Ps.) paraensis*. A: espermateca. B: tórax, seta indicando coloração marrom escura das coxas anteriores.

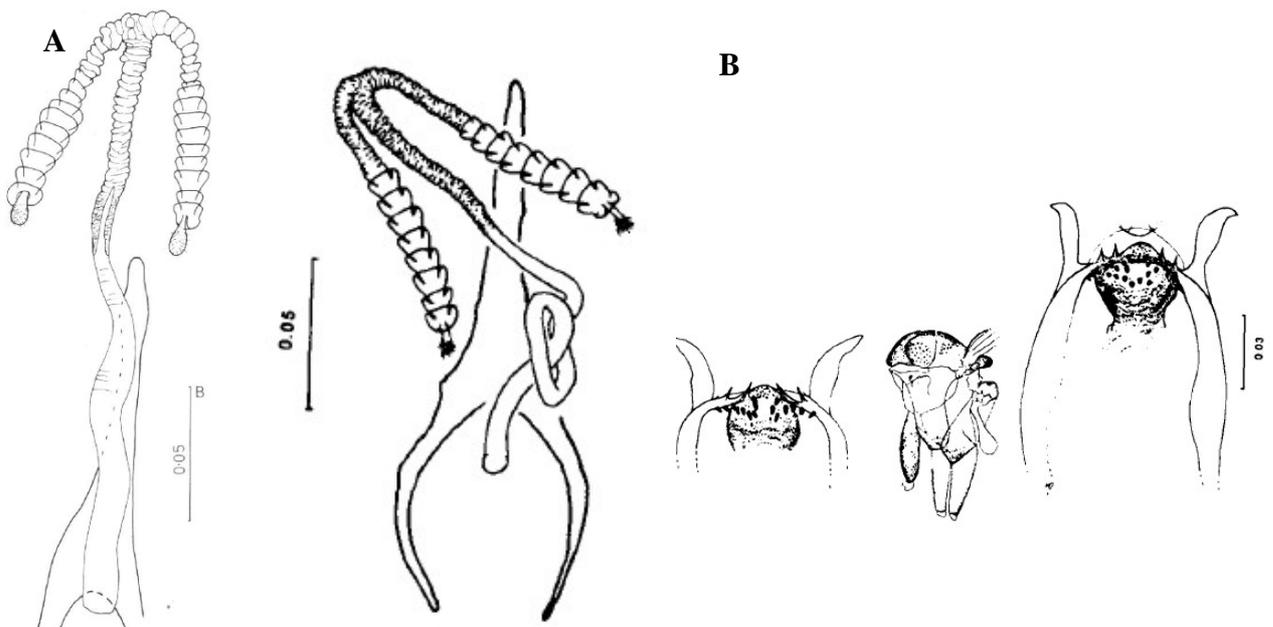


Figura 74 - Ilustrações de fêmea de *Lu.(Ps.) paraensis* em chaves de identificação. A: espermateca em Ryan, 1986; B: espermateca tórax e cibário (variações) em Young & Duncan, 1994.

7- DISCUSSÃO

Mesmo que a descrição de espécies de flebotomíneos tenha sido documentada com auxílio de desenhos e eventualmente facilitada por meio de fotografia analógica convencional (DAMASCENO e CAUSEY, 1944; CAUSEY e DAMASCENO, 1945), a utilização destas imagens fotografadas na construção de uma chave ilustrada ainda não é realidade. A fotomicrografia digital colorida é uma técnica relativamente nova para ilustração de publicações da área (CARVALHO et al., 2006, ANDRADE FILHO et al., 2003) e tem sido utilizada com várias finalidades. Neste estudo, o propósito foi, entre outros, mostrar a técnica como instrumento útil na identificação e preservação de imagens de interesse em taxonomia flebotomínica.

No estado do Pará, a proposta de digitalização de coleções biológicas relevantes é assunto de interesse em várias instituições, sendo que atualmente há um projeto em andamento para a digitalização da coleção entomológica da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) da Amazônia Oriental que provavelmente disponibilizará seu acervo em um banco de dados informatizado, abrindo portas para que outras instituições realizem o mesmo trabalho (LUNZ, 2008).

A tentativa de criar uma chave de identificação ilustrada e interativa tem sido enconrajada por diversos pesquisadores, visto a complexidade de caracterização deste grupo de insetos. SHIMABUKURO (2007) apresentou esta proposta para os flebotomíneos da fauna do estado de São Paulo, e através do sistema “delta”, produziu uma chave interativa. Quando comparamos com a fauna do estado do Pará, percebemos que, pelo quantitativo de espécies quase duas vezes maior, esta prática ainda será mais difícil. Entretanto acreditamos que com nosso trabalho, a abordagem de *Psychodopygus* poderá iniciar este processo e as imagens

adquiridas serão disponibilizadas para compor futuros trabalhos de interesse em taxonomia flebotomínica.

A qualidade das lâminas, montagem, lentes do microscópio, máquina fotográfica utilizada (MACHADO et al., 2005), conservação dos espécimes, fatores que influenciam no produto final, foram minuciosamente avaliados previamente para não haver prejuízos ao produto final (MIOT et al., 2006).

Com a leitura de todas as caixas de lâminas de *Psychodopygus* disponíveis na coleção, pudemos perceber que a maioria do material está em processo de deterioração, devido o principal método de montagem da época ter sido o berlese, sendo uma minoria do acervo montado com meios considerados mais duradouros (enessê e bálsamo do Canadá). Analisamos lâminas que datam da década de 70 totalmente enegrecidas, imediatamente desprezadas do processo de aquisição de imagens. Não excluimos o fragmento temporal desta década, devido encontrarmos lâminas de flebotomínos ainda preservadas, fundamentais para a apresentação do acervo digital. A exemplo deste fato, foram capturadas imagens de síntipos de *Lu. (Ps.) lainsoni* em perfeito estado datando de 1974 montados em bálsamo do Canadá.

Embora a morfometria e a microscopia quantitativa sejam técnicas utilizadas na caracterização de flebotomíneos, neste trabalho não foi possível e nem foi objeto de estudo a realização de análises morfométricas. Em alguns casos, devido fragilidade de certas estruturas não esclerotinizadas, há grande probabilidade de mudança em sua morfologia. Espermatecas podem variar consideravelmente devido contrações das estruturas pela montagem em diferentes meios, bem como alterações na concentração, preparo e estocagem das substâncias utilizadas na preservação dos espécimes. (QUATE, 1962; MARCONDES et al., 1998; SINGH et al., 2007).

Lu. (Ps.) complexa e *Lu. (Ps.) wellcomei* compõe uma parcela significativa da coleção de flebotomíneos (328 e 226 lâminas, respectivamente). Isto pode ser esclarecido pelo fato das exaustivas pesquisas para esclarecer as dezenas de casos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) que acometeram a força-tarefa que trabalhava na Serra dos Carajás nos anos 70 terem deixado um legado entomológico que nos trouxe não só a descrição de *Lu. (Ps.) wellcomei* (FRAIHA et al., 1971), como sua incriminação como principal vetor de *Leishmania (Viannia) braziliensis* na região (READY et al., 1984; RYAN et al., 1987). Entretanto, devido a má qualidade de conservação em longo prazo, menos de 5% deste material permaneceu viável para captura das imagens.

Devido aos trabalhos que atualmente têm sido realizados na mesma região para investigação da casuística de LTA (SOUZA et al., 2010), muito material não só destes táxons de *squamiventris*, como Phlebotominae em geral foram disponibilizados para fotomicrografia e compreenderam boa parte deste acervo entomológico digital. Deste modo, a possibilidade de se preparar novas lâminas é fato já em realização por parte da equipe técnica do Insetário de Flebotomíneos, e este trabalho pôde contribuir também para se realizar um levantamento do acervo, posteriormente um diagnóstico situacional da coleção e estabelecimento de prioridades para recomposição do material.

Outra espécie que constatamos abundante material na coleção foi *Lu. (Ps.) davisii* (254 lâminas). Esta situação pode ser explicada pelos trabalhos que foram realizados da floresta da Reserva do Utinga (SHAW et al., 1972) que disponibilizaram bastante espécimes, e este flebotomíneo é o membro do subgênero *Psychodopygus* mais abundante neste ambiente.

Além do material proveniente da coleção de flebotomíneos do IEC e da fauna de Serra dos Carajás, o levantamento entomológico realizado atualmente na região metropolitana de Belém (FERREIRA e GORAYEB, 2009) e na área de abrangência do campus II do IEC

(SOUZA et al, 2008; LIMA et al, 2010), no município de Ananindeua proporcionou a obtenção de imagens de melhor resolução, já que possibilitaram uma coleta a fresco de espécimes provenientes de dissecções e montagens recentes em berlese.

7.1- SÉRIE *bispinosa*

Para a série *bispinosa*, caracterizada pelo macho com presença de apenas dois espinhos no dististilo, a única espécie apresentada foi *Lu. (Ps.) bispinosa*. A imagem do macho então limitou-se em mostrar, em duas micrometragens diferentes o par de espinhos distais. Devido o processo de clarificação e sucessivas lavagens do material, não foram visualizadas as cerdas foliáceas presentes no basistilo apresentadas na chave de YOUNG e DUNCAN (1994).

Quanto à espermateca, cuja característica definidora é o duto comum totalmente estriado e sem rugosidade na junção com os individuais (GALATI, 2003), devido à boa esclerotinização da estrutura e um bom e recente espécime proveniente de Serra dos Carajás, estas observações foram contempladas. O desenho que mais se assemelhou com a imagem foi de FORATTINI (1973), que apresentou o duto individual com as mesmas características da fotomicrografia, ao contrário dos outros autores. Outro aspecto que merece destaque é o arredondamento da extremidade da forquilha genital (YOUNG e DUNCAN, 1994). É importante a visualização desta estrutura nos espécimes preparados. Devido a intensa pigmentação da forquilha, é uma estrutura quase sempre visível.

O cibário, ilustrado em desenho apenas em FORATTINI (1973) também foi apresentado em fotomicrografia. Entretanto, detalhes da dentição vertical não foram visualizados, devido a má conservação do preparado. Nos limitamos ao ilustrativo, pois de acordo com a estabilidade taxonômica do grupo, esta estrutura não tem valor distintivo.

7.2- SÉRIE *squamiventris*

A taxonomia desta série constitui ainda uma problemática, exacerbada pelo grande número de espécies não dimensionais (descritas a partir de poucos espécimes coletados, habitualmente em uma única ocasião e localidade) (READY et al., 1982). Isto também se deve sobretudo pelo fato da difícil distinção morfológica entre fêmeas (FRAIHA e RYAN, 1986), ou simplesmente a necessidade de métodos moleculares/ isoenzimáticos para separação entre as mesmas (READY et al., 1991), o que nos faz pensar em novos meios de caracterização a auxiliar a taxonomia flebotomínica clássica.

Esta série é caracterizada por cibário com 4 dentes horizontais e dentes verticais em número variável de 9 a 33, dependendo da espécie (MARTINS et al., 1978). Em nossos resultados foram mostrados apenas os cibários de *Lu. (Ps.) leonidasdeanei* e *Lu. (Ps.) complexa/wellcomei*. Estas características foram perfeitamente observadas nas imagens obtidas, entretanto como não têm poder de distinção interespecífica, ficaram limitadas ao ilustrativo.

FRAIHA et al. (1986) fizeram na descrição de *Lu. (Ps.) leonidasdeanei* ilustrações de todos os parâmeros desta série em comparação à mesma, enfatizando que a identificação dos machos, cuja característica em comum é a forma do basistilo e dististilo, deve ser feita fundamentalmente com as formas destas estruturas. Em nosso trabalho foram mostrados os parâmeros de todos os membros da série *squamiventris* presente na fauna paraense com este objetivo. Em alguns casos, com em *Lu. (Ps.) complexa* o apêndice do parâmero pôde ser destacado da sua implantação, propiciando uma melhor visualização, evitando também a presença de elementos indesejados à visualização, que possivelmente desviariam a atenção do observador. Merecem atenção especial as espécies crípticas *Lu. (Ps.) squamiventris squamiventris* e *Lu. (Ps.) squamiventris maripaensis*.

Como a distinção entre as mesmas foi estabelecida também pela pigmentação do pronoto, além das características do apêndice do parâmero (READY et al., 1982), os mesmos foram apresentados pela primeira vez em cores. Acreditamos que a fotografia colorida enriqueça as informações clássicas que eram dadas apenas em forma de texto. Estruturas do tórax de flebotomíneos são reconhecidas como distintivas taxonomicamente, e a partir de estudos de GALATI (2003), novas estruturas, incorporadas como variáveis em seu estudo filogenético foram apresentadas em forma de desenho, entretanto não há disponibilização destas imagens fotomicrografadas para apreciação. Acreditamos que com o advento da fotomicrografia digital e de novas tecnologias de aquisição de imagens, estes caracteres sejam incorporados em chaves tradicionais de identificação e posteriormente em chaves fotográficas.

O corpo da espermateca na série *squamiventris* pode ter de 7 a 9 anelações imbricadas, e este corpo apresenta-se menor que os dutos individuais, que por sua vez apresentam frequentemente traços oblíquos dando a aparência de “espinha de peixe” (MARTINS et al., 1978). A este respeito, procuramos ajustar uma micrometragem do microscópio óptico que satisfizesse a visualização destas características como um todo. Entretanto a diferenciação interespecífica não foi encorajada. Quanto a isso, sabe-se que as maiores diferenças morfológicas entre as genitálias externas de machos da série, com atenção especial a *Lu. (Ps.) complexa* e *Lu. (Ps.) wellcomei* isoladamente, indicam isolamento reprodutivo para muitos taxonomistas (READY e SILVA, 1984). Deste modo, estas estruturas foram as que mereceram maior atenção e cuidado na apresentação.

7.3- SÉRIE *davisi*

Com o agrupamento na série relacionado a machos com cinco espinhos bem desenvolvidos do dististilo (MARTINS et al., 1978), apresentamos esta característica com o destaque apenas do dististilo de *Lu. (Ps.) claustreri*, pois a distinção entre as três espécies da série *davisi* baseado na posição dos espinhos basais do dististilo não deve ser considerado devido a variações ocorridas dentro de uma mesma espécie (CARVALHO et al., 2006). Entretanto o mesmo autor refere que os espinhos basais (interno e externo) são inseridos no mesmo nível *Lu. (Ps.) claustreri*, enquanto *Lu. (Ps.) davisi* e *Lu. (Ps.) amazonensis* mostram assimetria na implantação, com tendência ao espinho interno ser mais basal. Isto pode ser confirmado na apresentação dos dististilos de nosso trabalho que, embora não destacados, são perfeitamente visualizáveis nas fotomicrografias, entretanto nas ilustrações de RYAN (1986) e YOUNG e DUNCAN (1994) não foi possível esta observação, já que os espinhos apresentam-se inseridos assimetricamente em ambas as chaves, para as três espécies pertencentes a esta série.

Observações quanto ao edeago de *Lu. (Ps.) amazonensis* revelam dilatação latero-inferior, característica diferenciadora das outras espécies (FRAIHA et al., 1980; FRAIHA e WARD, 1980). Destacamos o mesmo em nossos resultados para fazer uma comparação entre os outros edeagos que não possuem características distintivas (CARVALHO et al., 2006).

Quanto à pigmentação do tórax, CARVALHO et al. (2006) relatam a seguinte tendência: escutelo, pré-escudo e pronoto pigmentado em *Lu. (Ps.) claustreri*, escutelo pálido em *Lu. (Ps.) davisi*, pré escudo e pronoto não pigmentado em *Lu. (Ps.) amazonensis*. Entretanto os autores não apresentam qualquer tipo de ilustração em seu trabalho. Apresentamos as imagens de tórax das três espécies para mostrar a constatação, mas a intensa pigmentação do pronoto em *Lu. (Ps.) davisi*, característica não observada pelos referidos

autores, decisiva em nossas identificações quando os espécimes ainda em lupa entomológica. Ao comparar as imagens fica evidente que as pigmentações são realmente diferentes e podem ser levadas em conta na distinção entre as espécies da série.

Quanto à característica das espermatecas, *Lu. (Ps.) davisi* apresenta no início da rugosidade do duto comum, intensa quitinização, ausente nas outras espécies da série, além de seu longo comprimento, cuja proporção é a mesma para o filamento ejaculador do macho (FRAIHA & WARD, 1980). Já a distinção entre *Lu. (Ps.) claustreri* e *Lu. (Ps.) amazonensis* pode ser realizada pela contagem das anelações da espermateca, aproximadamente 8 na primeira espécie e 10 na segunda (CARVALHO et al., 2006; LE PONT e PAJOT, 1980), estas características, em bora claramente evidenciadas em fotomicrografia, sofrem variações intraespecíficas que não garantem segurança na distinção.

Como estas sutis características podem ainda surtir dúvida, apresentamos os cibários das espécies, chamando atenção à disposição dos dentes verticais, mesmo que variações intraespecíficas ainda sejam possíveis. *Lu. (Ps.) amazonensis* os apresenta de forma uniforme distribuídos transversalmente, enquanto os outros dois apresentam distribuição longitudinal. Como já mencionado, o ajuste pela micrometragem do microscópio óptico é fator crucial na identificação de detalhes distribuídos em diversos planos. O uso de platina motorizada e controle multifoco resolveria em parte esse problema, entretanto necessitaria de muito mais tempo para ser concluído, além de onerar o projeto, pois exigiria equipamento e pessoal especializado para manipulação.

7.4- SÉRIE *guyanensis*

De 5 espécies da série, 3 foram mostradas em nossos resultados. Como *Lu. (Ps.) lainsoni* foi descrito por pesquisadores do Pará (FRAIHA e WARD, 1974), pudemos apresentar imagens de sítipos disponíveis na coleção ainda em bom estado de conservação. O parâmero destacado do resto da genitália conferiu a visualização com bastante detalhe, entretanto pelas características peculiares da armadura dorsal, a identificação do macho não necessita de uma observação tão criteriosa. Mesmo assim, como na chave de YOUNG e DUNCAN (1994) é feita referência às finas cerdas presentes na extremidade da armadura dorsal, procuramos apresentá-las. Um aspecto que nos chamou atenção quando comparadas as fotomicrografias com as imagens das chaves, é que as últimas não nos dão a idéia de transparência desta armadura dorsal em relação às outras estruturas, como a própria base do parâmero.

Nesta série, as espécies mais semelhantes na fauna paraense são, sem dúvida, *Lu. (Ps.) geniculata* e *Lu. (Ps.) corossoniensis*. Ambas possuem gonapófise superior (baistilo e dististilo) muito longa, uma cerda espinhosa robusta na porção distal, seguida de 3 menores na porção mais proximal, sendo 1 no bordo inferior e 2 no bordo superior. Entretanto o parâmero é peça chave na distinção. Em *Lu. (Ps.) corossoniensis* é suavemente arqueado para cima, e seu ápice ligeiramente alargado, enquanto em *Lu. (Ps.) geniculata* sua porção distal é sinuosamente curvado para a parte dorsal (para cima), com ápice arredondado (YOUNG e DUNCAN, 1994). Apresentamos estas imagens comparadas aos desenhos das chaves e, assim como em *Lu. (Ps.) lainsoni*, o aspecto hialino do parâmero de *Lu. (Ps.) geniculata* em relação ao aspecto de *Lu. (Ps.) corossoniensis*, cuja coloração é igual às outras gonapófises, não é observado nas ilustrações das chaves. Na distinção das fêmeas, foram apresentadas as imagens apenas das espermatecas, pois com pouco material para analisar, não foi possível a apresentação de outros caracteres. Embora RYAN (1986) apresente as imagens das duas

espécies, afirma que também não dispôs de material suficiente para distinção. Entretanto, no em nosso laboratório (IEC), alguns técnicos, pela experiência de campo afirmam que na ausência de machos no ecótopo para facilitar a identificação, pode-se atribuir o estreitamento do duto comum mais distal à *Lu.(Ps.) geniculata* e mais proximal à *Lu. (Ps.) corossoniensis* como inferência interespecífica.

7.5- SÉRIE *panamensis*

Dos 12 membros da série, apresentamos 4 representantes da fauna do Pará. As fêmeas apresentam cibário com 4 dentes horizontais, algumas vezes em linha reta, outras convergentes, dentes verticais alinhados em duas filas longitudinais, estas duas últimas características podem ser observadas na apresentação da imagem do cibário de *Lu. (Ps.) ayrozai* que foram apresentados. Também são característicos da série, dististilo com três espinhos robustos e um atrofiado, parâmero inerme, mas apresentando lobo basal com cerdas diversos aspectos e apêndice digitiforme (MARTINS et al., 1978).

Na imagem apresentada de macho de *Lu. (Ps.) hirsuta*. O lobo basal apresenta uma fileira de cerdas longas inseridas na extremidade distal (MANGABEIRA FILHO, 1942) e isto já é suficiente para caracterizá-lo, já que *Lu. (Ps.) nicaraguensis*, espécie que possui estrutura semelhante, não é nosso objeto de estudo. Na caracterização da fêmea, o nítido estreitamento da porção distal do duto comum foi evidenciado. Nos limitamos à apresentação somente da espermateca e tórax, pois não há dificuldade de distinção entre as outras espécies do Pará, e os caracteres apresentados na mesma são satisfatórios. Como na chave de YOUNG e DUNCAN (1994), o duto comum é apresentado hialino no terço basal ao referido estreitamento, foi completamente observado na fotomicrografia.

Para *Lu. (Ps.) ayrozai*, a característica do parâmero com cerdas pequenas e convergentes contrastam com a espécie mais similar da série, *Lu. (Ps.) paraensis*, cuja estrutura é dotada de longas cerdas, de aspecto divergente (MARTINS et al., 1978). CARVALHO et al. (2006) ainda esclarecem que a presença de uma linha pigmentada na base do parâmero deste último, de onde emergem cerca de 3 cerdas espiniformes paralelas ao mesmo é característica de *Lu. (Ps.) paraensis*. Entretanto a justaposição, e em algumas situações a sobreposição do edeago nestas estruturas pode comprometer a visualização. Os mesmos autores afirmam que na distinção das fêmeas, o “V” invertido no terço distal do duto comum de *Lu. (Ps.) paraensis* o diferencia de *Lu. (Ps.) ayrozai*, mesmo que seja uma característica presente também em *Lu. (Ps.) carrerai*. Em nossas imagens não pudemos perceber esta característica em *Lu. (Ps.) paraensis*, fato também observado na chave de YOUNG e DUNCAN (1994), a qual não apresenta o “V” invertido para esta espécie. Já em *Lu. (Ps.) carrerai*, o “V” invertido é extremamente evidente nas nossas fotomicrografias, observação confirmada nas chaves de RYAN (1986) e YOUNG e DUNCAN (1994). Chamamos atenção quanto a pigmentação do tórax que pode ser distintiva na série. Em *Lu. (Ps.) hirsuta* todas as coxas apresentam coloração palha, em *Lu. (Ps.) ayrozai*, a primeira coxa apresenta coloração escura e as outras mais claras, *Lu. (Ps.) paraensis* possui aspecto bem peculiar: mesonoto, primeiro urotergito, coxa e pleura de coloração marrom escuro, contrastando com o resto do corpo (COSTA LIMA, 1941). Apresentamos a fotomicrografia apenas deste último, no entanto, acreditamos que com os caracteres apresentados nas imagens seja possível uma distinção segura entre as espécies de *panamensis* no Pará.

7.6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em todas as espécies fizemos uma comparação entre as imagens fotomicrografadas e ilustrações tradicionais e deste modo pudemos perceber que a técnica nos traz uma reprodução fidedigna da lâmina do espécime que não está sujeita à subjetividade da interpretação, podendo acrescentar detalhes não percebidos durante o desenho em câmara clara. Ao analisar as imagens da série *panamensis* ficou claro que os desenhos, dependendo do autor, nos trazem diferenças para a mesma espécie.

Outro aspecto que emergiu durante nossa discussão foi a possibilidade de um diagnóstico taxonômico facilitado pela fotomicrografia digital. Um profissional em campo com dúvidas na caracterização de determinada(s) espécie(s) capturaria imagens dos flebotomíneos montados e, dependendo da necessidade, traria para o laboratório para maiores esclarecimentos, ou simplesmente enviaria a taxonomistas mais experientes. Em preparações a fresco, provenientes de dissecções investigatórias de infecções com *Leishmania*, em que o berlese não pode ser utilizado, estruturas como espermatecas podem ser fotografadas para posterior análise.

Ao realizar nosso trabalho, percebemos que a técnica é útil em situações em que não se pode voltar atrás na montagem. Quando se prepara um espécime, muitas vezes o entomologista não se contenta com a posição em que o flebotomíneo se dispôs e na tentativa de modificar, acaba inutilizando o material. A sugestão é que seja realizada uma captura fotográfica durante estas tentativas de manipulação para que não se perca imagens importantes para a caracterização.

Sugerimos um manual ilustrado com fotomicrografias de alta resolução em versão digital e outra impressa, pois nem todos os laboratórios possuem computador disponível na bancada, nos laboratórios, bibliotecas e para o público de interesse na área (estudantes e

profissionais da entomologia médica e estudiosos em leishmanioses) que possa auxiliar durante a identificação, de forma mais rápida e precisa, visto que existem atualmente poucos profissionais capacitados para tal.

8- CONCLUSÕES

Concluimos que:

- Métodos de montagem e preservação de flebotomíneos, como o berlese tem durabilidade efêmera em relação à fotomicrografia digital;
- A fotomicrografia digital pode ser útil no registro de material coletado em campo, como espécimes a fresco, mesmo que por sistema de captura amador/convencional em situações em que este material não esteja viável até o laboratório;
- As principais vantagens da fotomicrografia digital observadas foram: a qualidade das imagens, a durabilidade, fidedignidade e praticidade com dados digitais;
- A principal limitação da fotomicrografia é a profundidade de foco, mesmo com ferramentas disponíveis para correção, como a platina motorizada, softwares que superpõem imagens em diferentes focos;
- É possível produzir um atlas fotográfico contendo imagens fotomicrografadas em versão digital e impressa dos flebotomíneos do Pará;
- É possível realizar revisões taxonômicas a partir de fotomicrografias a fim de esclarecer dúvidas na taxonomia de *Psychodopygus*.

REFERÊNCIAS

ADLER, S.; MAYRINK, W. Sobre uma gregarina, *Monocystis chagasi* n. sp., de *Phlebotomus longipalpis*. Notas sobre as glândulas acessórias de *P. longipalpis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.3, p.230-238, 1961.

ADLER, S.; THEODOR, O. Transmission of disease agents by Phlebotominae sand flies. **Annual Review of Entomology**, v.2, p.203-226, 1957.

AGUIAR, G.M.; MEDEIROS, W.M. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In: RANGEL, E.F & LAINSON, R. (orgs.), **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro, Fiocruz, 2003, cap.3, p.207-256.

ALMEIDA VITOR, R.W. Protozoa. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

ANDRADE FILHO, J.D.; BRAZIL, R.P. Relationships of New World Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) Based on Fossil Evidence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.1, p.145-149, 2003.

ANDRADE FILHO, J.D.; BRAZIL, R.P.; FALCÃO, A.L.; GALATI, E.A.B. Description of *Pintomyia (Pifanomyia) paleotrichia*, a Miocene period new species from the Dominican Republic (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n.8, p.901-903, 2007.

ANDRADE FILHO, J.D.; GALATI, E.A.B.; FALCÃO, A.L. Redescription of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.8, p.1059-1065, 2003.

ANDRADE FILHO, J.D.; GALATI, E.A.B.; FALCÃO, A.L.; BRAZIL, R.P. Description of *Micropygomyia brandaoi* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a fossil phlebotomine from the Dominican Republic. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.103, n.4, p. 344-346, 2008.

ANDRADE FILHO, J.D.; SERRA E MEIRA, P.C.L.; SANGUINETTE, C.C.; BRAZIL, R.P. Description of a new species, *Pintomyia dissimilis* nov. sp., a phlebotomine fossil from

Dominican Republic amber (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Parasites & Vectors**, v.2, n.25, p.1-4, 2009.

ARIAS, J.R.; MILES, M.A.; NAIFF, R.D.; PÓVOA, M.M.; DE FREITAS, R.A.; BIANCARDI, C.B.; CASTELLÓN, E.G. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae) isolation *in vitro* and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.34, p.1098-1108, 1985.

ARIAS, J.R.; FREITAS, R.A. On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the Central Amazon of Brazil. 3. Phlebotomine sand fly stratification in a *terra firme* forest. **Acta Amazonica**, v.12, p.599-603, 1982.

BARRETTO, M.P. Morfologia dos ovos, larvas e pupas de alguns flebótomos de São Paulo. **Anais da de Medicina da Universidade de São Paulo**, v.17, p.357-427, 1941.

BAUZER, L.G.S.R.; SOUZA, N.A.; MAINGON, R.D.C.; PEIXOTO, A.A. *Lutzomyia longipalpis* in Brazil: a complex or a single species? A mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.102, n.1, p.1-12, 2007.

BRAZIL, R.P.; ANDRADE FILHO, J.D. Description of *Pintomyia (Pifanomyia) falcaorum* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a fossil sand fly from Dominican amber. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.97, n.4,p.501-503, 2002.

BRAZIL, R.P.; RYAN, L. Nota sobre a infecção de *Lutzomyia evandroi* (Diptera: Psychodidae) por *Ascocystis chagasi* (Alder e Mayrink, 1961) no estado do Maranhão. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.79, p.375-376, 1984.

CANNING, E.U. New concepts of microsporida and their potential in biological control. In: FALLIS, A.M. (Ed.), **Parasites Their World and Ours: Proceedings of the 18th Symposium of the Royal Society of Canada**, p.101–140, 1977.

CANNING, E.U.; KILLICK-KENDRICK, R.; KILLICK-KENDRICK, M. A new microsporidian parasite, *Flabelliforma montana* n. g., n. sp., infecting *Phlebotomus ariasi* (Diptera:Psychodidae) in France. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.57, p. 71-81, 1991.

CARVALHO, G.M.L. FALCÃO, A.L.; ANDRADE FILHO, J.D. Taxonomic revision of phlebotomine sand fly species in the series *davisi* and *panamensis* of the subgenus *Psychodopygus* Mangabeira, 1941 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101,n.2, p.129-136, 2006.

CAUSEY, O.R.; DAMASCENO, R.G. Estudo sobre *Flebotomus* no vale amazônico. Parte II. Descrição de *F. dunhami*, *F. melloi* e *F. wagleyi* - Diptera: Psychodidae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.42, n.1, p.17-29, 1945.

CERQUEIRA, N.L. Um novo meio para montagem de lâminas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.39.n.1, p.37-41, 1943.

CHANIOTIS, B.N.; ANDERSON, J.R. Age structure population dynamics and vector potential of *Phlebotomus* in Northern California. Part II. Field Populations Dynamics and Natural Flagellate Infections. **Journal of Medical Entomological**, v.5, p.273-292, 1968.

CHAPMAN, R.F. **The insects: Structure and Function**. 4.ed. Cambridge: Cambridge University, 1998, p.38-68.

CIPA GROUP - BERMUDEZ, H.; DEDET, J.P.; FALCÃO, A.L.; FELICIANGELI, D.; RANGEL, E.F.; FERRO, C.; GALATI, E.A.B.; GOMEZ, E.L.; HERRERO, M.V.; HERVAS, D.; LEBRE, J.; MORALES, A.; OGUSUKU, E.; PEREZ, E.; SHERLOCK, I.; TORREZ, M.; VIGNES, R.; WOLFF, M. Proposition of a standard description for Phlebotomine sandflies. **Parasitologia**, v.33, p.127-135, 1991.

CIPA GROUP - BERMUDEZ, H.; DEDET, J.P.; FALCÃO, A.L.; FELICIANGELI, D.; RANGEL, E.F.; FERRO, C.; GALATI, E.A.B.; GOMEZ, E.L.; HERRERO, M.V.; HERVAS, D.; LEBRE, J.; MORALES, A.; OGUSUKU, E.; PEREZ, E.; SHERLOCK, I.; TORREZ, M.; VIGNES, R.; WOLFF, M. A programme for computer aided identification of phlebotomine sandflies of the Americas (CIPA) – Presentation of check-list of american species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.88, n.2, p.221-230, 1993.

COSTA, S.M. **Estudos de algumas populações brasileiras de *Lutzomyia withmani* s. l. (Díptera: Psychodidae: Phlebotominae), importante transmissor de agentes da leishmaniose tegumentar americana**. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Minas Gerais : UFV, 2005, 72f.

COSTA LIMA, A. Um novo *Flebotomus* da Amazônia e considerações relativas as espécies afins (Diptera- Psychodidae). **Acta Medica**, n.7, p.3-19, 1941.

DAMASCENO, R.G.; CAUSEY, O.R. Estudo sobre Flebotomus no vale amazônico. Parte I. Descrição de *F. marajoensis*, *F. pilosus*, *F. souzacaastroi* e *F. christophersoni* – Diptera: Psychodidae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.1, p.179-198, 1944.

DISNEY, R.H.L.A. A trap for Phlebotominae sandflies attracted to rats. **Bulletin of Entomological Research**, v.56 p.445-451, 1966.

DUJARDIN, J.P.; LE PONT, F. Morphometrics of a neotropical sandfly species, *Lutzomyia carrerai thula*. **C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/ Life Sciences**.v.323,n.3, p.273-279, 2000.

FALCÃO, A.R. Um novo modelo de armadilha luminosa de sucção para pequenos insetos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.76, p.303-305, 1981.

FERREIRA, J.V.S.; GORAYEB, I.S. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em fragmentos florestais de Belém, Pará. **Resumos do XXVIII congresso Brasileiro de Zoologia**. Belém – Pará, p.784, 2010.

FORATTINI, O. **Entomologia médica. Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose**. São Paulo: Edgar Blücher e Editora da Universidade de São Paulo, 658p., 1973.

FRAIHA, H.; RYAN, L. **Taxonomia de flebotomíneos**. Instituto Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. Belém. Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986, v.1.

FRAIHA, H.; RYAN.; WARD.; LAINSON, R.; SHAW, J. *Psychodopygus leonidasdeanei* a new species of sand fly (Diptera: Psychodidae) from Pará state, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**.v.81,n.3,p.333-339, 1986.

FRAIHA, H.; SHAW, J.J.; LAINSON, R. Phlebotominae Brasileiros. II: *Psychodopygus wellcomei*, nova espécie antropófila de flebotótomo do grupo *squamiventris*, do sul do Estado do Pará, Brasil (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.69, p.489-500, 1971.

FRAIHA, H.; WARD, R.D. A new species of *Psychodopygus* Mangabeira (Diptera, Phlebotominae) from the Transamazônica highway, Pará state, Brazil. **Bulletin of Entomological Research**. v.64, p.209-212, 1974.

FRAIHA, H.; WARD, R.D. Caracterização do macho de *Psychodopygus amazonensis* (Root, 1934) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista da FSESP**, n.15, p.15-19, 1980.

FRAIHA, H.; WARD, R.D.; QUINTANA, J. Taxonomia de *Psychodopygus amazonensis* (Root, 1934) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista da FSESP**, n.15, p.5-9, 1980.

FRANÇA, C. Observations sur le genre *Phlebotomus*. **Brotéria.Série Zoológica**, v.17, p.102-160, 1919.

GALATI, E.A.B. Phylogenetic systematics of the Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. (*II Intern. Symp. Phlebotomine Sandflies*). **Boletín/ Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental**, v.35,supl.1, p.133-142, 1995.

GALATI, E.A.B. Morfologia e Taxonomia. Classificação de Phlebotominae. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R., (orgs.) **Flebotomíneos do Brasil**. 1.ed. Rio de Janeiro: Fiocruz: p.23-51, 2003.^a

GALATI, E.A.B. Morfologia e Taxonomia: Morfologia, Terminologia de Adultos e Identificação dos Táxons da América. In: RANGEL, E. F. & LAINSON, R., (orgs.) **Flebotomíneos do Brasil**. 1.ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, p.53-175, 2003.^b

GALATI, E.A.B.; ANDRADE FILHO, J.D.; SILVA, A.C.L.; FALCÃO, A.L. Description of a new genus and new species of New World Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.47,n.1, p.63-70, 2003.

HARLAND, W.B.; COX, A.V.; LLEWELLYN, P.G.; PICKTON C.A.G.; SMITH, A.G.; WALTERS, R. **A Geologic Time Scale**. Cambridge: Cambridge University, 1982.

ISHIKAWA, E.A.Y.; READY, P.; SOUZA, A.A.A.; DAY, J.C.; RANGEL, E.F.; DAVIES, C.R.; SHAW, J.J. A mitochondrial DNA phylogeny indicates close relationships between populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from the rain-forest regions of Amazonia and Northeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, n.3, p.339-345, 1999.

JOBLING, B. Anatomical Drawings of Biting Flies. British Museum (Natural History) London, in association with the Wellcome Trust. London, United Kingdom: p.17-46, 1987.

LAINSON, R. *Leishmania* e Leishmaniose, com particular referência à Região Amazônica do Brasil. **Revista Paraense de Medicina**, v.11, p.29-40, 1997.

LAINSON, R.; KILLICK-KENDRICK, R.; CANNING, E.U.; SHAW, J.J., WARD, R.D.; LEANEY, A.J., NICHOLAS, J.P. Microsporidia of Brazilian sandflies. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, n.71, p.381, 1977.

LAINSON, R.; RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of american visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.100, n.8, p.811-827, 2005.

LAINSON, R. READY, P.D., SHAW, J.J. *Leishmania* in phlebotomid sandflies.VII. On the taxonomic status of *Leishmania peruviana*, causative agent of peruvian “uta”, as indicated by this development in the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Proceedings of the Royal Society of London Series B. Biological Science**. n.6.v.1164, p.307-318, 1979.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In: LUMSDEN, W.H.R.; EVANS, D.A. (Eds.). **Biology of Kinetoplastida**, v.2. London: Academic Press, 1979, 116p.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W. & KILLICK-KENDRICK, R. (eds). **The leishmaniasis in Biology and Medicine**. London: Academic, n.1, p.1-120, 1987.

LAINSON, R.; SHAW, J.J.; SILVEIRA, F.T.; SOUZA, A.A.A.; BRAGA, R.R.; ISHIKAWA, E.A.Y. The dermal leishmaniasis of Brazil, with special reference to the ecoepidemiology of disease in Amazonia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.89, n.3, p.435-443,1994.

LANE, R.P. Geographic variation in Old World phlebotomine sandflies. In M.W. Service (ed.) **Biosystematics of Haematophagous insects**. Oxford, 1988. 363p, p.77-90.

LANGERON, M. **Précis de Microscopie**. Paris: Masson et Cie, Libraires de L'Académie de Medicine, Saint-Germain, 1949.

LE PONT, F.; PAJOT, F.X. Description de la femelle de *Lutzomyia clautrei* Abonnenc, Léger et Fauran, 1979) (Diptera, Psychodidae). **Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasit**, v.18, p.61-65, 1980.

LEWIS, D.J.; LAINSON,R.; SHAW,J.J. Determination of parous rates in phlebotomine sandflies, with special reference to Amazon species. **Bulletin of Entomological Research**, v.60, p.209-219, 1970.

LEWIS, D. J.; YOUNG D. G.; FAIRCHILD, G. B. & MINTER, D. M. Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae).**Systematics Entomology**. V.2, p.319-332, 1977.

LIMA, J.A.N.; BRANDÃO, R.F.; BARATA, I.R.; SANTOS, T.V.; SILVA, F.M.M.; SOUZA, A.A.A. Avaliação epidemiológica da fauna flebotomínica (Diptera: Psychodidae) na área de abrangência do campus II do Instituto Evandro Chagas, ananindeua, estado do Pará, Brasil. **XV Congresso Médico Amazônico**. Saúde Pública: desafios amazônicos. Belém-PA, 2010.

LUNZ, A.M. (Pesquisador reponsável). **Digitalização da Coleção Entomológica da Embrapa Amazônia Oriental (CPATU), Brasil**. Proposta de projeto para rede interamericana de informação sobre a biodiversidade. Rede temática de espécies e espécimes da IABIN (SSTN), 2008.

MACHADO, A.W.; OLIVEIRA, D.D.; LEITE, E.B.; LANA, A.M.Q. Fotografia digital x analógica: a diferença é perceptível? **Revista Dental Press de Ortodontologia e Ortopedia Facial**,v.10, n.4, p.115-123, 2005.

MANGABEIRA FILHO, O. 4ª contribuição ao estudo dos flebotomus. *Psychodopygus* n. subg. (Díptera:Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**,v.36,n.3, p.237-250, 1941.

MANGABEIRA FILHO, O. 7ª contribuição ao estudo dos flebotomus. Descrição dos machos de 24 novas espécies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.37, n.2, p.111-218, 1942.

MARCONDES, C.B.; FALQUETO, A.; LOZOVEI, A.L. Influence of preparation methods on the dimension of *Lutzomyia intermedia* (Lutz e Neiva,1912) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**.v.93, n.2, p.201-202, 1998.

MARCONDES, C.B.; LOZOVEI, A.L.; GALATI, E.A.B. Variações regionais e interespecíficas na morfologia de insetos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Revista de Saúde Pública**, v.32, n.6, p.519-525, 1998.

MARCONDES, C.B. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. **Entomological news**, v.118, n.4, p.351-356, 2007.

MARTINS, A.V.; WILLIAMS, P.; FALCÃO, A.L. **American Sand Flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro, 1978, 195p.

MATOS, E.; MENDONÇA, I.; AZEVEDO, C. *Vavraia lutzomyiae* n. sp. (Phylum Microspora) infecting the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Psychodidae, Phlebotominae), a vector of human visceral leishmaniasis **European Journal of Protistology**, v.42, p. 21-28, 2006.

McALPINE, J.F. Morphology and terminology – adults. In: MCALPINE, J.F.; PETERSON, B.V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H.J.; VOCKEROTH, J.R. & WOOD, D.M. (Eds). . **Manual of Nearctic Diptera**. Canada: Research Branch Agric (Monograph 27): p.9-63, 1981.

MEUNIER, F. Monographie des Psychodidae de l'ambre de la Baltique. **Naturalists** v.28: p.103-104, 1905.

MILES, M.A., WARD, R.D. Preliminary isoenzyme studies on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.72, p.398-399, 1978.

MIOT, H.A.; PAIXÃO, M.P.; PASCHOAL, F.M. Fundamentos da fotografia digital em Dermatologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.81, n.2, p.174-180, 2006.

NAIFF, R.D.; BARRET, T.V.; FREITAS, R.A. Isolation of *Trypanosoma freitasi* (Kinetoplastida: Trypanosomadidae) from *Psychodopygus clautrei* (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**.v.84, p. 273-275, 1989.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y.N.; MORAES, J.L.P.; LOROSA, E.S.; REBÊLO, J.M.M. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24,n.9, p.2183-2186, 2008.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Leishmaniasis**. Acesso em 20/04/2006. Disponível em <http://www.who.int/leishmaniasis>.

PUGEDO, H.; BARATA, R.A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C.; DIAS, E.S. Um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.1, p.70-72, 2005.

QUATE, L.W. A review of the Indo-Chinese Phlebotomine (Diptera- Psychodidae). **Pacific Insects**. v.4, p.251-267, 1962

QUATE, L.W. Fossil Psychodidae in Mexican amber, part 2. Diptera: Insecta. **Journal of Paleontology**, v.37, p.110-118, 1963.

RANGEL, E.F.; LAINSON, R. Ecologia das Leishmanioses. Transmissores de Leishmaniose Tegumentar Americana. In RANGEL, E.F. & LAINSON.R. (orgs.), **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro, Fiocruz, cap.6: p.291-305, 2003.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n.7, p.937-954, 2009.

RANGEL, E.F.; LAINSON, R.; SOUZA, A.A.A.; READY, P.; AZEVEDO, A.C.R. Variation between geographical populations of *Lutzomyia (Nyssomyia) withmani* (Antunes & Coutinho, 1939) sensu lato (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, p.43-50, 1996.

READY, P. D. ; FRAIHA, H. ; LAINSON, R. ; SHAW, J. J. *Psychodopygus* as a genus: reasons for a flexible classification of the phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.17, p.75-88, 1980.

READY, P.; FRAIHA, H.;LANE, R.P.; ARIAS, J.R.; PAJOT, F.X. On distinguish the female of *Psychodopygus wellcomei*, a vector of mucocutaneous leishmaniasis, from other *squamiventris* series females. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**. v.76, n.2, p.201-214, 1982.

READY, P.; SILVA, R.M.R. An alloenzymic comparison of *Psychodopygus wellcomei*- an incriminated vector of *Leishmania braziliensis* in Pará State, Brazil- and the sympatric

morphospecies *Ps. complexus* (Diptera: Psychodidae). **Ent. Méd. et Parasitol.**v.21, n.1, p.3-8, 1984.

READY, P.D.; SOUZA, A.A.A.; REBÊLO, J.M.M.; DAY, J.C.; SILVEIRA, F.T.; CAMPBELL-LENDUM, D.; DAVIES, C.R.; COSTA, J.M.L.; Phylogenetic species and domesticity of *Lutzomia whitmani* at the south-east boundary of Amazonian Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v.87, p.187-195, 1998.

READY, P.D.; LAINSON, R.; SHAW, J.J. Habitat and seasonality of *Psychodopygus wellcomei* help incriminate it as a vector of *Leishmania braziliensis* in Amazonian and Northeast Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**.v.78, n.4, p.543-544, 1984.

READY, P.D., LAINSON, R., SHAW, J.J., SOUZA, A.A.A DNA probes for distinguishing *Psychodopygus complexus* (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** v.86.n.1, p. 41-49, 1991.

RYAN, L. **Flebótomos do estado do Pará**. Documento Técnico .n.1. Belém,1986.

RYAN, L.; LAINSON, R.; SHAW, J.J. Leishmaniasis in Brazil.XXIV. Natural flagellate infections of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Pará State, with particular reference to the role of *Psychodopygus Wellcomei* as the vector of *Leishmania braziliensis* in the Serra dos Carajás. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.81, p.353-359, 1987.

SCHULTZ, M.G. A history of bartonellosis (Carrion's disease). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**,v.17, p.503-515, 1968.

SEGURA, M.N.O.; CASTRO, F.C. **Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira. Características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae**. Belém: Instituto Evandro Chagas, 77p, 2007.

SHERLOCK, I.; PESSÔA, S.B. *Leptomonas* infectando naturalmente *Phlebotomus* em Salvador (Bahia: Brasil). **Revista Latino Americana de Microbiologia**.v.8, p.47-50, 1966.

SHIMABUKURO, P.H.F. **Chave de identificação ilustrada e interativa dos Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) do estado de São Paulo**. Tese apresentada a São

Paulo (Estado). Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Programa de Pós Graduação em Ciências para obtenção do grau de Doutor. São Paulo, 2007, 121 p.

SILVEIRA, F.T.; ISHIKAWA, E.A.Y.; SOUZA, A.A.A.; LAINSON, R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. **Parasite**. v. 9, p. 43–50, 2002.

SINGH, N.S.; SINGH, D.P.; IPE, I.M.; A review on the collection, preservation an systematic techniques in Phlebotominae. **Pakistan Journal of Biological Sciences**.n.10, v.22, p.3983-3991, 2007.

SIQUEIRA, A.M. Subfilo Mastigophora. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**.10.ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

SHANNON, R.C. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. V.19, p.131-148, 1939.

SHAW, J.J.; LAINSON, R.; WARD, R.D. Leishmaniasis in Brazil: VII. Further observations on the feeding habitats of *Lutzomyia flaviscutellata* (Mangabeira) with particular reference to its biting habits at different heights. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**,v.66, p.718-723, 1972.

SHAW, J.; ROSA, A.T.; SOUZA, A. CRUZ, A.C. Transmissão de outros agentes. Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In RANGEL, E.F. & LAINSON.R. (orgs.), **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro, Fiocruz, cap.7, p.337-351, 2003.

SHAW, J. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101.n.5, p.577-579, 2006.

SOLÓRZANO KRAEMER, M. & WAGNER, R. The first psychodid (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) species from the Lower Eocene amber of Vastan, Gujarat, India **Zootaxa** 2152, p.63–68, 2009.

SOUZA, A. A. A.; SILVEIRA, F. T.; BARATA, I. R.; SILVA, M. G. S.; LIMA, J. A. N.; PINHEIRO, M. S.; BENSABATH, G.; VASCONCELOS, L. S.; SILVA, S. M.; ISHIKAWA, E. A. Y.; CAMPOS, M. B. Estudo da fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na área de influência do Projeto Salobo da Serra dos Carajás, Estado do Pará [Resumo]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**; 40(supl.1), p.109-109, 2007.

SOUZA, A.A.A.; SILVEIRA, F.T.; LAINSON, R.; BARATA, I.R.; SILVA, M.G.S.; LIMA, J.A.N.; PINHEIRO, M.S.B.; SILVA, F.M.M.; VASCONCELOS, L.S.; CAMPOS, M.B.; ISHIKAWA, E.A.Y. Fauna flebotomínica da Serra dos Carajás, Estado do Pará, Brasil, e sua implicação na transmissão da leishmaniose tegumentar americana. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**.v.1, n.1, p.45-51, 2010.

SOUZA, A.A.A.; SILVEIRA, F.T.; SILVA, F.M.M.; SILVA, L.A.; LEÃO, E.F.; BARATA, I.R.; LIMA, J.A.N.; PINHEIRO, M.S.B.; SILVA, M.G.S.; SANTOS, T.V. Flebotomíneos capturados e identificados no campus II do Instituto Evandro Chagas – Ananindeua –estado do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**,v. 41, supl.1, p.441, 2008.

TESH, R.B.; CHANIOTIS, B.N.; PERALTA, P.H.; JOHNSON, K.M. Ecology of viruses isolated from Panamanian phlebotomine sandflies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.23, p.258-269, 1974.

VILELA, M.L.; RANGEL, E.F.; LAINSON, R. In: LAINSON, R., RANGEL, E. (orgs.) **Flebotomíneos do Brasil** 1.ed. Fiocruz: Rio de Janeiro, p.353-367 , 2003.

VOTÝPKA, J.; LANTOVÁ, L.; GHOSH, K.; BRAIG, H.; VOLF, P. Molecular characterization of Gregarines from sand-flies (Diptera: Psychodidae) and description of *Psychodiella* n.g. (Apicomplexa: Gregarinida). **Journal of Eukariotic Microbiology**. v.56, n.6, p. 583-588, 2009.

WARD, R.D. New World leishmaniasis: a review of the epidemiological changes in the last three decades. **Proc XV Intl Congr Entomol WASHINGTON**. p.505-522, 1977.

WARD, R.D.; KILLICK-KENDRICK, R. Field and laboratory observations on *Psychodopygus lainsoni* Fraiha & Ward and other sandflies (Diptera, Phlebotomidae) from the Transamazonica highway, Pará State, Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v.64, p.213–221, 1974.

WILLIAMS, P. Phlebotomine sandflies and leishmaniasis in British Honduras. **Transactions of the Royal Society of Tropical medicine and Hygiene**, v.64, p.317-368, 1970.

WILLIAMS, P. Psychodidae. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**.10.ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Arboviruses and Human disease. Report of a WHO scientific group. **World Health Organ. Tech Rep Ser**, v.369, p.1-84, 1967.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Leishmaniasis. The disease and its epidemiology. Acesso em: 17/01/09. Disponível em: http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/

YOUNG, D.G., LAWYER, P.G. New World vectors of the Leishmaniasis. In: HARRIS, K.F. **Current Tropics in Vector Research**, 1, Springer Verlag, New York, p.29-37, 1987.

YOUNG D.G.; DUNCAN M.A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, v.54, 881p, 1994.

APÊNDICE

I - Goma de berlese

Hidrato de cloral - 20g

Goma arábica - 12g

Água destilada - 10ml

Xarope de glicose (Solução saturada de água com açúcar) - 5ml

Ácido acético cristalizável - 5ml

II - Solução salina

NaCl - 900mg

Água destilada - 100ml

III - Solução de sabão neutro

Sabão neutro puro - 4 gotas

Solução salina - 5 ml

IV - Álcool 70%

Etanol absoluto - 70ml

Água destilada - 30ml