

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
ANIMAL

DISSERTAÇÃO

Estudos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais
em cinco espécies do gênero *Triatoma* Laporte, 1832
(HEMIPTERA:REDUVIIDAE:TRIATOMINAE)
incluindo a biologia de *Triatoma carcavalloi*.

Margareth Alves Ribeiro Cardozo de Almeida

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**ESTUDOS MORFOBIOLÓGICOS, MORFOMÉTRICOS E
ULTRAESTRUTURAIS EM CINCO ESPÉCIES DO
GÊNERO *TRITOMA* LAPORTE, 1832
(HEMIPTERA:REDUVIIDAE:TRITOMINAE) INCLUINDO A
BIOLOGIA DE *TRITOMA CARCAVALLOI*.**

MARGARETH ALVES RIBEIRO CARDOZO DE ALMEIDA

Sob a Orientação da Doutora
Jacenir Reis dos Santos Mallet

e Co-orientação da Doutora
Nadja Lima Pinheiro

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências**, no
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Animal

Seropédica, RJ
Março de 2007

595.752
A447e
T

Almeida, Margareth Alves Ribeiro Cardozo
de, 1970-

Estudos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais em cinco espécies do gênero *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera : Reduviidae: triatominae) incluindo a biologia de *Triatoma caravallói* / Margareth Alves Ribeiro Cardozo de Almeida. - 2007.
102f. : il.

Orientador; Jacenir Reis dos Santos Mallet.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia.

Bibliografia; f. 37-49.

1. *Triatoma* - Teses. 2. *Triatoma* - Morfologia - Teses. 3. Chagas, Doença de - Teses. I. Mallet, Jacenir Reis dos Santos, 1958- . II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

MARGARETH ALVES RIBEIRO CARDOZO DE ALMEIDA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Biologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/03/2007

Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet – FIOCRUZ/RJ
(Orientadora)

Dra. Nadja Lima Pinheiro – UFRRJ
(Co-orientadora)

Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves – FIOCRUZ/RJ

Dra. Jane Costa – FIOCRUZ/RJ

Dr. Gonzalo Efrain Moya Borja – UFRRJ

*À Deus pela luz de tudo.
À minha amada mãe Georgette Alves Ribeiro,
por ser a mãe mais dedicada do mundo,
por tudo que sempre fez por mim e para mim
e por tudo que sou.
Ao meu marido, namorado, amigo
Sérgio Antônio Silva de Almeida,
pelo carinho e incentivo durante
esta significativa fase de realização profissional,
além do amor, companheirismo e dedicação
nas horas mais difíceis de nossas vidas .
À minha tia Cici (Aracy Alves Ribeiro Tavares)
in memoriam, exemplo de vida e perseverança.*

Dedico

*À Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet
pela compreensão, amizade, determinação,
paciência e alegria com que me orientou
não somente em minha
vida profissional como pessoal.*

Dedico

*À Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves
pela paciência, compreensão,
presteza, determinação,
e ensinamentos em minha vida profissional.*

Dedico

Oração à São Jorge

Eu andarei vestido e armado com as armas de São Jorge para que meus inimigos, tendo pés não me alcancem, tendo mãos não me peguem, tendo olhos não me enxerguem, e nem em pensamentos eles possam me fazer mal.

Armas de fogo o meu corpo não alcançarão, facas e lanças se quebrarão sem ao meu corpo chegarem, cordas e correntes se arrebentarão sem ao meu corpo amarrarem.

Jesus Cristo, me proteja e me defenda com o poder de sua santa e divina graça, a Virgem Maria de Nazaré, me cubra com o seu sagrado e divino manto, me protegendo em todas as minhas dores e aflições, e Deus, com sua divina misericórdia e grande poder, seja o meu defensor contra as maldades e perseguições dos meu inimigos.

E o Glorioso São Jorge, em nome de Deus, em nome de Maria de Nazaré, em nome da Falange do Divino Espírito Santo, estenda-me o seu escudo e as suas poderosas armas, defendendo-me com a sua força e com a sua grandeza, do poder dos meus inimigos carnavais e espirituais, e todas as suas más influências, e que debaixo das patas de seu fiel ginete meus inimigos fiquem humildes e submissos a vós, sem se atreverem a ter um olhar se quer que me possa prejudicar. Assim seja com os poderes de Deus, de Jesus e da falange do Divino Espírito Santo. Amém!

São Jorge Rogai por Nós.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. **Jacenir Reis dos Santos Mallet** pelos conselhos (que não foram poucos), dedicação, amizade, carinho, compreensão e muito mais... Muito obrigado.

À Dra. **Teresa Cristina Monte Gonçalves** pelos ensinamentos, auxílio e importantes sugestões para melhor andamento dos trabalhos.

À Dra. **Nadja Lima Pinheiro** por confiar neste estudo e propiciar a realização de mais uma fase de minha vida.

À Dra. **Jane Costa** pela atenção e sugestões neste trabalho.

À **Simone Teves** pela sua competência e seriedade nos momentos de extrema necessidade deste trabalho.

À **Simone Castro** pela amizade, atenção e colaboração neste estudo.

À Dra. **Suzete Gomes** e à **Prof. Catarina Macedo** pelo apoio e revisão da dissertação.

À técnica e amiga **Ana Paula** pela atenção e apoio na criação dos triatomíneos.

À **Giovanna Marcella Cavalcante Carvalho** pela colaboração no trabalho e amizade demonstrada.

Ao Chefe do Laboratório Transmissores de Leishmanioses, Prof. **Maurício Villela** e a Dra. **Elizabeth Rangel** pelo apoio.

Aos meus amigos do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal **Guilherme Orsolon, Isaac, Rafael, Viviane, João Ricardo, Ruan, Adriana Pedroso, Hamilton** e em especial para **Andriele, Clarice, Rafaela, Renata** e **Ricardo** pelos momentos de muita alegria e companheirismo.

As minhas amigas de sempre **Clarice, Rafaela** e **Renata** pela ajuda, consideração e carinho com que amenizaram os momentos difíceis.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ pelos importantes ensinamentos.

À equipe do Setor de Morfologia e Ultraestrutura de Artrópodes: **Edalton, Marcelo, Leandro, Shenia, William, Daniele Misael, Daniele Lima, Cristina, Ana Laura, Nathanielly, Sandra, Amanda Queiroz, Amanda Sampaio, Luciana, Simone Freitas, Sílvia, Adalberto** e **Lenice** pelos agradáveis momentos de convivência.

À **Teresa Fernandes** pelos momentos de descontração no laboratório.

Ao Prof. **Carlos Eduardo** por sugestões e à **Renata** e **Daniele** pela força do Laboratório de Biodiversidade da Coleção Entomológica da FIOCRUZ.

Ao Prof. **Alfredo Carlos Azevedo** pelo auxílio com os dados estatísticos e pela amizade.

À Dra. **Célia Lammerhist** do **Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS)**, Secretaria de Estado da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul pela presteza com o que atendeu a minha solicitação.

Às secretarias do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz: **Ângela, Simone** e **Esther** pelo apoio e amizade.

À **Agra**, secretária da Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ pela atenção, amizade e ajuda sempre que requisitada.

À minha amiga e madrinha **Marcinha (Márcia Cristina Ferreira da Silva)** pela amizade e carinho.

À **Família Martelotte** pelo suporte e dedicação em momentos muito difíceis de minha vida.

Ao meu cunhado **Fábio** e ao meu sogro **Waldemiro** pelos momentos de solidariedade e amizade.

Aos meus tios e padrinhos **Zenir** e **Lula** pelo afeto e carinho em momentos difíceis.

Ao meu padrinho, compadre e primo **Cesar Luiz** e a minha comadre **Gisela** pelo apoio, amizade e atenção dedicada.

Ao meu afilhado **Leandro** pelos momentos alegres que me proporcionou.

À **Luna, Kika, Brigitte, Linda, Clara, Dino, Titã, Pet** e **Zeus** por me amarem incondicionalmente e tornarem minha vida mais alegre.

À minha mãe e meu marido pela paciência, amor, apoio, carinho, dedicação e cuidado sempre dedicados a mim... Eu amo vocês.

RESUMO

CARDOZO-DE-ALMEIDA, Margareth Alves Ribeiro. **Estudos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais em cinco espécies do gênero *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae) incluindo a biologia de *Triatoma carcavalloi*.** 2007. 128p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal, Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

Neste estudo cinco espécies do gênero *Triatoma* de diferentes potencialidades na transmissão da doença de Chagas foram estudadas. Duas espécies são da Região Nordeste: *Triatoma petrochiae* e *Triatoma brasiliensis*, e as outras três da Região Sul: *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* e *Triatoma circummaculata*. *T. brasiliensis* é o principal vetor de *T. cruzi* nas áreas semi-áridas do nordeste do Brasil e *T. rubrovaria* nas áreas rurais do Rio Grande do Sul, seguido por *T. circummaculata*. Foram feitas comparações entre *T. petrochiae* e *T. brasiliensis* através da morfometria e da microscopia eletrônica de varredura evidenciando diferenças significantes. Foram também ilustradas as diferenças morfo-estruturais dos adultos na região cefálica, como antenas, olhos, rostro, búcula e sulco estridulatório. As análises realizadas corroboram com estudos anteriores confirmando os taxa específicos. Foram analisados e evidenciados diferenças significativas no comprimento, largura e diâmetro do corpo e do opérculo dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata*, consideradas espécies silvestres e que vivem em simpatria. Evidenciaram-se diferenças significantes nas medidas dos ovos nas três espécies. Na análise morfológica das antenas de *T. carcavalloi* verificou a ocorrência tanto em machos quanto em fêmeas de mais de 14 tricobótrias, no terceiro e quarto artigos antenais. *T. carcavalloi* apresenta na cabeça 1+1 manchas pós-ocelares. Nos fêmures das patas de ambos os sexos foi encontrado um par muito pequeno de denticulos subapicais. As fossetas esponjosas foram encontradas somente nos machos, nas tíbias das patas anteriores e medianas. Os resultados relacionados aos estudos morfológicos de *T. carcavalloi* evidenciaram que algumas estruturas são importantes para a caracterização específica, como: búcula, rostro e sulco estridulatório. Foi descrito o alótipo de *T. carcavalloi* para uma melhor identificação da espécie, assim como uma abordagem mais detalhada e conhecimento dos caracteres anatômicos específicos. O parâmetro biológico do período de incubação dos ovos, os dados obtidos em *T. carcavalloi* relatam que o período médio de incubação destes foi de 22,7 dias. Os resultados logrados na resistência ao jejum de todos os estágios ninfais e adultos (machos e fêmeas) dessa espécie indicam que as ninfas de 2°, 3°, 4° e 5° estádios apresentaram maior resistência do que os adultos, enquanto os machos mostraram comportamento similar aos das ninfas de primeiro e segundo estádios, sendo menos resistentes do que as fêmeas. Para o primeiro dia de repasto das ninfas de primeiro estágio de *T. carcavalloi* tiveram uma média de 3,13 dias após a eclosão, com no mínimo de um dia e no máximo de cinco dias. O período de intermuda entre as ninfas de *T. carcavalloi* é apresentado neste estudo como sendo o número de dias ocorridos entre as ecdises para cada estágio ninfal (N1 a N5), do primeiro dia da eclosão do ovo até a muda imaginal. A menor média de dias foi entre N1-N2 com 18,52 e a maior média foi entre N5-adulto com 191,26. Também foi observado que as ninfas de quinto estágio (N5) precisam de vários repastos sanguíneos para efetuar a ecdise, que ocorre com mais de um ano.

Palavras-chave: Triatomíneos. Morfologia. Biologia.

ABSTRACT

CARDOZO-DE-ALMEIDA, Margareth Alves Ribeiro. **Morphologic, morphometrics and ultrastructural studies in five species of the genera *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae) including the biology of *Triatoma carcavalloi*.** 2007. 128p. Dissertation (Master Science in Animal Biology, Animal Biology). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

In this study five species of the *Triatoma* genera of different potentialities in Chagas disease transmission had been studied. Two species are from Northeast Region: *Triatoma petrochiae* and *Triatoma brasiliensis*, e the three ones from South Region: *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* and *Triatoma circummaculata*. *T. brasiliensis* is the most important vector of *T. cruzi* in the semiarid areas of Northeast Region of Brazil and *T. rubrovaria* in the rural areas of Rio Grande do Sul State, followed by *Triatoma circummaculata*. Comparisons between *T. petrochiae* and *T. brasiliensis* was made by morphometry and scanning electron microscopy significant differences. Morpho-structural differences in the cephalic region of the adults such as antennas, eyes, rostrum, buccula and stridulatory sulcus had also been illustrated. This analysis corroborate with specific previous studies confirming the specific taxa. The length, width and diameter of body and operculum of eggs of *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* and *T. circummaculata* considered wild species and that live in simpatry had been analyzed. Significant differences in the measures of eggs in the three species had been revealed. In the morphological analysis of the antennas of *T. carcavalloi* it was verified the occurrence in both, male and females, more than 14 trichobotrium, in the third and fourth antennal articles. In the head the presence of 1+1 post-ocelares spots. In the legs, a pair of sub-apical denticles in femures of both male and female was found. Spongy fossette had been found only in the males, in the tibiae of the previous and medium legs. The results related to the morphological studies carried out in *T. carcavalloi*, make evidenced that some structures are important for the specific characterization, such as buccula, rostrum and stridulatory sulcus. The allotype of *Triatoma carcavalloi* was described for one better identification of this species, as well as a boarding more detailed and knowledge of the specific anatomical characters. For the biological parameter of the eggs incubation period, the data gotten in *T. carcavalloi* show that the average period of incubation was of 22,7 days. The results show in the jejum resistance to all (male and female) nymphs and adult periods of this species indicate that the nymphs of 2^o, 3^o, 4^o and 5^o stages had greater resistance compared to the adults, while the males had shown similar behavior to the nymphs of first and second stages, being less resistant in relation to the females. For the first day of feeding to nymphs of first stage of *T. carcavalloi* the eclosion had a average of 3,13 days after, with at least of one day and in the maximum of five days. The period of intermuda between the nymphs of *T. carcavalloi* is presented in this study as being the number of days occurred between ecdises for each nymphal period (N1 the N5), of the first day of the eclosion of the egg until the imaginal ecdysis. The minor average of days was between N1-N2 with 18,52 and the major average was between N5-Adult with 191,26. Also it was observed that the nymphs of fifth stage (N5) need some sanguineous feeding to realize ecdise, that occurs more than with one year.

Key words: Triatomines. Morphology. Biology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fêmea de <i>Triatoma brasiliensis</i>	09
Figura 2. Fêmea de <i>Triatoma petrochiae</i>	10
Figura 3. Fêmea de <i>Triatoma rubrovaria</i>	11
Figura 4. Fêmea de <i>Triatoma carcavalloi</i>	12
Figura 5. Fêmea de <i>Triatoma circummaculata</i>	13
Figura 6. Estado do Rio Grande do Norte (Brasil). Em destaque o município de Caicó, local de coleta de <i>T. brasiliensis</i> e <i>T. petrochiae</i> . Escala – 1:75000	19
Figura 7. Estado do Rio Grande do Sul (Brasil). Em destaque o município de Encruzilhada do Sul, local de coleta de <i>T. carcavalloi</i> , <i>T. rubrovaria</i> e <i>T. circummaculata</i> . Escala – 1:75000	20
Figura 8. Microscopia óptica de ovos de <i>Triatoma petrochiae</i> . A – Corpo do ovo, B - Opérculo	27
Figura 9. <i>Triatoma carcavalloi</i> - Estruturas morfológicas observadas através da Microscopia óptica. A – Tricobótrias (seta) no terceiro e quarto artículos antenais de machos – 3X, B – Tricobótrias (seta) no terceiro e quarto artículos antenais de fêmeas – 3X, C – Manchas pós-ocelares no macho (* = ocelo) - 6,3X, D - Manchas pós-ocelares na fêmea (* = ocelo) - 6,3X	28
Figura 10. <i>Triatoma carcavalloi</i> - dentículos subapicais nos fêmures de <i>T. carcavalloi</i> , visualizados através da Microscopia óptica. A, C, E – machos, B, D, F – fêmeas	29
Figura 11. <i>Triatoma carcavalloi</i> - Microscopia óptica de tíbias - 6,3X. Fosseta esponjosa na pata anterior, A - macho, B –fêmea; Fosseta esponjosa na pata mediana, C - macho, D – fêmea; Ausência de fosseta esponjosa na pata posterior, E - macho, F – fêmea	30
Figura 12. Microscopia eletrônica de varredura de estruturas de <i>Triatoma carcavalloi</i> em vista ventral. A - Búcula (as setas mostram bordas grossas e uma fenda na depressão) nas fêmeas, B - Búcula (a seta mostra borda grossa) nos machos, C – Ápice do rostro nas fêmeas (* = placa apical), D - Ápice do rostro nos machos (* = placa apical), E - Proesternó e sulco estridulatório nas fêmeas, F - Proesternó e sulco estridulatório nos machos	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Período de incubação dos ovos de <i>Triatoma carcavallo</i> (dias)	25
Tabela 2. Período de intermuda de <i>Triatoma carcavallo</i> (dias)	25
Tabela 3. Resistência ao jejum de <i>Triatoma carcavallo</i> (dias)	26

SUMÁRIO

1 Introdução	1
1.1 A doença de Chagas	1
1.2 Os vetores	2
1.3 Posição sistemática das espécies estudadas	3
1.4 <i>Triatoma brasiliensis</i>	4
1.5 <i>Triatoma petrochiae</i>	4
1.6 <i>Triatoma rubrovaria</i>	5
1.7 <i>Triatoma carcavalloei</i>	5
1.8 <i>Triatoma circummaculata</i>	6
1.9 Biologia e Morfologia	6
2 Revisão de Literatura	14
3 Materiais e Métodos	18
3.1 Obtenção e manutenção dos insetos	18
3.2 Morfologia	21
3.2.1 Observações ao microscópio óptico	21
3.2.2 Observações ao microscópio eletrônico de varredura	21
3.2.3 Descrição do alótipo de <i>Triatoma carcavalloei</i>	21
3.3 Estudo morfométrico dos ovos	21
3.4 Biologia de <i>Triatoma carcavalloei</i>	22
4 Resultados	23
4.1 Morfologia e Morfometria	23
4.2 Descrição do alótipo	24
4.3 Biologia de <i>T. carcavalloei</i>	24
5 Discussão	32
6 Conclusões	35
7 Considerações finais	36
8 Referências bibliográficas	37
Anexos	50
A – Morphological and morphometrical aspects of <i>Triatoma Petrochiae</i> Pinto & Barreto, 1925, and <i>Triatoma Brasiliensis</i> Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)	51
B – Ultraestrutura e Morfometria de ovos de <i>Triatoma rubrovaria</i> (Blanchard, 1843), <i>Triatoma carcavalloei</i> Jurberg, Rocha & Lent, 1998 e <i>Triatoma circummaculata</i> (Stal, 1859) (Hemiptera-Reduviidae-Triatominae)	71
C – Descrição do alótipo macho de <i>Triatoma carcavalloei</i> Jurberg, Rocha & Lent 1998 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)	86

1 INTRODUÇÃO

1.1 A doença de Chagas

A doença de Chagas é assim denominada em homenagem ao médico brasileiro Dr. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas, que em 1909 realizava uma campanha contra a malária, doença que atingia operários que trabalhavam na construção de um trecho da Estrada de Ferro Central do Brasil, na região norte do Estado de Minas Gerais (LENT, 1999). No município de Lassance, Carlos Chagas descobriu o primeiro caso humano da doença de Chagas, assim como determinou o agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*), seu completo ciclo de transmissão, além de identificar o vetor e o primeiro reservatório silvestre (o tatu).

A trajetória da enzootia chagásica primitiva a antropozoonose foi resultante da ação do homem, que fez com que os vetores se deslocassem de seus ecótopos silvestres, pelo esgotamento ou limitação de suas fontes alimentares originais. O vetor adaptou-se a biótopos artificiais e a outras fontes alimentares, representados pela habitação humana e pelo sangue de animais domésticos e do próprio homem.

A principal forma de transmissão da doença é a vetorial, responsável por 80 a 90% dos casos, sendo realizada pelas dejeções (urinofecal) do triatomíneo contendo formas infectantes, deixadas sobre a pele do hospedeiro próximas ao local da picada ou em mucosas, quando o inseto realiza o repasto sanguíneo. Quando as dejeções contêm as formas metacíclicas, estas, graças a sua motilidade penetram no animal receptor através das mucosas ou por qualquer solução de continuidade da pele (MORAES, 2000). A transmissão transfusional é responsável por 8 a 18% dos casos descritos e a transmissão congênita por 0,5 a 2% (DIAS & COURA, 1997).

Segundo Brener (1997), no homem, a infecção causa a doença de Chagas aguda após um período de incubação de 8 a 10 dias na transmissão vetorial e muito maior na transmissão transfusional. Na transmissão vetorial, aparece, no local da penetração dos parasitas, um processo inflamatório agudo chamado chagoma de inoculação e, se ocorrer nas pálpebras ou na mucosa oftálmica é chamado sinal de Romana.

Incidindo na população rural de baixo nível sócio-econômico, a doença de Chagas aguda, pode ser aparente ou inaparente, sendo geralmente ignorada, permanecendo sem diagnóstico, por escassez de assistência médica ou por apresentar manifestações clínicas não características. A maioria dos casos ultrapassa a fase aguda evoluindo durante anos sem sintomas visíveis, até que se manifestem as formas crônicas com cardiopatias e manifestações digestivas, principalmente devido a megaesôfago e/ou megacólon. A fase aguda também pode evoluir para forma crônica indeterminada, o que ocorre na maioria dos casos não tratados, sem sintomas ou manifestações clínicas, cardíacas, digestivas ou nervosas e com exames clínicos eletrocardiográficos normais, sendo identificada apenas através de sorologia ou métodos parasitológicos indiretos, como o xenodiagnóstico (FREITAS, 1975; DIAS & COURA, 1997).

À medida que se ampliam as pesquisas sobre a doença de Chagas, mais se evidenciam a extensão, a complexidade e a importância sanitária dessa endemia que paira sobre grandes contingentes populacionais no interior do Brasil e de outros países das Américas do Sul e Central. Fatores sociais relacionados aos fatores econômicos, tais como desenvolvimento industrial, crescimento populacional e a colonização de áreas rurais, que atuam diretamente no equilíbrio ecológico, proporcionam condições favoráveis para o estabelecimento da doença (ÁVILA-PIRES, 1976).

Segundo SCHMUNIS (1999), esta doença representa o quarto maior impacto social entre

todas as doenças infecciosas e parasitárias prevalentes. Em 1998 a Organização Pan-americana de Saúde informou que cem milhões de pessoas, isto é, 25% da população latina americana estavam com o risco de adquirir a doença de Chagas. DIAS (2000) relatou que 16 a 18 milhões de pessoas estivessem infectadas por *T. cruzi* em 18 países latino-americanos com cerca de 90 milhões expostas ao risco de adquirir a infecção. Atualmente, estima-se que 11 milhões de pessoas estão infectadas em todo mundo e destes, 15% a 30% têm sintomas clínicos, além de que a maioria destas pessoas não sabe que estão infectadas (CDC, 2007).

No Brasil, cerca de cinco milhões de brasileiros foram infectados na década de 70, distribuídos em aproximadamente 36% do território, atingindo mais de 2.450 municípios, que se estendiam desde o Maranhão ao Rio Grande do Sul, sendo que em Minas Gerais a doença atingiu um milhão de pessoas. Esses números decaíram nos últimos 20 anos. O número de municípios brasileiros infestados por *Tritoma infestans* (Klug, 1834), principal vetor das décadas passadas, caiu de 30,4% em 1983 para 7,6% em 1993 (SILVEIRA & REZENDE, 1994) e reduziu para 2,3% no ano de 2000 (VINHAES, 2001). Segundo VILLELA *et al.*, (2005), no Brasil a doença acomete cerca de três milhões de pessoas.

Desde 1950 foram realizadas as primeiras “Campanhas contra a doença de Chagas” pelo então Serviço Nacional de Malária. No entanto foi só a partir dos anos 60 no estado de São Paulo e nos anos 70 para o restante do país, que as ações ganharam regularidade.

A estratégia da eliminação da doença de Chagas no período 1996-2010 está baseada na interrupção da transmissão vetorial e na seleção sistemática de doadores de sangue. No controle das infecções transmitidas pelo vetor, o objetivo é interromper a transmissão através da pulverização com inseticidas, do uso de tintas repelentes a insetos, da realização de fumigação, da melhoria das habitações e da educação na área da saúde, como parte do desenvolvimento sustentado das áreas rurais e peri urbanas. Já no controle das infecções transmitidas através do sangue, o alvo é selecionar todos os doadores de sangue dos países endêmicos para anticorpos do *T. cruzi*, e reforçar as infra-estruturas do serviço de saúde para a seleção múltipla do sangue (HIV, hepatite B e *T. cruzi*) (WHO, 2002).

1.2 Os vetores

Os insetos transmissores da doença de Chagas pertencem à ordem Hemiptera, sendo vulgarmente conhecidos como barbeiros. Nesta ordem, os representantes possuem hábitos alimentares do tipo fitófago, predador ou hematófago, sendo a subfamília Triatominae composta por membros exclusivamente hematófagos em todos os estádios ninfais e também na fase adulta.

CHAGAS (1909), descreveu a espécie vetora da doença de Chagas como *Conorhinus* sp., logo depois como *Conorhinus sanguisuga* por sinal nome científico de espécie norte-americana que não ocorre no Brasil. Ainda em 1909, Chagas publicou uma estampa colorida que após estudo de Neiva, em 1910, veio a conhecer-se sob o nome de *Conorhinus megistus* (Burmeister, 1835), sendo atualmente conhecida como *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (LENT, 1999).

Quando a doença de Chagas foi descoberta eram conhecidas 33 espécies de barbeiros. Hoje em dia, a subfamília Triatominae é composta por 137 espécies (GALVÃO *et al.*, 2003; COSTA & FÉLIX, 2007), onde mais da metade delas já foram encontradas naturalmente infectadas por *T. cruzi*, além de dezenas de outras infectadas experimentalmente em laboratório (VINHAES & DIAS, 2000). Devido à uniformidade fisiológica desses insetos, é possível concluir que todos são capazes de se infectar e transmitir o parasito (JURBERG *et al.*, 2004).

As espécies de triatomíneos têm ampla distribuição geográfica no Novo Mundo desde os Estados Unidos até o sul do Chile e Argentina. Estima-se que pouco mais de uma dezena ocorra fora do continente americano e estão associadas a uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, com destaque para os mamíferos e pássaros (LENT & WYGODZINSKY, 1979).

O principal vetor da doença de Chagas até o século passado era *T. infestans*. No Brasil, a participação de *T. infestans* no total de capturas realizadas, consideradas todas as espécies, em 1983 era da ordem de 13,54% (84.334/622.822) e, em 2000 foi 0,44% (295/66.680). As taxas de infecção natural de *T. infestans* foram reduzidas de 8,4% em 1983 para 4,5% em 2000 (VINHAES, 2001).

No Brasil, as espécies conhecidas como principais transmissoras de *T. cruzi* são: *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, *Triatoma sordida* (Stal, 1859) e *Panstrongylus megistus*, encontradas também no habitat silvestre, porém adaptadas ao domicílio. Outras espécies tidas como silvestres em nosso país, tais como *Rhodnius neglectus* Lent (1954) e *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843), vêm merecendo atenção por serem capturadas com frequência no domicílio (SILVEIRA, 1995).

O peridomicílio das áreas rurais tem um importante papel no progressivo processo de domiciliação dos triatomíneos, servindo como um ambiente de transição entre o meio silvestre e as casas (GAJATE *et al.*, 1996). Algumas espécies são encontradas em galinheiros, currais de cabras, ovelhas, estábulos, pocilgas, locais de repouso de cães, gatos e outros animais domésticos, bem como em amontoados de madeira, telhas e pedras.

Na epidemiologia da doença de Chagas, a domiciliação é o aspecto mais importante concernente ao vetor. Nos triatomíneos silvestres, esta pode ser vista como uma extensão da evolução de insetos predadores de outros insetos para o hematofagismo (SCHOFIELD, 1979). Espécies silvestres podem se especializar em habitats domésticos, mas possivelmente perdem (por modificação genética e fenética) a capacidade de readaptação em habitats silvestres (SCHOFIELD *et al.*, 1999).

Em Junho de 1991 foi criada a Iniciativa dos Países do Cone Sul com a finalidade da eliminação vetorial e transfusional da doença de Chagas (WHO, 2002). As campanhas no Cone Sul recomendam que o potencial vetorial das espécies nativas seja conhecido, para diferentes áreas, admitindo que as características genéticas peculiares de determinadas populações possam influir no seu processo de domiciliação.

1.3 Posição sistemática das espécies estudadas.

Reino: Animal
Filo: Arthropoda
Subfilo: Mandibulata
Classe: Insecta
Ordem: Hemiptera
Subordem: Heteroptera
Superfamília: Reduvidae
Família: Reduviidae
Subfamília: Triatominae
Tribo: Triatomini
Gênero: *Triatoma*
Espécies: *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911
Triatoma petrochiae Pinto & Barreto, 1925

Triatoma carcavalloi Jurberg, Rocha & Lent, 1998
Triatoma circummaculata (Stal, 1859)
Triatoma rubrovaria (Blanchard, 1843)

1.4 *Triatoma brasiliensis*

Triatoma brasiliensis foi descrito por Neiva em 1911 (Figura 1). Esta espécie, inicialmente considerada um vetor de importância secundária, levando em conta a capacidade vetorial e as medidas de controle, atualmente é o principal vetor da doença de Chagas nas zonas semi-áridas do nordeste do Brasil (LENT & WYGODZINKY, 1979). *T. brasiliensis* apresenta ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrado nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Piauí, Pernambuco e Rio Grande do Norte. Tem como habitat o ambiente silvestre, rochas que servem de abrigo para roedores silvestres.

Três subespécies de *T. brasiliensis* são citadas na literatura: *T. brasiliensis brasiliensis* Neiva, 1911, *T. brasiliensis melanica* Neiva & Lent, 1941 e *T. brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956. LENT & WYGODZINSKY (1979) afirmaram que formas intermediárias são frequentes e consideraram essas subespécies como sinonímia, além de mencionar uma terceira forma cromática no Estado da Bahia.

Uma chave taxonômica para as diferentes subespécies foi elaborada por GALVÃO (1956), onde as descrições foram baseadas em padrões cromáticos do pronoto, hemiélitro e patas. E, estes autores consideraram todas como *T. brasiliensis*, alegando que formas integrantes são frequentes no ambiente natural.

Recentemente, estudos multidisciplinares foram feitos a fim de esclarecer se formas melânicas podem representar diferentes variações de *T. brasiliensis* ou se estas podem ser unidades evolutivas distintas. Os resultados das pesquisas baseados em aspectos morfológicos (COSTA, 1997; 1997a), biológicos (COSTA & MARCHON-SILVA, 1998b), ecológicos (COSTA *et al.*, 1998a; 2002), genéticos (PANZERA *et al.*, 2004) e moleculares (COSTA *et al.*, 1997b; MONTEIRO *et al.*, 2004) mostraram que *T. brasiliensis* divide-se em três espécies e uma subespécie, respectivamente: *T. brasiliensis*, *T. melanica*, *T. juazeirensis* e *T. b. macromelasoma* (COSTA *et al.*, 2003; COSTA *et al.*, 2006; COSTA & FÉLIX, 2007).

1.5 *Triatoma petrochiae*

Triatoma petrochiae Pinto & Barreto, 1925 é uma espécie silvestre e raríssima (LUCENA, 1962) (Figura 2). Segundo SHERLOCK & GUITTON (1967), essa aparente raridade é devido ao fato de terem sido as investigações realizadas somente em domicílios, fora, portanto, dos locais em que a espécie se encontra na natureza. Sua distribuição geográfica é restrita aos estados da Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, e segundo LENT & WYGODZINSKY (1979), tem como habitat os ecótopos formados pelas tocas de roedores conhecidos por mocós (*Kerodon rupestris*).

LENT & WYGODZINSKY (1979) mencionaram que *T. petrochiae* é uma espécie similar a *T. brasiliensis*, possuindo algumas diferenças morfológicas, tais como: ausência de fosseta esponjosa nas tíbias dos machos de *T. petrochiae*, rostro praticamente glabro e primeiro segmento antenal mais curto. Em termos cromáticos esta espécie é a mais parecida com *T. brasiliensis*. Na literatura existe o registro de ambas vivendo em simpatria no Rio Grande do Norte (MONTEIRO *et al.*, 1998).

1.6 *Triatoma rubrovaria*

T. rubrovaria (Blanchard 1843) (Figura 3) é uma espécie silvestre que invade o domicílio humano devido às mudanças ambientais produzidas por atividades antrópicas aliadas à eliminação de *T. infestans* do domicílio, o que deixa um nicho vazio e disponível (SALVATELLA *et al.*, 1995; OSCHEROV *et al.*, 2004). Esta espécie, gradualmente se adapta ao peridomicílio e coloniza o intradomicílio, transformando-se em um importante vetor secundário (SALVATELLA *et al.*, 1994).

Segundo LENT & WYGODZINSKY (1979), a distribuição geográfica de *T. rubrovaria* no Brasil estava relacionada aos Estados do Paraná e do Rio Grande do Sul, entretanto, de acordo com ROSA (1995) e ROSA *et al.* (2000), esta distribuição restringe-se à área endêmica de doença de Chagas no Rio Grande do Sul. Alimenta-se de uma variedade de hospedeiros, incluindo o homem, demonstrando rapidez na obtenção do alimento e na primeira defecação, características que indicam esta espécie como um vetor eficaz na transmissão da doença de Chagas (BAR *et al.*, 2003).

LENT (1942) mencionou *T. rubrovaria* como uma espécie silvestre encontrada exclusivamente em habitats peridomésticos e pedregosos no Rio Grande do Sul, mas raramente é encontrado em habitações humanas. Posteriormente, alguns autores mencionaram o encontro desta espécie em habitats domésticos, mas com nenhuma indicação de colonização nos intradomicílios (CORREA, 1968; LENT & WYGODZINSKY, 1979; ALMEIDA *et al.*, 2000). SILVA (1985) e PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ (1988) afirmaram a importância de *T. rubrovaria* quanto à veiculação de *T. cruzi* ao homem. SILVEIRA & REZENDE (1994) reconheceram a potencialidade desta espécie em colonizar habitações humanas. SALVATELLA *et al.* (1994) evidenciaram que esta espécie se alimenta em humanos e SILVA & SILVA (1993) demonstraram que é um vetor altamente competente de *T. cruzi*. ROSA (1995) destacou o número elevado de exemplares desse triatomíneo em coletas realizadas no Rio Grande do Sul, assim como a presença em residências das áreas rurais próximas ao ecótopo silvestre, o que confirma a importância epidemiológica desta espécie.

Segundo ALMEIDA *et al.* (2002a), em relação às características biológicas de *T. rubrovaria*, é importante manter a vigilância epidemiológica e realizar estudos em aspectos bionômicos da potencialidade do vetor, tais como o período de intermuda, resistência ao jejum, alimentação e modelos de defecação.

1.7 *Triatoma carcavallo*

Triatoma carcavallo Jurberg, Rocha & Lent, 1998 (Figura 4) foi descrita com base em quatro fêmeas coletadas no intradomicílio, atraídas pela luz, em diferentes localidades, como Santana do Livramento, Canguçu, Jaguarão e Dom Feliciano, municípios do estado do Rio Grande do Sul.

T. carcavallo é uma espécie silvestre, com distribuição geográfica restrita ao Estado do Rio Grande do Sul e vive em simpatria com *T. circummaculata* e *T. rubrovaria*, no peridomicílio e no intradomicílio.

Esta espécie foi considerada afim de *T. rubrovaria* JURBERG *et al.* (1998). Entretanto distingui-se pelo intenso colorido laranja do lobo posterior do pronoto, do cório e do aspecto aguçado do ângulo anterior do pronoto, além das características morfológicas, (em relação às proporções,) do comprimento e da largura da cabeça, do rostro, do tamanho dos olhos, do abdômen menor, o que lhe confere um aspecto arredondado, e do gonocoxito do nono segmento.

Recentemente, esta espécie foi registrada no município de Encruzilhada do Sul, Rio Grande do sul, sendo capturado um exemplar em estágio ninfal que atingiu o estágio adulto no laboratório (ALMEIDA *et al.*, 2002b).

RUAS-NETO & CORSEUIL (2002) observaram em seus estudos a isenção de infecção por *T. cruzi* em *T. carvalhoi* e a elevada taxa de infecção por um protozoário gregarínico, *Machadoella triatomae* Reichenow, 1935.

1.8 *Triatoma circummaculata*

Triatoma circummaculata (Stal, 1859) (Figura 5) é a espécie mais importante depois de *T. infestans* no Uruguai. Sua distribuição geográfica no Brasil está restrita ao Rio Grande do Sul. Na literatura, esta é a segunda espécie silvestre mais capturada nesse estado e ocupa ecótopos semelhantes a *T. rubrovaria* e por vezes podem ser encontradas juntas (LENT & WYGODZINSKY, 1979; ROSA *et al.*, 2000). RUAS-NETO & CORSEUIL (2002) encontraram *T. circummaculata* vivendo em simpatria com *T. carvalhoi* e com *T. rubrovaria*.

Estudos filogenéticos com *T. circummaculata* baseados nas seqüências do DNA mitocondrial incluíram-na no complexo *T. infestans* embora estivesse em desacordo com a classificação morfológica (GARCIA *et al.* 2001). SAINZ *et al.* (2004) também analisaram seqüências de DNA mitocondrial de *T. circummaculata* e confirmaram a inclusão desta espécie, como um membro de um complexo dentro do complexo *T. infestans*.

1.9 Biologia e Morfologia

O conhecimento de aspectos da biologia de espécies silvestres é de grande importância para a avaliação da eficiência destes insetos como vetores de *T. cruzi*. O ciclo de vida dos triatomíneos varia de acordo com a espécie e condições ambientais onde vivem e é fortemente influenciado pela disponibilidade de fontes sangüíneas adequadas (SCHOFIELD, 1985; ROCHA *et al.*, 2004).

O período de desenvolvimento ninfal dos triatomíneos está relacionado às condições de alimentação, temperatura e umidade a que são submetidos. A maioria dos estudos sobre o ciclo de vida da subfamília Triatominae foi realizada sob circunstâncias controladas de temperatura e de umidade relativa, embora estes fatores mostrassem variações diárias e sazonais em habitats naturais (LUZ *et al.*, 1999). Entretanto, o comportamento das espécies que atualmente possuem hábitos silvestres pode ser alterado por modificações em seus habitats.

A interferência de fatores climáticos na distribuição e dispersão das espécies de triatomíneos foi estudada por CURTO DE CASAS *et al.* (1999), que analisaram várias espécies, tentando estabelecer relações entre as diferentes temperaturas e o período de desenvolvimento. As conseqüências do aumento de temperatura associada à baixa umidade relativa podem acarretar redução acentuada no desenvolvimento ninfal e aumento da freqüência de repastos sangüíneos como forma de compensar a perda de água.

As prováveis alterações na biologia dos insetos vetores são: alterações no mecanismo de dispersão pelo vôo; aumento do número de repastos e, conseqüentemente, a probabilidade de infecção/transmissão; aceleração do ciclo biológico e crescimento populacional (ROCHA *et al.*, 2004).

A eficácia das campanhas de controle da doença de Chagas diante de seus vetores é afetada pela resistência ao jejum, uma vez que os insetos podem continuar em seus abrigos, como nas fendas das paredes, que são inacessíveis à ação dos inseticidas ou a seus possíveis efeitos residuais, aumentando as possibilidades de uma possível re-colonização por esses vetores

(PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, 1969; CORTÉZ & GONÇALVES, 1998; MOREIRA & SPATA, 2002).

O conhecimento dos aspectos dos ciclos de vida de cada espécie se torna relevante à medida que os triatomíneos silvestres invadem o domicílio humano, porque contribui de maneira eficaz nos estudos de métodos de controle, bem como no aprimoramento de metodologias de manutenção de colônias em laboratórios. Muitos autores priorizam o estudo de espécies domiciliadas em detrimento das espécies silvestres, o que explica a escassez de trabalhos a respeito da biologia na maioria dos triatomíneos silvestres.

As campanhas de controle precisam ser intensificadas devido à invasão de espécies silvestres em ambientes de ações antrópicas e sua domiciliação. Neste sentido, BARATA (1998) mencionou que enquanto o vetor primário é eliminado, torna-se necessário continuar o estudo destes insetos, em especial aqueles estágios relativamente pouco conhecidos entre os quais se encontram os ovos.

A importância dos trabalhos sobre ovos de Triatominae é comprovada na literatura (GALLIARD, 1936; LENT & WYGODZINSKY, 1979; BARATA, 1981; GONÇALVES *et al.*, 1985; JURBERG *et al.*, 1986, 2002; COSTA *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2000; ROSA *et al.*, 2000) e têm corroborado principalmente para a distinção genérica ou específica.

Segundo PAPAVERO & MARTINS (1994), a diagnose ou diagnose diferencial é uma breve enumeração dos caracteres ou combinações de caracteres mais importantes, peculiares a uma dada espécie, e pelo qual esta difere de outras espécies semelhantes ou relacionadas.

A diagnose da subfamília Triatominae vem sendo estudada ao longo do tempo, por inúmeros parâmetros, principalmente aqueles relacionados aos caracteres morfológicos externos, aspectos cromáticos e também distribuição geográfica (LENT & WYGODZINSKY, 1979). O estudo da genitália externa dos hemípteros em geral começou em 1925 com Singh-Pruthi, seguido por Galliard 1935, 1936, depois Dupuis 1955, 1963 e outros. LENT & WYGODZINSKY, 1979 basearam na terminologia de Dupuis. As estruturas fálicas passaram a auxiliar na diferenciação específica, possibilitando classificar novas espécies e gêneros (LENT & JURBERG, 1982; OBARA *et al.*, 2007). Ao longo dos últimos trinta anos, a análise comparativa destas estruturas tem se mostrado um elemento importante para caracterizar e separar as espécies. Segundo JURBERG (1996) tornou-se indispensável usar esta abordagem não só para situar as espécies através da comparação da forma entre as estruturas, como para situar os gêneros através da ausência ou presença destas e criar condições para uma abordagem filogenética.

LENT & WYGODZINSKY, 1979 mencionaram a importância da morfologia para a diagnose dos espécimes e indicam a importância taxonômica do sulco estridulatório, o qual varia na forma, no comprimento, número e no espaço dos sulcos.

Os estudos realizados por PINTO (1931) revelaram a importância do rostro na caracterização dos gêneros da subfamília Triatominae, considerando que a relação entre os artículos desta estrutura nos hemípteros em geral, especialmente nas famílias hematófagas é importante para a sistemática destes insetos.

À medida que o conceito específico vem se ampliando, tornou-se necessário adicionar estudos morfométricos na análise da forma como uma importante ferramenta nos estudos dos artrópodos (HUTCHESON *et al.*, 1995; ANEZ *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2000). A morfometria é uma técnica extremamente sensível e por esta razão é necessário parcimônia com o tamanho das amostras utilizadas, uma vez que estas podem gerar erros de leitura (SANTOS *et al.*, 2003).

Durante a última década, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) vem sendo usada como uma ferramenta importante para a sistemática de Triatominae, justificando o status de

espécies crípticas e seus complexos (SILVA *et al.*, 2003). Segundo CARCAVALLO *et al.* (1998), a MEV é a principal ferramenta usada para estudar 97 de 110 espécies de Triatominae.

Objetivamos nesta dissertação, ampliar o conhecimento morfológico de *T. brasiliensis*, *T. petrochiae*, *T. rubrovaria*, *T. carcavallo* e *T. circummaculata*, através da Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura, com abordagem em alguns aspectos da biologia de *T. carcavallo*, além da descrição do alótipo (macho) desta espécie. Será também objetivo de estudo uma análise morfométrica dos ovos das cinco espécies.



Figura 1: *Triatoma brasiliensis*.



Figura 2: *Triatoma petrochiae*.

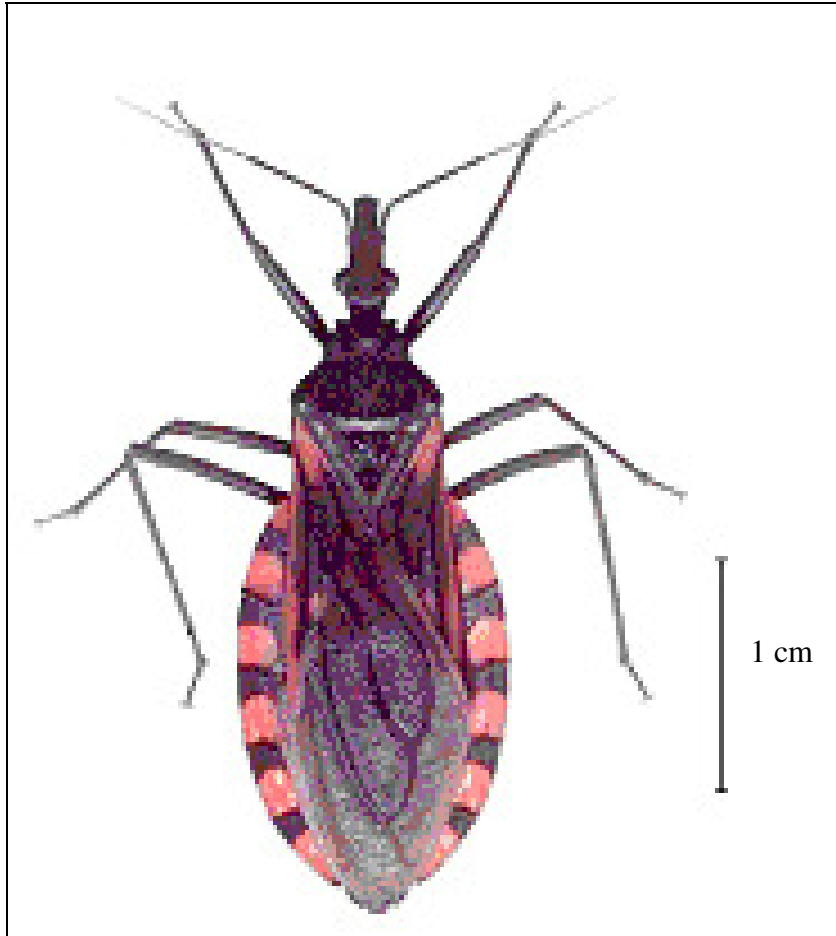


Figura 3: *Triatoma rubrovaria*.

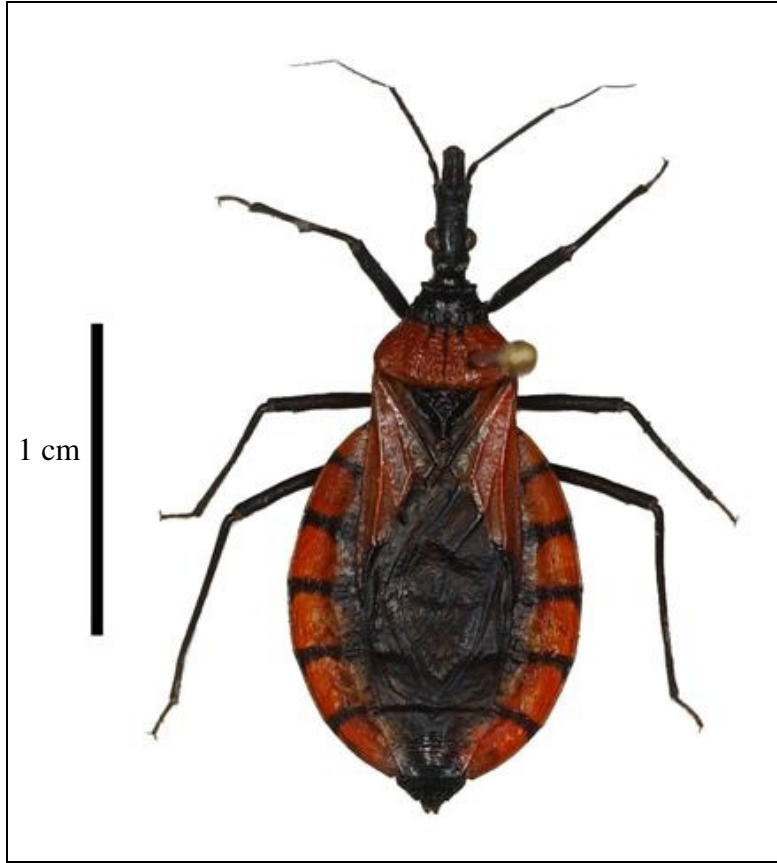


Figura 4: *Triatoma carcavalloi*.



Figura 5: *Triatoma circummaculata*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O fenômeno de adaptação dinâmica e contínua às modificações do ambiente permite classificar os triatomíneos em espécies silvestres, em vias de adaptação – que se encontram às vezes em ambientes silvestres e domésticos – e aquelas totalmente adaptadas às habitações humanas, denominadas domiciliadas (ZELEDÓN & RABINOVICH, 1981). Segundo SILVEIRA & VINHAES (1999), no Brasil, de 123 espécies de triatomíneos, 46 se encontravam dispersas no peridomicílio, 8 se apresentavam em vias de adaptação e somente uma, o *Triatoma infestans*, “imigrante clandestina” da Bolívia que se capturava unicamente nas casas e dependências, se encontrava em vias de erradicação graças às campanhas de controle com inseticidas químicos e educação sanitária. Mudanças ambientais, inclusive aquelas decorrentes das próprias ações de controle, portanto, podem implicar o reposicionamento de determinada espécie. Com isso, qualquer classificação que se venha a fazer, estará sempre sujeita a revisão (SILVEIRA, 2002).

Segundo OLIVEIRA-LIMA *et al.* (2000), as populações das espécies nativas de triatomíneos que ocorrem em ambientes silvestres no Brasil, ainda não foram controladas devido ao fato que estas populações podem invadir ou colonizar domicílios, não possibilitando o controle definitivo através de tratamento químico, pois a eficiência está relacionada a fatores como: densidade das populações do vetor nos ecótopos silvestres, densidade desses ecótopos e a relação dos homens com esta tríade. As medidas que atualmente se destacam como de controle são a utilização de inseticidas de ação residual e a melhoria da habitação, cujos benefícios devem ser reforçados por meio de ações educativas, desenvolvidas concomitantemente junto às comunidades beneficiadas.

O primeiro relato sobre a existência destes insetos foi feito por Francisco Gamara, em 1514, quando descreveu: “Hay muchas garrapatas Y chinches com alas”, provavelmente referindo-se a *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (LEON, 1962, apud GONÇALVES, 2000). Porém, a primeira descrição sob o ponto de vista entomológico, foi *Cimex rubrofasciatus*, em 1773, por De Geer (LENT & WYGODZINSKY, 1979).

No Brasil, o primeiro relato sobre a presença de triatomíneos no domicílio, possivelmente *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), foi feito por GARDNER (1942), quando relatou suas viagens ao Brasil, durante os anos de 1836 a 1841 (GONÇALVES, 2000).

Nas áreas semi-áridas do nordeste do Brasil, *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 é atualmente considerado o mais importante vetor da doença de Chagas. Sua distribuição geográfica abrange os estados do Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí e Rio Grande do Norte (COSTA *et al.*, 2003). Esta espécie nativa é encontrada em ecótopos naturais que compõem o ecossistema da caatinga, onde vive geralmente muito dispersa e em baixas densidades, sendo sua domiciliação, naturalmente, uma consequência da ação antrópica e das condições da vivenda humana, em particular, de seu peridomicílio (DIAS, 2001).

Segundo DIOTAIUTI *et al.* (2000), o controle desta espécie é dificultado, pois *T. brasiliensis* possui uma alta capacidade de re-infestação, para tanto a hipótese de resistência ao inseticida foi descartada, sendo mais provável que a re-colonização seja decorrente de triatomíneos de ambiente silvestre e/ou do peridomicílio.

Triatoma petrochiae Pinto & Barreto, 1925 é uma espécie silvestre cuja distribuição geográfica é restrita aos estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia. Após a descrição original de *T. petrochiae* por Pinto e Barreto, em 1925, com base em dois exemplares, essa espécie foi reencontrada somente em 1962, na cidade de Paulo Afonso, Bahia, pelo Dr. Pedro Sarno, do atual Instituto Gonçalo Muniz/FIOCRUZ. SHERLOCK & GUITTON (1967) a

redescreveram utilizando 16 espécimes. Nessa redescritção, os autores consideraram *T. petrochiae* uma espécie rara, aparentemente devido ao fato de terem sido as investigações realizadas somente em domicílios, fora, portanto, dos locais em que a espécie se encontra na natureza.

LUCENA (1970) considerou *T. petrochiae* sinónimo de *T. brasiliensis*. Porém, ESPÍNOLA (1971), a fim de esclarecer as dúvidas sobre a compatibilidade genética entre *T. brasiliensis* e *T. petrochiae*, realizou cruzamentos entre elas. Os resultados obtidos mostraram que se tratava de duas espécies distintas, uma vez que não foram obtidos híbridos viáveis. LENT & WYGODZINSKY (1979) confirmaram *T. petrochiae* sendo uma espécie separada de *T. brasiliensis* devido a diferenças no comprimento do primeiro segmento antenal, rostro praticamente glabro e a ausência da fosseta esponjosa. MONTEIRO *et al.* (1998), através de estudos isoenzimáticos, confirmaram o isolamento reprodutivo entre estas espécies e também a categoria específica de *T. petrochiae*.

Na região sul do país, os triatomíneos foram reconhecidos a partir do século 20 (LENT, 1942). NEIVA (1913) fez o primeiro registro de *Triatoma infestans* (Klug, 1834). Posteriormente, Neiva em 1913 (apud LENT, 1942) fez o primeiro registro de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843), seguido por OLIVEIRA (1920), que registrou a presença de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) e mais tarde NEIVA & PINTO (1923), que registraram *Triatoma sordida* (Stal, 1859) no estado do Rio Grande do Sul. Além destes, houve a descrição de *Triatoma gomesi* que foi sinonimizado como *T. rubrovaria* por LENT (1942), além de *Triatoma oliveirai* (Neiva, Pinto & Lent, 1939) e *Panstrongylus tupynambai* Lent, 1942. Passados mais de 10 anos, DI PRIMIO (1957) fez o primeiro registro de *T. circummaculata* (Stal, 1859). SALVATELLA *et al.* (1991, 1993), 40 anos mais tarde registraram *T. platensis* Neiva, 1913 e *T. delponteii* Romana & Abalos, 1947, e finalmente, JURBERG *et al.* (1998), descreveram *T. carcavalloii* Jurberg, Rocha & Lent, 1998 e *T. klugii* Carcavallo, Jurberg & Galvão, 2001.

No Estado do Rio Grande do Sul ocorrem onze espécies de triatomíneos, entre os quais há o grupo das espécies introduzidas, de hábitos sinantrópicos, habitantes de ninhos de pássaros ou de mamíferos e o grupo das silvestres com hábitos rupestres (associadas a rochas), consideradas autóctones. *T. infestans*, que foi considerado por um longo período o principal transmissor de *T. cruzi* no ambiente intradomiciliar juntamente com *T. sordida* o grupo das espécies introduzidas. Entre as silvestres, ocorrem espécies de grande importância epidemiológica devido à ampla distribuição e reconhecida capacidade de transmissão de *T. cruzi* como é o caso de *T. rubrovaria*. Segundo SILVA (1985), o parco conhecimento acerca da biologia, ecologia e morfologia das demais espécies silvestres não desmerece a importância epidemiológica destas, uma vez que espécies como *T. carcavalloii* e *T. circummaculata* que habitam ambientes rochosos onde a presença das fontes de alimento são intermitentes; desenvolvem grande capacidade de resistência ao jejum com acentuado ecletismo alimentar, além de apresentarem irregularidades de intervalos no fechamento do ciclo natural.

SILVEIRA & VINHAES (1999) citaram uma redução de 99% das populações de *T. infestans* no Brasil, restringindo esta espécie a focos isolados. Este triatomíneo vem sendo o alvo das medidas de controle e, mais recentemente, tentativa de erradicação, segundo a campanha da Iniciativa dos Países do Cone Sul (VINHAES & DIAS, 2000; SILVEIRA, 2000).

Os países da Iniciativa do Cone Sul (Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai) realizaram diversas medidas de controle vetoriais e, por conseguinte houve uma redução de 72% da incidência de infecção humana nas crianças e em jovens nestes países. Em 1997, o Uruguai recebeu o Certificado Internacional de Eliminação da Transmissão Vetorial e Transfusional da Doença de Chagas. Em 1999, foi a vez do Chile, enquanto que em 2000, dez do

total de doze estados endêmicos do Brasil receberam também o mesmo certificado (FERREIRA & SILVA, 2006).

Na tentativa de erradicar o *T. infestans* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, esse vetor foi considerado eliminado, em junho de 2006, quando o Ministério da Saúde do Brasil recebeu a Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas por este triatomíneo, conferida pela Organização Pan-Americana da Saúde (FERREIRA & SILVA, 2006). As inspeções de controle não podem parar, fato enfatizado por CECERE *et al.* (2006), onde relatam que na Argentina, Província de Santiago del Estero, cidades de Trinidad e Mercedes, no período de 1992 a 1997 foram realizadas campanhas de controle aos triatomíneos com a pulverização de inseticidas, tendo sido constatada re-infestação.

Os inquéritos entomológicos demonstraram que nas Regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, 21 espécies foram registradas em ambientes domésticos, com graus variados de colonização e de infecção natural (COSTA *et al.*, 2003). Uma dessas espécies é *Triatoma rubrovaria*, que passou a ser o triatomíneo mais capturado na região Sul, de acordo com os dados fornecidos pela antiga FNS, hoje FUNASA (Fundação Nacional de Saúde), do Rio Grande do Sul, entre 1975 e 1997, indicando um crescente processo de invasão domiciliar e peridomiciliar dessa espécie (ALMEIDA *et al.*, 2000, 2005).

T. carvalhoi, por ser uma espécie silvestre tem sido pouco estudada e os conhecimentos sobre sua biologia são restritos. Estudos sobre o comportamento alimentar desta espécie podem contribuir como indicadores do potencial de transmissão do *T. cruzi* e auxiliar no controle de vetores. Torna-se assim imprescindível dar continuidade aos estudos sobre vetores potenciais na região sul do país de modo a avaliar o risco de reinstalação da doença de Chagas, principalmente entre as populações das áreas rurais, e indicar quais as espécies têm maior capacidade de se adaptarem ao ambiente peri e intradomiciliar.

Nos triatomíneos, o período de intermuda, resistência ao jejum, período de incubação dos ovos, primeiro repasto das ninfas de 1º estágio, são alguns dos vários parâmetros utilizados no estudo da biologia destes insetos. Segundo CORTÉZ & GONÇALVES (1998) e JURBERG & COSTA (1989), a comparação dos resultados dos estudos biológicos entre as espécies de triatomíneos torna-se difícil devido à diferença de temperatura, umidade e fonte alimentar.

Conforme PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ (1954, 1969), as aplicações dos inseticidas devem ser realizadas em períodos regulares pré-estabelecidos para as espécies que são mais resistentes ao jejum, indicando que somente as re-infestações domiciliares serão minimizadas. Esta resistência ao jejum permite que os insetos se refugiem nas fendas das paredes das casas por um longo tempo a fim de escapar dos inseticidas residuais (DIAS, 1965; VIEIRA, 1990), além de ajudar a manter a infestação nos habitats temporariamente abandonados (FELICIANGELLI *et al.*, 1980). A resistência ao jejum é de suma importância epidemiológica e afeta a sobrevivência da população, já que determina a capacidade de estar períodos longos da privação do alimento (PELLEGRINO, 1952).

RUAS-NETO & CORSEUIL (2002) realizaram um estudo sobre a biologia de três espécies silvestres do Rio Grande do Sul, *T. carvalhoi*, *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* alimentadas com sangue de pombos, baratas e lagartos, encontrando diferenças significativas entre as espécies.

Diversos outros autores ZELÉDON *et al.* (1970); COSTA & PERONDINI (1973); JURBERG & COSTA (1989); COSTA & JURBERG (1989); COSTA & MARCHON-SILVA (1998b); RUAS-NETO & CORSEUIL (2002); LUITGARDS-MOURA *et al.* (2005), realizaram extensos estudos sobre várias espécies de triatomíneos e analisaram esses aspectos biológicos. Neste sentido, as informações sobre a biologia de *T. carvalhoi* são relevantes, uma vez que essa

espécie vem sendo comumente encontrada invadindo domicílios no Rio Grande do Sul, entretanto não se pode conferir a esta o status de espécie domiciliada devido aos reduzidos números de coletas.

Estudos biológicos com enfoque sobre a capacidade vetorial são essenciais para a definição das ações de monitoramento e servem como base para as medidas de controle (PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, 1969; COSTA, 1999; SOARES *et al.*, 2000; OSCHEROV *et al.*, 2005).

Um dos maiores objetivos da ciência da classificação é agrupar os animais através de seus graus de semelhanças e/ou diferenças, inerentes a cada grupo específico. Através da morfologia, a ciência tem conseguido esta finalidade de uma maneira geral. Entretanto, é sabido que em muitos casos tais diferenças morfológicas em determinadas espécies podem significar a existência de “complexos de espécies”, formados por duas, três ou mais “espécies crípticas”, que dificilmente são distinguíveis pelos recursos da taxonomia clássica e/ou morfológica. Assim, o estudo detalhado das estruturas externas de diversos artrópodes permite a oportunidade ímpar de analisar de forma global e continuada, as configurações morfológicas destes visando verificar padrões morfológicos que proporcionem o correto diagnóstico das espécies.

A microscopia eletrônica de varredura tem demonstrado excelentes resultados, surgindo como uma metodologia de estudo complementar da taxonomia morfológica clássica, uma vez que estruturas como, diversas cerdas, textura de tegumento, presença de poros, e outras não visíveis através da microscopia ótica, estão enfim podendo ser contempladas. Adicionalmente, através de programas acoplados aos microscópios, é possível realizar mensurações com grande precisão. Esta metodologia tem-se mostrado uma importante ferramenta morfológica nos estudos taxonômicos dos triatomíneos, sendo utilizada por autores como BARATA (1981); SETTEMBRINI (1984); GONÇALVES *et al.* (1985); CATALÁ (1994); COSTA *et al.* (1997); CAHET *et al.* (1999); ROSA *et al.* (1995, 2000); JURBERG *et al.* (2002); CARBAJAL DE LA FUENTE & CATALÁ (2002); SILVA *et al.* (2000, 2003); CHAVES & ANEZ (2003); WEIRAUCH (2003).

BARATA (1995) enfatizou a importância dos ovos para a identificação das espécies de triatomíneos. No gênero *Triatoma* há uma grande variabilidade nos caracteres dos ovos, tanto em nível macroscópico quanto exocorial, o qual o padrão mais freqüente apresenta células hexagonais com linhas limitantes indeterminadas, com perfurações esparsas de tamanho e formas variáveis. Tal caráter é tipicamente detectado em dez espécies, sendo uma delas *Triatoma rubrovaria*.

Como se sabe, durante o monitoramento e levantamento das populações de vetores é freqüente o encontro de ovos, exocórios de ovos e exúvias. Sendo o detalhamento de informações morfológicas de importância para uma maior precisão na identificação de material oriundo do campo.

A morfometria dos triatomíneos, principalmente das espécies de maior importância epidemiológica, têm sido estudadas por alguns autores como CARBAJAL DE LA FUENTE & CATALÁ (2002) e SILVA *et al.* (2003), para ampliar os conhecimentos básicos sobre os vetores da doença de Chagas. Esta ferramenta associada à morfologia pode contribuir na identificação e caracterização de espécies com potencialidade vetorial, que durante os trabalhos de campo podem ser confundidas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção e manutenção dos insetos

Foram utilizados exemplares de cinco espécies do gênero *Triatoma*: *T. brasiliensis*, *T. petrochiae*, *T. carcavalloi*, *T. rubrovaria* e *T. circummaculata*.

As colônias de *T. brasiliensis* e *T. petrochiae* foram formadas com espécimes coletados no ecótopo natural e artificial, em Setembro de 1996 no estado do Rio Grande do Norte, região de Seridó, no município de Caicó (-06° 27' 30", 37°05' 52") (Figura 6). As colônias de *T. carcavalloi*, *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* foram iniciadas com espécimes coletados no ecótopo natural e no peridomicílio, em dezembro de 2000 e outubro de 2005, no Estado do Rio Grande do Sul, em Encruzilhada do Sul (30°32'38"S;52°31'19"O), localidade de Cordilheira (Figura 7).

Todas as colônias foram mantidas em condições estáveis de temperatura e umidade, em estufa BOD a 29°C e 80% UR, com foto período de 12 horas e estabelecidas no Setor de Morfologia e Ultraestrutura de Artrópodes, do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. As criações permaneceram em frascos plásticos com tampas perfuradas, contendo internamente papel de filtro sanfonado com o objetivo de aumentar a superfície de contato e a possibilidade de refúgio, bem como retirar o excesso de umidade. Semanalmente as colônias foram alimentadas em sangue de camundongo suíço, previamente anestesiados.



Figura 6- Estado do Rio Grande do Norte (Brasil). Em destaque o município de Caicó, local de coleta de *T. brasiliensis* e *T. petrochiae*. Escala - 1:75000.



Figura 7- Estado do Rio Grande do Sul (Brasil). Em destaque o município de Encruzilhada do Sul, local de coleta de *T. carcavalloi*, *T. rubrovaria* e *T. circummaculata*.
Escala - 1:75000

3.2 Morfologia

3.2.1 Observações ao microscópio óptico

Para observação das antenas, manchas pós-ocelares e patas, cinco machos e cinco fêmeas foram dissecados. As estruturas montadas em lâminas, observadas em microscópio estereoscópico, modelo Stemi SV 11(Zeiss) e posteriormente fotografadas no Laboratório de Imagens do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

Os fragmentos do corpo dos ovos (n=5) e dos opérculos (n=5) eclodidos foram montados entre lâmina e lamínula com fenol e observados ao microscópio óptico Zeiss Germany Axioscop, no aumento de 40X.

3.2.2 Observações ao microscópio eletrônico de varredura

Espécimes adultos, machos (n=5) e fêmeas (n=5), foram dissecados para a remoção das estruturas a serem analisadas: cabeça, antenas, rostró, búcua, sulco estridulatório e patas com detalhes do ápice da tíbia, fosseta esponjosa e ctenídeo. Posteriormente, as estruturas foram fixadas a uma fita dupla-face aderida a um suporte metálico. Em seguida, foram pulverizados com ouro, em aparelho Balzers a alto vácuo, para serem observados e fotografados a 15 -20 KV, nos aumentos de 35X, 100X, 200X, 300X, 750X, 1000X e 2000X.

Para as observações dos ovos (n=5) e opérculos (n=5), estes também foram fixados a uma fita dupla-face aderida ao suporte metálico e pulverizados com ouro para serem observados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura, nos aumentos de 750X e 1000X.

Foram utilizados os microscópios eletrônicos de varredura modelos DSM 940 (Zeiss) e JSM 5310 (Jeol), no Laboratório de Ultraestrutura Hertha Meyer, do IBCCF°, Universidade Federal do Rio de Janeiro e no Dep. de Ultraestrutura e Biologia Celular, do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, respectivamente.

3.2.3 Descrição do alótipo de *Triatoma carcavallo*

O exemplar designado como alótipo foi coletado em 28 de outubro de 2005 e proveio do estado do Rio Grande do Sul, município de Encruzilhada do Sul (30°32'38"S;52°31'19"O), localidade de Cordilheira, no peridomicílio. Toda a diagnose realizada neste triatomíneo foi observada ao microscópio estereoscópico, modelo Stemi SV 11(Zeiss), estando descrita em detalhes no manuscrito constante no anexo 3 desta dissertação. Esse alótipo foi depositado na Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

3.3 Estudo Morfométrico dos Ovos

Para o estudo morfométrico foram separados aleatoriamente o corpo (n=30) e opérculos (n=30) dos ovos de *T. petrochiae*, *T. carcavallo*, *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* além dos opérculos (n=30) de *T. brasiliensis brasiliensis* e fixados a uma fita dupla-face aderida a uma lâmina de vidro, para posterior observação ao microscópio estereoscópico, modelo Stemi SV 11(Zeiss), nos aumentos de 1,0X, 1,6X e 6,6X.

Os ovos foram analisados comparativamente quanto à sua dimensão e o número de perfurações presentes nas células do ovo e opérculo e suas estruturas e ornamentações desenhadas ao microscópio óptico citado, acoplado com câmara clara.

3.4 Biologia de *Triatoma carcavallo*

Neste estudo, apenas a espécie *T. carcavallo* foi estudada.

Para a verificação do período de incubação dos ovos, assim que as fêmeas realizaram as posturas, os ovos (n=60) foram transferidos para frascos de Borrel contendo papel de filtro e vedados com náilon. As observações foram efetuadas diariamente até a ocorrência de eclosão.

Para a análise da resistência ao jejum, os repastos sangüíneos dos triatomíneos foram realizados semanalmente, em camundongos suíços, previamente anestesiados, no período de 60 a 80 minutos. Logo que os espécimes realizaram a muda, foram acondicionados em frascos de Borrel, assim como o procedimento anterior. Estas observações foram realizadas diariamente no período entre a muda e a morte do inseto.

No estudo para verificação da ocorrência do primeiro repasto foi separado um ovo em cada frasco de Borrel (n=30). Ocorrida à eclosão dos ovos, foi oferecida a cada ninfa alimentação sangüínea em camundongos suíços, previamente anestesiados, por um período de 10 minutos, diariamente, até ocorrer o repasto.

Na avaliação do período de intermuda foram separados cinco frascos de plástico com tampas perfuradas, contendo papel de filtro sanfonado. Em cada frasco foi agrupado um estágio diferente de desenvolvimento ninfal na mesma data. Foram utilizados 50 exemplares para cada estágio. Neste experimento, a alimentação foi realizada quinzenalmente, deixando-se que estes sugassem até a repleção. Esse parâmetro biológico é apresentado neste estudo como sendo o número de dias ocorridos entre as ecdises. O período de desenvolvimento ninfal é considerado aqui como os dias ocorridos entre o dia da eclosão do ovo até a muda imaginal.

4 RESULTADOS

Na presente dissertação, cinco espécies do gênero *Triatoma* de diferentes potencialidades na transmissão da doença de Chagas foram estudadas. Duas espécies são da Região Nordeste: *Triatoma petrochiae* e *Triatoma brasiliensis*, e as outras três da Região Sul: *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* e *Triatoma circummaculata*. Utilizamos a morfologia, a morfometria e a biologia, com o objetivo de ampliar o conhecimento destas espécies, os quais são de importância para o desenvolvimento das ações de controle destes vetores.

Este estudo resultou na preparação de cinco artigos: o primeiro e o segundo prontos para serem entregues para publicação e o terceiro em fase de finalização. Estes, portanto, encontram-se anexados na forma em que serão submetidos às revistas. O quarto e o quinto artigo estão em fase de preparação, relacionando-se a observações sobre morfologia através da microscopia óptica e eletrônica de varredura para a espécie *T. carcavalloi*, bem como sobre a biologia desta espécie, respectivamente, e serão descritos posteriormente, sob a forma de texto corrido.

4.1 Morfologia e Morfometria

No primeiro artigo (Anexo 1), foram abordadas comparações entre *T. petrochiae*, que é uma espécie silvestre, e uma espécie similar *Triatoma brasiliensis*, atualmente considerado o vetor mais importante de *T. cruzi* nas áreas semi-áridas do nordeste do Brasil. Através da morfometria e da microscopia eletrônica de varredura foram evidenciadas diferenças significativas no corpo e no opérculo dos ovos de *T. petrochiae* (Figura 8) e *T. brasiliensis*. Foram também ilustradas as diferenças morfo-estruturais dos adultos na região cefálica, como antenas, olhos, rosto, búcua e sulco estridulatório. As análises realizadas corroboram com estudos anteriores confirmando os *taxa* específicos.

No segundo artigo (Anexo 2) foram analisados o corpo e o opérculo dos ovos de *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* e *Triatoma circummaculata*, consideradas espécies silvestres e que vivem em simpatria. *T. rubrovaria*, atualmente é considerado o vetor mais importante de *T. cruzi* nas áreas rurais do Rio Grande do Sul, seguido por *T. circummaculata*. Através da microscopia eletrônica de varredura e da morfometria foram evidenciadas diferenças significativas nestas estruturas nas três espécies.

Através da microscopia óptica, foram realizadas observações em exemplares machos e fêmeas de *T. carcavalloi*. Na análise morfológica das antenas verificamos a ocorrência tanto em machos quanto em fêmeas de mais de 14 tricobótrias, no terceiro e quarto artigos antenais (Figuras 9A, 9B). Na cabeça visualiza-se a presença de 1+1 manchas pós-ocelares (Figuras 9C, 9D). Nas patas, foi encontrado um par de denticulos subapicais nos fêmures de ambos os sexos (Figura 10A a 10F). As fossetas esponjosas foram encontradas somente nos machos, nas tíbias das patas anteriores (Figura 11A) e medianas (Figura 11C) estando ausentes nas fêmeas (Figura 11 B, 11D) e nas tíbias das patas posteriores de ambos (Figura 11 E, 11F).

Os resultados relacionados aos estudos morfológicos realizados em *T. carcavalloi* evidenciaram que algumas estruturas são importantes para a caracterização específica, como: búcua, rosto e sulco estridulatório. Os resultados obtidos através da microscopia eletrônica de varredura demonstram que a búcua dos exemplares desta espécie é em forma de “U” com uma borda grossa e superfície granular. A região anterior exibe acentuadas pregas tanto nas fêmeas quanto nos machos. A região central apresenta uma fenda nas fêmeas, caráter ausente nos machos (Figuras 12A, 12B). O rosto é similar nas fêmeas e nos machos (Figuras 12C, 12D), onde 1+1

fendas laterais foram observadas no ápice. Este, de formato losangular, apresenta uma lamela inferior e outra superior em forma de dígito. O sulco estridulatório é em forma de “V” apresentando-se mais largo nas fêmeas do que nos machos (Figuras 12E, 12F). Observa-se uma depressão em sua região central com estrias paralelas, sendo lateralmente delimitado em toda sua borda por papilas e sensilas. Estes resultados fazem parte do quarto artigo em preparação.

4.2 Descrição do alótipo

No terceiro artigo é descrito o alótipo macho de *T. carcavalloi* com uma abordagem da genitália externa (Anexo3).

4.3 Biologia de *T. carcavalloi*

Para o parâmetro biológico do período de incubação dos ovos, os dados obtidos em *T. carcavalloi* relatam que o período médio de incubação destes foi de 22,7 dias, com o mínimo de 21 e o máximo de 26 dias. Dos 60 ovos obtidos, 38,3% eclodiram (Tabela 1). É importante destacar que os ovos que não eclodiram eram férteis, pois a coloração foi à mesma em todos os ovos, mas por algum motivo, ou seja, pelo fator da temperatura ou umidade ter sofrido pequenas alterações durante o experimento e esses fatores exercerem influência direta em seu desenvolvimento ou por um outro desconhecido, não houve a eclosão de todos os ovos.

O período de análise da ocorrência do primeiro repasto das ninfas do primeiro estágio de *T. carcavalloi* foi de 24 dias. Os resultados obtidos para o primeiro dia de repasto tiveram uma média de 3,13 dias após a eclosão, com no mínimo de um dia e no máximo de cinco dias e a maior ocorrência foi com dois e quatro dias.

Neste estudo, o período de intermuda entre as ninfas desta espécie é apresentado como sendo o número de dias ocorridos entre as ecdises para cada estágio ninfal (N1 a N5), do primeiro dia da eclosão do ovo até a muda imaginal. Das 50 ninfas de cada estágio utilizadas para o início do experimento, oito morreram antes de tornar adulto: três N1, quatro N2 e uma N3. A menor média de dias foi entre N1-N2 com 18,52 e a maior média foi entre N5-Adulto com 191,26 (Tabela 2). Foi observado que as ninfas de quinto estágio precisam de vários repastos sangüíneos para efetuar a ecdise, que ocorre com mais de um ano.

Os resultados logrados na resistência ao jejum de todos os estágios ninfais e adultos (machos e fêmeas) desta espécie indicam que as ninfas de 2º, 3º, 4º e 5º estádios apresentaram maior resistência do que os adultos, enquanto os machos mostraram comportamento similar aos das ninfas de primeiro e segundo estádios, sendo menos resistentes do que as fêmeas (Tabela 3).

Durante os experimentos os insetos foram mantidos em temperatura média de 26°C e umidade relativa de 70%.

Tabela 1: Período de incubação dos ovos de *Triatoma carcavalloei* (dias).

Postura	Quantidade total de ovos/dia	Nº de ovos eclodidos	Período de Incubação
1 ^a	10	03	24
		01	26
2 ^a	10	01	21
		01	23
3 ^a	17	04	21
		01	23
		03	24
4 ^a	01	-	-
	20	03	21
5 ^a		03	22
		01	23
		01	25
6 ^a	02	01	23
TOTAL	60	23	26

Tabela 2 – Período de intermuda de *Triatoma carcavalloei* (dias).

Estádios	N	Amplitude			S	S ²
		Mínimo	Máxima	Média		
1 ^o	50	04	24	18,52	2,34	5,48
2 ^o	47	09	61	62,36	18,08	326,89
3 ^o	43	15	43	87,60	18,40	338,73
4 ^o	42	15	56	120,34	38,19	1458,27
5 ^o	42	21	75	191,26	71,51	5113,50

N = nº de exemplares; S = desvio padrão; S² = variância

Tabela 3 – Resistência ao jejum de *Triatoma carvalhoi* (dias).

Estádios	N	Amplitude de dias			S	S ²
		Mínimo	Máximo	Média		
N1	50	15	59	37	15,52	240,73
N2	50	10	116	50	29,72	883,47
N3	50	03	128	65,5	37,54	1409,48
N4	50	58	210	134	54,25	2943,02
N5	50	07	185	146	43,08	1855,92
♀	30	21	81	61	18,30	334,83
♂	30	04	81	42,5	18,24	332,74

N = n° de exemplares; S = desvio padrão; S² = variância

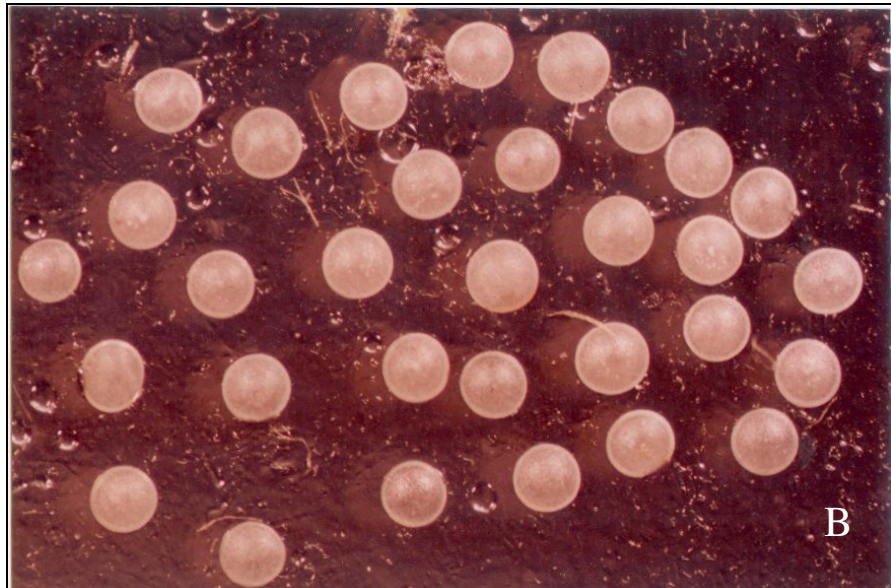
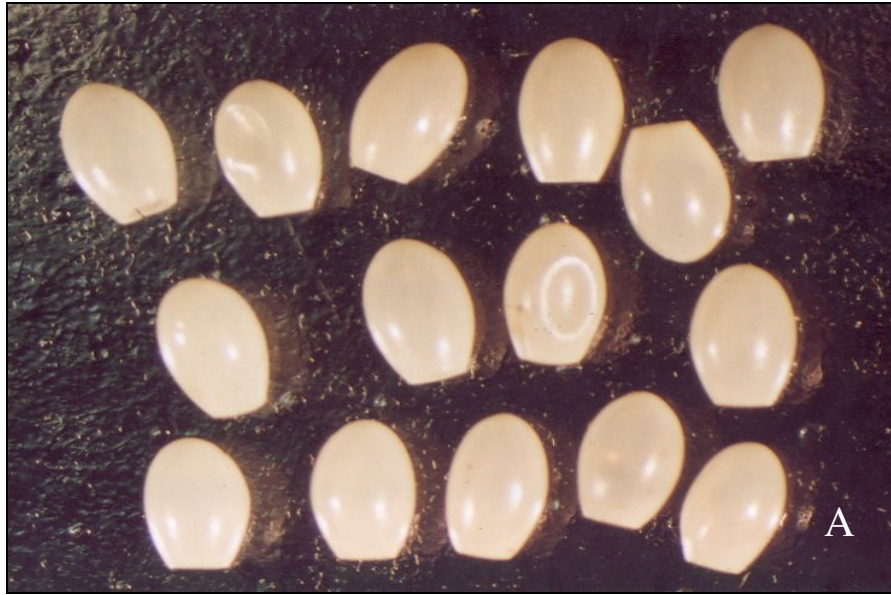


Figura 8 – Microscopia óptica de ovos de *Triatoma petrochiae*. A – Corpo do ovo, B – Opérculo.

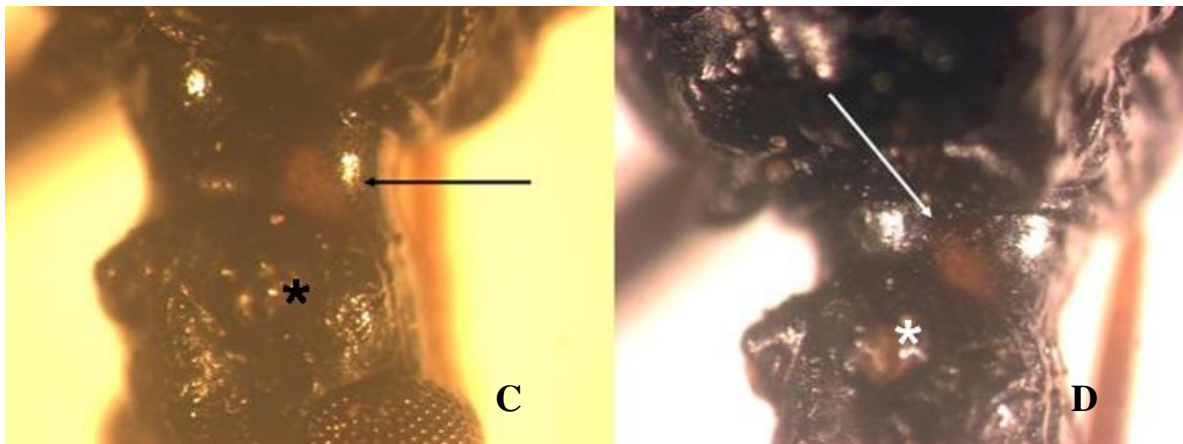
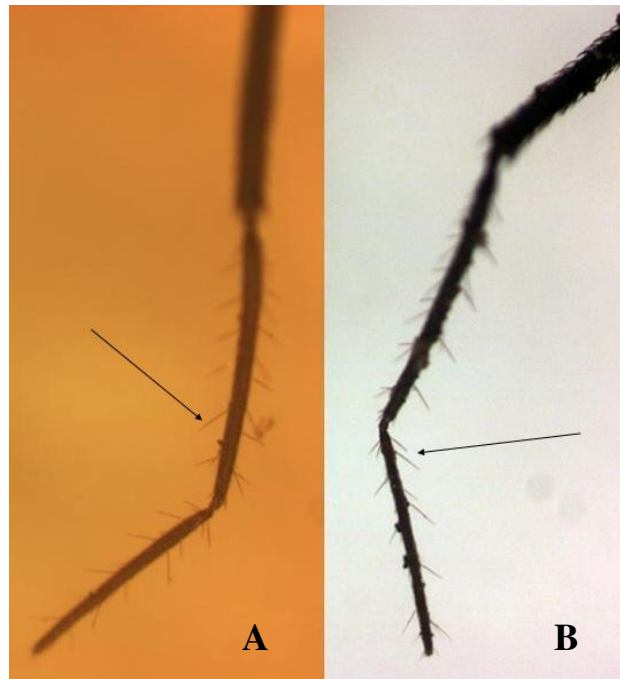


Figura 9 – *Triatoma carcavalloi* - Estruturas morfológicas observadas através da Microscopia óptica. A – Tricobótrias (seta) no terceiro e quarto artículos antenais de machos – 3X, B – Tricobótrias (seta) no terceiro e quarto artículos antenais de fêmeas – 3X, C – Manchas pós-ocelares no macho (* = ocelo) - 6,3X, D - Manchas pós-ocelares na fêmea (* = ocelo) - 6,3X.

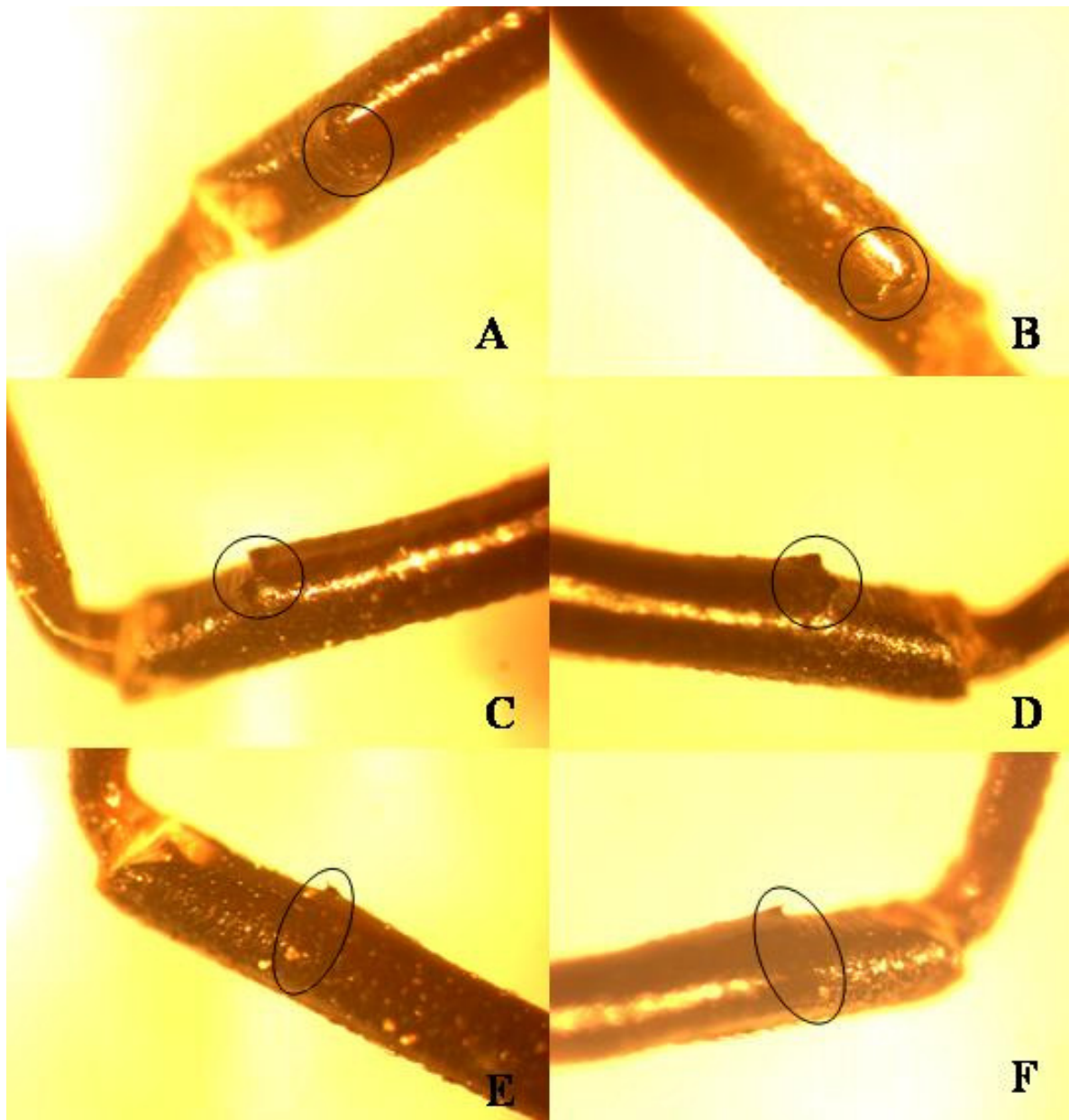


Figura 10 - *Triatoma carcavalloi* - denticulos subapicais nos fêmures de *T. carcavalloi*, visualizados através da Microscopia óptica. A, C, E – machos, B, D, F – fêmeas.



Figura 11 – *Triatoma carcavalloi* - Microscopia óptica de tíbias - 6,3X. Fosseta esponjosa na pata anterior, A - macho, B –fêmea; Fosseta esponjosa na pata mediana, C - macho, D – fêmea; Ausência de fosseta esponjosa na pata posterior, E - macho, F – fêmea.

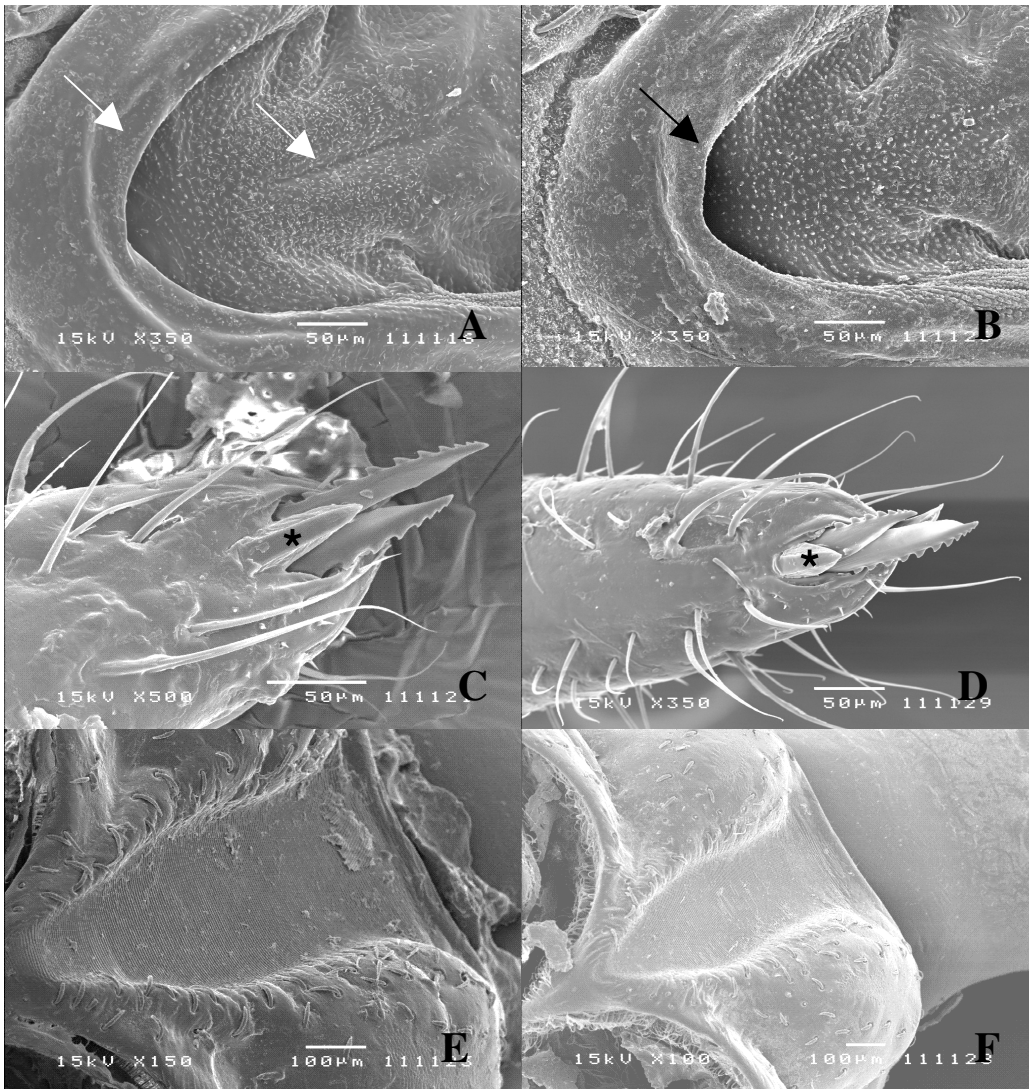


Figura 12 – Microscopia eletrônica de varredura de estruturas de *Triatoma carcavalloii* em vista ventral. A - Búcula (as setas mostram bordas grossas e uma fenda na depressão) nas fêmeas, B - Búcula (a seta mostra borda grossa) nos machos, C – Ápice do rosto nas fêmeas (* = placa apical), D - Ápice do rosto nos machos (* = placa apical), E - Proesterno e sulco estridulatório nas fêmeas, F - Proesterno e sulco estridulatório nos machos.

5 DISCUSSÃO

Até a década de 1960, a taxonomia dos triatomíneos usava como critérios básicos, os caracteres morfológicos externos e cromáticos, observados através da microscopia óptica, aliados às informações da distribuição geográfica (LENT & WYGODZINSKY, 1979). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem se mostrado uma importante ferramenta para uso na taxonomia, auxiliando na investigação e na análise de estruturas que permitem a diferenciação das espécies. Com a utilização desta técnica, detalhes de algumas estruturas da anatomia externa dos triatomíneos vêm sendo descritos com a finalidade de auxiliar no esclarecimento do status de espécies crípticas (CARCAVALLO *et al.*, 1998, SILVA *et al.*, 1999, 2000, 2002, 2003, JURBERG *et al.*, 2002). Atualmente na sistemática dos triatomíneos têm sido utilizadas também ferramentas moleculares na tentativa de ampliar o conceito específico e, especialmente, de reconstruir a filogenia da subfamília (HYPŠA *et al.*, 2002; GALVÃO, 2003; SCHAEFER, 2003; PAULA *et al.*, 2005). Entretanto, os caracteres morfológicos e morfométricos permanecem como ferramenta indispensável para os estudos sistemáticos.

BARATA (1995) enfatiza a importância da caracterização das espécies a partir dos ovos, uma vez que, durante as medidas de controle, monitoramento e levantamento das populações de vetores é freqüente o encontro de ovos, exócórios de ovos e exúvias sendo o detalhamento de informações morfológicas de suma importância para uma maior precisão na identificação de material coletado.

Os dados obtidos através da morfometria e da microscopia eletrônica de varredura evidenciando diferenças significativas no corpo e no opérculo dos ovos de *T. petrochiae* e *T. brasiliensis*, poderão servir de subsídios nos levantamentos triatomínicos visando observar e avaliar os vetores nas áreas endêmicas, uma vez que estas duas espécies habitam o mesmo ecótopo silvestre e são cromaticamente similares.

Além destes, a análise do corpo e do opérculo dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carvalhoi* e *T. circummaculata*, através da microscopia eletrônica de varredura e da morfometria, evidenciaram diferenças significativas nestas estruturas nas três espécies. Estes resultados servirão como dados nos monitoramentos dos vetores nas áreas endêmicas, uma vez que estas três espécies ocupam o mesmo ambiente silvestre.

Além das diferenças cromáticas e morfológicas entre *T. rubrovaria* e *T. carvalhoi* descritas por JURBERG *et al.* (1998) e de *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* descritas por ROSA *et al.* (1999), podemos comprovar neste estudo, através das diferenças morfológicas dos ovos que *T. rubrovaria*, *T. carvalhoi* e *T. circummaculata* são espécies distintas. Além disso, também observamos a distinção específica entre *T. brasiliensis* e *T. petrochiae* através da morfologia e morfometria de seus ovos.

O aspecto geral do exócório do opérculo do ovo de *T. rubrovaria*, *Triatoma carvalhoi* e *Triatoma circummaculata* são semelhantes à de *T. maculata* e de *T. brasiliensis*, conforme GONÇALVES *et al.* (1985) e JURBERG *et al.* (1986), respectivamente.

Há uma similaridade entre as estruturas anatômicas da região cefálica de *T. carvalhoi* quando comparada a *T. petrochiae*, onde as búculas destas apresentam a forma de “U”, mas ao cotejar com *T. brasiliensis* observa-se uma divergência, uma vez que esta estrutura possui a forma de “V” nesta espécie. Outra estrutura de importância taxonômica é o sulco estridulatório que se apresenta mais largo em *T. brasiliensis* e *T. carvalhoi* quando comparado a *T. petrochiae*. Dados da literatura, mostram a importância da comparação do rosto, búcula e sulco estridulatório, na análise destas estruturas presentes em grupos homogêneos de espécies, como

por exemplo *T. guazu* e *T. jurbergi*, ambas pertencentes ao complexo *oliverai* (SILVA *et al.*, 2003).

É importante destacar que a descrição morfológica dos ovos, cabeça, antenas, búcula, rostró e sulco estridulatório de *T. petrochiae* e *T. carcavallo* são inéditas na literatura, assim como a documentação por micrografias em microscopia eletrônica de varredura, enfatizando a importância destes dados na avaliação taxonômica.

A importância de se estudar parâmetros bionômicos sobre os triatomíneos em laboratório vem sendo destacada por diversos autores; seja para aumentar o conceito biológico de espécie, ou para melhorar as condições de criação em laboratório de diferentes vetores, independentemente de serem espécies de importância epidemiológica ou silvestre (GALVÃO *et al.*, 1996; COSTA & MARCHON-SILVA, 1998b).

As criações laboratoriais nas quais as condições climáticas pouco variam, são viáveis para a maioria das espécies. Embora com resultados variáveis, estes estudos são importantes como indicadores de comportamento. Observa-se geralmente nestas criações um encurtamento dos ciclos vitais, decorrentes da manutenção em temperaturas e umidades amenas e alimentação regular. Mesmo assim, fatores ainda não conhecidos permanecem prolongando o ciclo vital de algumas espécies. Uma possível causa seria a diapausa das ninfas de 5º instar, observada em algumas espécies silvestres (LENT & WYGODZINSKY, 1979).

O primeiro trabalho realizado em laboratório sobre o ciclo biológico de *T. carcavallo* foi publicado por RUAS-NETO *et al.* (2001). Neste trabalho os autores estudaram três espécies silvestres: *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavallo* e *Triatoma circummaculata* e as alimentaram com hemolinfa de blatódeos (baratas) com o intuito de avaliar o desenvolvimento ninfal. Esse estudo sugeriu que a alimentação com hemolinfa seja um processo natural para estas espécies de triatomíneos e provavelmente representa uma maneira de sobreviver em condições naturais. A dependência da hemolinfa é muito evidente em *T. circummaculata*, pois estes não se desenvolvem em laboratório como ninfa de primeiro estágio (N1) na ausência desta alimentação (RUAS-NETO & CORSEUIL, 2002; MARTINS *et al.*, 2006).

A domiciliação de diferentes espécies de Triatominae está associada a dois importantes fatores como a falta de alimento e a ação antrópica no ambiente.

De acordo com ARAGÃO (1983), um dos principais pré-requisitos seria o ecletismo alimentar, confirmado já para *T. rubrovaria* no Uruguai por SALVATELLA *et al.* (1994) que mostraram sua associação com diversos grupos diferentes dos vertebrados e dos invertebrados, em ambientes silvestres e por outros autores que comprovaram essa variabilidade alimentar para outras espécies silvestres, como *Triatoma carcavallo* e *Triatoma circummaculata* que se nutrem de hemolinfa de baratas, além de répteis, mencionados em outros estudos (RUAS-NETO *et al.*, 2001; PUIME & ROSA, 1995). Anterior a estes estudos, BRUMPT (1914) e RYCKMAN (1951) descreveram o primeiro registro de *Eratyrus mucronatus* alimentando-se em aranhas. Segundo SANDOVAL *et al.* (2004), isto poderia ser interpretado simplesmente como uma reflexão da disponibilidade do hospedeiro em seus habitats ou, de acordo com SCHOFIELD (2000) pode sugerir uma adaptação recente a uma estratégia de alimentação.

DI PRIMIO (1953) e RODRIGUES *et al.* (2005) realizaram experimentos biológicos com *T. rubrovaria* e mostraram a boa capacidade de manutenção das colônias em condições de laboratório. SILVA (1985) estudou a influência da temperatura na biologia de *T. rubrovaria*, estabelecendo neste estudo duas faixas de temperatura, 25°C e 30°C, com alimentação semanal, constatando-se uma maior rapidez de desenvolvimento à 30°C. Em nossos estudos verificou-se que a temperatura desempenhou influência no desenvolvimento de *T. carcavallo*, uma vez que as temperaturas eram mais altas, o desenvolvimento foi mais acelerado.

Os índices de eclosão dos ovos variam nas espécies do gênero *Triatoma*, e dependendo das condições laboratoriais podem variar até mesmo dentro da mesma espécie. Os índices de eclosão dos ovos de *T. carvalhoi* alcançados neste trabalho foram de 38,3%, considerados baixos em relação a outros autores como CABELLO & LIZANO (2001) onde para *T. pallidipennis* o índice de eclosão dos ovos ficou em 93%, embora em relação a outros autores estes índices variaram de 60% a 80%. ROCHA *et al.* (2001) mostraram que a temperatura exerce influência não só no período de incubação como na taxa de eclosão dos ovos.

No presente estudo, os resultados obtidos em relação à procura pelo primeiro repasto das ninfas de primeiro estágio de *T. carvalhoi* foram bem semelhantes aos de GONÇALVES *et al.* (1997) que realizou este parâmetro biológico para *T. pseudomaculata*, tendo uma maior frequência no 2º e 4º dias.

O período de intermuda médio das ninfas de segundo estágio (N2) de *T. carvalhoi* foi mais longo do que das ninfas de terceiro estágio (N3). Sob circunstâncias de temperatura padronizadas, os triatomíneos tendem a exibir uma escala crescente de períodos de intermuda de N1 a N5, como foi observado por SILVA (1985) para *T. rubrovaria*. Entretanto, ALMEIDA *et al.* (2005) obtiveram um resultado equivalente ao observado neste estudo, pois o período de intermuda médio de N2 de *T. rubrovaria* foi mais longo do que em outros estádios.

GONÇALVES *et al.* (1989) estudaram a biologia de *T. vitticeps*, onde citam que a resistência ao jejum aumenta de acordo com a fase de desenvolvimento do triatomíneo, verificando em seus estudos que os machos resistiram por um tempo maior à falta de alimentação do que as fêmeas, sendo ambos menos resistentes do que as ninfas de segundo estágio. ALMEIDA *et al.* (2003) observaram que os machos de *T. rubrovaria* também são mais resistentes ao jejum do que as fêmeas e mostraram uma curva crescente de N1 a N5. Em nossos resultados para *T. carvalhoi*, houve uma discordância aos trabalhos citados acima, pois os machos mostraram comportamento similar aos das ninfas de primeiro e segundo estádios e menos resistentes do que as fêmeas, apesar de confirmar curva crescente de N1 a N5.

LENT & WYGODZINSKY (1979) indicaram que as ninfas (N1 a N5) toleram períodos mais longos ao jejum do que adultos. Entretanto, sugerem que os adultos dispersam mais fácil do que as ninfas, o que pode parcialmente compensar esta resistência mais baixa (FELICIANGELLI *et al.*, 1980).

Segundo CABELLO (2001), a habilidade dos triatomíneos de tolerar o jejum por períodos longos favorece sua capacidade de submeter-se a épocas severas da falta do alimento, assim como esconder em frestas de paredes, para escapar dos inseticidas residuais, o que aumenta sua sobrevivência.

A eficácia nas campanhas do controle a estes vetores pode ser afetada por sua resistência ao jejum, desde que permite a permanência destes em seus abrigos, livres do inseticida e às vezes de seu efeito residual, aumentando as possibilidades de uma possível re-colonização pelos indivíduos restantes (DIAS, 1965; PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, 1969; CORTEZ & GONÇALVES, 1998).

RUAS-NETO & CORSEUIL (2002) citam que em observações pessoais, situações experimentais indicaram que a capacidade vetorial de *T. carvalhoi* é tão alta quanto de *T. rubrovaria*, enquanto *T. circummaculata* infecta-se menos, possivelmente pela menor avidez em alimentar-se sobre os mamíferos.

6 CONCLUSÕES

1. O aspecto geral dos ovos das cinco espécies: *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi*, *T. circummaculata*, *T. brasiliensis* e *T. petrochiae* para o gênero *Triatoma* demonstra a existência de caracteres morfológicos bastante diferenciados entre elas, principalmente no que diz respeito à quantidade de perfurações presentes nas células dos corpos dos ovos e dos opérculos, comprovando que são espécies distintas.

2. A análise morfométrica dos ovos evidenciou padrões estáveis para cada um dos *taxa* analisados.

3. As análises morfométricas e as análises morfológicas de *T. brasiliensis* e *T. petrochiae* assim como as análises morfométricas e as análises morfológicas de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi*, *T. circummaculata* poderão servir de subsídios para que, durante os trabalhos de campo, visando o levantamento da densidade populacional destas espécies em suas respectivas regiões e/ou monitoramento das campanhas de controle, os ovos destas espécies não sejam confundidos, uma vez que habitam os mesmos ecótopos naturais e cromaticamente são similares.

4. As principais diferenças morfológicas existentes entre os machos e as fêmeas estão na búcua e no sulco estridulatório das espécies estudadas.

5. As observações das fossetas esponjosas em *T. brasiliensis* e a ausência das mesmas em *T. petrochiae* confirmaram estudos realizados anteriormente por LENT & WYGODZINSKY (1979).

6. *Triatoma petrochiae* é uma espécie morfológicamente diferente de *T. brasiliensis*, confirmando estudos anteriores, onde mostram *T. petrochiae* e *T. brasiliensis* como espécies distintas geneticamente.

7. O percentual de ovos férteis de *T. carcavalloi* é menor que *T. rubrovaria*, espécie encontrada na mesma região.

8. À resistência ao jejum de *T. carcavalloi* aumenta de acordo com a fase de desenvolvimento e os resultados obtidos sugerem que as fêmeas são mais resistentes que os machos.

9. Estes resultados ampliam o conceito específico de *T. carcavalloi* e *T. petrochiae* e criam subsídios para um monitoramento mais preciso de espécies invasoras dos ecótopos domiciliares, durante as campanhas de controle vetorial realizado pelas secretarias de saúde da região sul do país.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta dissertação foram realizados estudos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais com a finalidade de comparar cinco espécies do gênero *Triatoma*. Alguns parâmetros morfológicos relativos ao estudo do sulco estridulatório, búcua, rostro de *T. carcavallo* e *T. rubrovaria*, bem como o estudo morfométrico das cabeças e segmentos antenais de *T. carcavallo* mostrou resultados significativos. Entretanto, alguns parâmetros biológicos, como: diferença entre o número de ofertas e o número de alimentações, intervalo de tempo entre o oferecimento e o início do repasto, duração do repasto, quantidade de sangue ingerida (peso inicial - peso final), perda de peso até 24 horas após o repasto e até o próximo repasto, número de defecações por estágio, em um período de até 10 minutos após a alimentação (e durante a alimentação) e o tempo para cada estágio defecar, a distância percorrida da alimentação até a defecação e a dinâmica da evolução das ninfas e adultos que se alimentaram uma única vez (mortalidade e muda/período posterior à alimentação) são estudos que estão em andamento, e que pretendemos complementar.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA CE, VINHAES MC, ALMEIDA JR, SILVEIRA AC, COSTA J. Monitoring the domiciliary and peridomiciliary invasion process of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 95, p. 761-768, 2000.

ALMEIDA CE, PACHECO RS, NOIREAU F, COSTA J. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera: Reduviidae) I: Isoenzymatic and chromatic patterns of five populations from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97(6), p. 829-834, 2002a.

ALMEIDA CE, DUARTE R, NASCIMENTO RG, PACHECO RS, COSTA J. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) II: Trophic resources and ecological observations of five populations collected in the state of Rio Grande do Sul. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97(8), p. 1127-1131, 2002b.

ALMEIDA CE, FRANCISCHETTI CN, PACHECO RS, COSTA J. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera-Reduviidae-Triatominae) III: Patterns of feeding, defecation and resistance to starvation. Mem Inst Oswaldo Cruz v. 98(3), p. 761-768, 2003.

ALMEIDA CE, FOLLY-RAMOS E, AGAPITO-SOUZA R, MAGNO-ESPERANÇA G, PACHECO RS, COSTA J. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) IV: bionomic aspects on the vector capacity of nymphs. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 100(3), p. 231-235, 2005.

ANEZ N, VALENTA DT, CARSOLA D, QUICKE DJ, FELICIANGELI MD. Multivariate analysis discriminate species of Phlebotominae sand flies (Diptera; Psychodidae), *Lutzomyia townsendi*, *L. spinicrassa* and *L. young*. J Med Entomol, v. 34, p. 312-316, 1997.

ARAGÃO MB. Domiciliação de triatomíneos ou pré-adaptação à antropofilia e à ornitofilia? Rev Saúde Pública São Paulo, v. 17, p. 51-55, 1983.

ÁVILA-PIRES FD. Ecology of small mammals in relation to sylvan and domestic transmission cycles. In new approaches in american tripanosomiasis research. Pan American Health Organization Scientific Publication v. 318, p. 301-306, 1976.

BAR ME, MILANO AMF, DAMBORSKY MP, OSCHEROV EB, AVALOS G. Patrones de alimentación y de defecación de *Triatoma rubrovaria* (Heteroptera: Reduviidae) bajo condiciones de laboratorio. Rev Soc Entomol Argentina v. 63, p. 107-113, 2003.

BARATA JMS. Morphological aspects of Triatominae eggs. II - Macroscopic and exochorial characteristics of 10 species of the genus *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera - Reduviidae). Rev Saude Publica, v. 15(5), p. 490-542, 1981.

BARATA JMS. In Proc Inter workshop on population genetics and control of Triatominae, Ecuador, p. 55-58, 1995.

- BARATA JMS. Macroscopic and exocorial structures of Triatomines eggs (Hemiptera, Reduviidae). Estruturas macroscópicas e exocoriais de ovos de Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). In RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (orgs.), Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas, Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas, Fiocruz, Rio de Janeiro, v. II, p. 409-448, 1998.
- BRENER Z. Morfologia e ciclo evolutivo do *T. cruzi*. In: JCP Dias, JR Coura (orgs.), Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas, Editora FIOCRUZ, cap. 2, 1997.
- BRUMPT E. Le xénodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et em particulier à la Trypanosome de Chagas. Bull Soc Path Exot v. 7, p. 706-710, 1914.
- CABELLO DR. Resistance to Starvation of *Rhodnius neivai* Lent, 1953 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under Experimental Conditions. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 96(4), p. 587-591, 2001.
- CABELLO DR, LIZANO E. Biology of *Triatoma flavida* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae) under Laboratory Conditions. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 96 (6), p. 879-881, 2001.
- CAHET DMB, CARCAVALLO RU, BARBOSA HS, JURBERG J. Estudo morfológico das asas de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) vistas através de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V) e óptica. Entomol Vect, v. 6 (3), p. 236-263, 1999.
- CARBAJAL DE LA FUENTE AL, CATALÁ S. Relationship between antennal sensilla pattern and habitat in six species of Triatominae. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97 (8), p. 1121-1125, 2002.
- CARCAVALLO RU, GALVÃO C, LENT H. *Triatoma jurbergi* sp. n. do norte do estado do Mato Grosso, Brasil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) com uma atualização de sinônimas e outros táxons. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 93 (4), p. 459-464, 1998.
- CATALÁ S. The cave organ of Triatominae bugs. Mem Inst Oswaldo Cruz v. 89, p. 275-277, 1994.
- CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). Blood donor screening for Chagas disease-United States, 2006-2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, v. 56(7), p.141-143, 2007.
- CECERE MC, VAZQUEZ-PROKOPEC GM, GÜRTLER RE, KITRON U. Reinfestation sources for Chagas disease vector, *Triatoma infestans*, Argentina. Emerg Infect Dis, v. 12, p. 1096-1102, 2006.
- CHAGAS C. Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen. n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHAVES LF, AÑEZ N. Geometria de las células del exocorión de huevos de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 (Heteroptera: Reduviidae). *Entomotropica*, v. 18 (1), p. 1-5, 2003.

CORREA RR. Informe sobre a doença de Chagas no Brasil e em especial no estado de São Paulo. *Rev Bras Malariol Doen Trop*, v. 20, p. 39-81, 1968.

CORTÉZ MGR, GONÇALVES TCM. Resistance to starvation of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) under laboratory conditions (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 93 (4), p. 549-554, 1998.

COSTA J. The synanthropic process of Chagas disease vectors in Brazil, with special attention to *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) population, genetical, ecological, and epidemiological aspects. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 94 (Suppl. 1), p. 239-241, 1999.

COSTA J, ALMEIDA CE, DUJARDIN JP, BEARD CB. Crossing Experiments Detect Genetic Incompatibility among Populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 98, p. 637-639, 2003.

COSTA J, ALMEIDA JR, BRITTO C, DUARTE R, MARCHON-SILVA V, PACHECO R. Ecotopes, natural infection and trophic resources of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 93, p. 7-13, 1998a.

COSTA J, ARGOLO A, FELIX M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa (Online)*, v. 1385, p. 47-58, 2006.

COSTA J, BARTH OM, MARCHON-SILVA V, ALMEIDA CE, FREITAS-SIBAJEV MGR, PANZERA F. Morphological studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) genital structures and eggs of different chromatic forms. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 92 (4), p. 493-498, 1997a.

COSTA J, FELIX M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 102(1), p. 87-90, 2007.

COSTA J, FREITAS-SIBAJEV MG, MARCHON-SILVA V, PIRES MQ, PACHECO R. Isoenzymes detect variation in populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera-Reduviidae-Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 92, p. 459-464, 1997b.

COSTA J, MARCHON-SILVA V. Período de intermuda e resistência ao jejum de diferentes populações de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomol Vect*, v. 5 (1), p. 23-34, 1998b.

COSTA J, PETERSON AT, BEARD CB. Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, the most important Chagas. disease vector in northeastern Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Am J Trop Med Hyg*, v. 67, p. 516-520, 2002.

COSTA JM, JURBERG J. Estudos sobre a resistência ao jejum e aspectos nutricionais de *Cavernicola lenti* Barrett & Arias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 84, p. 129-137, 1989.

COSTA JM, PERONDINI ALP. Resistência do *Triatoma brasiliensis* ao jejum. Rev Saúde Pública, 7: 207-217, 1973.

CURTO DE CASAS SI, CARCAVALLO RU, GALÍNDEZ-GIRÓN I, BURGOS JJ. Bioclimatic factors and zones of life. Fatores bioclimáticos e zonas de vida. In: Atlas of Chagas disease vector in the Américas / Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas. (Carcavalo RU, Galíndez-Girón I, Jurberg J, Lent H, org.). Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, v. 3. p. 793-838, 1999.

DI PRIMO P. Atual distribuição geográfica dos triatomídeos e seus índices de infecção no Rio Grande do Sul. An Fac Med Porto Alegre, v. 17, p. 17-37, 1957.

DI PRIMIO P. Sobre o *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) no Rio Grande do Sul. Rev Medicina Rio Grande do Sul, p. 402-408, 1953.

DIAS JCP. Observações sobre o comportamento de triatomíneos brasileiros frente ao jejum, em laboratório. Rev Bras Malariol D Trop, v. 17, p. 55-63, 1965.

DIAS JCP. Epidemiologia. In Z Brener, ZA Andrade, M Barra-Neto. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.48-74, 2000.

DIAS JCP. Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado. Cad Saúde Pública v. 17 (Suppl.), p. 165-169, 2001.

DIAS JCP, COURA JR. Epidemiologia. In: *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral* (JCP Dias & JR Coura, org.), Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 33-66, 1997.

DIOTAIUTI L, FILHO OFF, CARNEIRO FCF, DIAS JCP, PIRES HHR, SCHOFIELD CJ. Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis*. Cad Saude Publica, v. 16 (Suppl. 2), p. 61-67, 2000.

DUPUIS C. Les genitalia des Hemiptères Hétéroptères. Mem Mus Nat Hist Natur, v. 6, p. 183-278, 1955.

DUPUIS C. Progrès récent de l'etude des genitalia des Hétéroptères (Etude bibliographique critique). Faculte des Sciences de l'Université, Paris, 100 p. [Thèse], Mus. Nat. Hist. Natur. Paris, 1963.

ESPÍNOLA. Reproductive isolation between *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 and *Triatoma petrochii* Pinto & Barreto, 1925. Rev Bras Biol v. 31, p. 277-281, 1971.

FELICIANGELI D, RABINOVICH J, FERNANDEZ E. Resistencia al ayuno em triatomíneos (Hemíptera, Reduviidae) Venezolanos. I. *Rhodnius prolixus* Stal. Rev Inst Trop São Paulo v. 22, p. 53-61, 1980.

FERREIRA ILM, SILVA TPT. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. Rev Soc Bras Med Trop v. 39 (5), p. 507-509, 2006.

FREITAS CA. Alguns aspectos da epidemiologia e profilaxia da doença de Chagas no Brasil. Rev Bras Malariol Doenças Trop, v. 26-27, p. 61-92, 1975.

GAJATE PP, BOTTAZI MV, PIETROKOVSKY SM, WISNIVESKY-COLLI C. Potential colonization of the peridomicile by *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in Santiago del Estero, Argentina. J Med Entomol, v. 33, p. 635-639, 1996.

GALLIARD H. Recherches sur les reduvidés hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. VIII. Le development de l'oeuf des triatomes a temperature constante. Ann Parasitol Hum Comp, v. 14, p. 97-112, 1936.

GALLIARD H. Recherches sur les reduvidés hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. IV - Organes génitaux femelles. Ann Parasitol Hum Comp, v. 13, p. 497-527, 1935.

GALVÃO AB. *Triatoma brasiliensis macromelasoma* n. subsp. (Reduviidae, Hemiptera). Rev Bras Malariol Doenças Trop, v. 7, p. 455-457, 1956.

GALVÃO, C. A Sistemática dos Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de De Geer ao DNA. Entomol y Vect, v. 10, n. 4, p. 511-530, 2003.

GALVÃO C, CARCAVALLO RU, ROCHA DS, JURBERG J. A checklist of the current valid species of subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa, v. 202, p. 1-36, 2003.

GALVÃO C, JURBERG J, LENT H. Resistência ao jejum de *Triatoma nitida* Usinger, 1939 em laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 91, n. 5, p. 639-640, 1996.

GARCIA BA, MORIYAMA EN, POWELL JR. Mitochondrial DNA sequences of triatomines (Hemiptera: Reduviidae): phylogenetic relationships. J Med Entomol v. 38, p. 675-83, 2001.

GARDNER G. Viagens no Brasil, principalmente nas províncias do norte e nos distritos do ouro e do diamante durante os anos de 1836-1842. Nacional, São Paulo, 2 ed. v. 223, p. 467, 1942.

GONÇALVES TCM. Aspectos ecológicos de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemíptera, Reduviidae), com caracterização das amostras de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) isoladas desse triatomíneo, no município de Santa Madalena, Estado do Rio de Janeiro, 125 p. [Tese], FIOCRUZ, 2000.

GONÇALVES TCM, CUNHA V, OLIVEIRA E, JURBERG J. Alguns aspectos da biologia de *Triatoma pseudomaculata* Côrrea & Espínola, 1964, em condições de laboratório (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 92 (2), p. 275-280, 1997.

GONÇALVES TCM, JURBERG J, COSTA JM, SOUZA W. Estudo morfológico comparativo de ovos e ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Côrrea & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 80 (3), p. 263-276, 1985.

GONÇALVES TCM, VICTÓRIO VMN, JURBERG J, CUNHA V. Biologia do *Triatoma vitticeps* Stal, (1859) em condições de laboratório (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) – II. Resistência ao jejum. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 84 (1), p. 131-134, 1989.

HUTCHESON HJ, OLIER JHJR, HOUCK MA, STAUSS RE. Multivariate morphometric discrimination of nymphal and adult forms of the blacklegged tick (Acari-Ixididae), a principal vector of Lyme disease in Aestern North America. J Med Entomol, v. 32, p. 827-843, 1995.

HYPSA V, TIETZ D, ZRZAVY J, REGO RO , Galvão C, JURBERG J. Phylogeny and Biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. Mol Phylog Evol, v. 23, n. 3, p. 447-457, 2002.

JURBERG J. A taxonomia dos Triatomíneos baseada nas estruturas fálicas (Hemiptera, Reduviidae). 59 p. [Tese], UFRRJ, 1996.

JURBERG J, COSTA JM. Estudos sobre a resistência ao jejum e aspectos nutricionais de *Triatoma lecticularia* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 84, p. 393-399, 1989.

JURBERG J, GALVÃO C, NOIREAU F, CARCAVALLO RU, ROCHA DS, LENT H. Uma Iconografia dos Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae). Entomol y Vect, v. 11, n. 1, p. 457-494, 2004.

JURBERG J, GONÇALVES TCM, COSTA JM, SOUZA W. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 81(1), p. 111-120, 1986.

JURBERG J, ROCHA DS, LOROSA ES, VINHAES M, LENT H. Uma nova espécie de *Triatoma* do estado do Rio Grande do Sul (Hemiptera, Reduviidae). Entomol Vect, v. 5 (6), p. 295-310, 1998.

JURBERG J, SILVA MBA, GALVÃO C, ROCHA DS, BARBOSA HS, CARCAVALLO R. Descrição dos ovos e dos estádios ninfais de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 vistos através de microscopia óptica e eletrônica de varredura (Hemiptera, Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97 (2), p. 209-216, 2002.

LENT H. Transmissores da moléstia de Chagas no estado do Rio de Janeiro. Rev F de Medicina v. 6, p. 3-13, 1942.

- LENT H. Evolução dos conhecimentos sobre vetores da doença de Chagas, 90 anos após sua descoberta. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 94, p. 89-92, 1999.
- LENT H, JURBERG J. A genitália externa dos machos no complexo *Triatoma phyllosoma* (Burm.) espécies mexicanas transmissoras da doença de Chagas (Hemiptera, Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 77, p. 299-317, 1982.
- LENT H, WYGODZINSKY P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. Bull American Mus Nat Hist v. 163, p. 125-520, 1979.
- LEON LA. Contribucion a la historia de los transmissores de la enfermedad de Chagas (Del siglo XVI a XIX). Anais Congresso Internacional sobre doença de Chagas 3, Rio de Janeiro, p. 761-770, 1962.
- LUCENA DT. Epidemiologia da doença de Chagas no Rio Grande do Norte. I. A fauna Triatomínea. Rev Bras Malariol D Trop v. 14, p. 237-248, 1962.
- LUCENA DT. Estudos sobre a doença de Chagas no Brasil. Rev Bras Malariol D Trop, v. 22, p. 3-173, 1970.
- LUITGARDS-MOURA JF, VARGAS AB, ALMEIDA CE, MAGNO-ESPERANCA G, AGAPITO-SOUZA R, FOLLY-RAMOS E, COSTA J, TSOURIS P, ROSA-FREITAS MG. A *Triatoma maculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) population from Roraima, Amazon region, Brazil, has some bionomic characteristics of a potential Chagas disease vector. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, v. 47(3), p. 131-7, 2005.
- LUZ C, FARGUES J, GRUNEWALD J. Development of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) under constant and cyclic conditions of temperature and humidity. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 94, p. 403-409, 1999.
- MARTINS LPA, CASTANHO REP, CASANOVA C, CARAVELAS DT, FRIAS GT, RUAS-NETO AL, ROSA JA. Triatomíneos rupestres infectados por Trypanosomatidae, coletados em Quaraí, Rio Grande do Sul, 2003. Rev Soc Bras Med Trop, v. 39(2), p. 198-202, 2006.
- MONTEIRO FA, COSTA J, SOLÉ-CAVA AM. Genetic confirmation of the specific status of *Triatoma petrochii* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Ann of Trop Med & Parasitol 92: 897-900, 1998.
- MONTEIRO FA, DONNELLY MJ, BEARD CB, COSTA J. Nested clade and phylogeographic analyses of the Chagas disease vector *Triatoma brasiliensis* in Northeast Brazil. Mol Phylogenet Evol, v. 32, p. 46-56, 2004.
- MORAES RG. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: Parasitologia e Micologia Humana – 4 ed. Cultura Médica, Rio de Janeiro, p. 753, 2000.

MOREIRA CJC, SPATA MCD. Dynamics of evolution and resistance to starvation of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Reduviidae: Triatominae), submitted to two different regimens of food deprivation. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97 (7), p. 1049-1055, 2002.

NEIVA A. Informações sobre a biologia da Vinchuca, *Triatoma infestans* Klug. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 5, n. 1, p. 24-31, 1913.

NEIVA A, PINTO C. Estado actual dos conhecimentos sobre o gênero *Rhodnius* Stal, com a descrição de uma nova espécie. Brasil Méd, v. 37, p. 20-24, 1923.

OBARA MT, BARATA JMS, SILVA NN, JÚNIOR WC, URBINATTI PR, ROSA JA, JURBERG J, GALVÃO C. Estudo de ovos de quatro espécies do gênero *Meccus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), vetores da doença de Chagas. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 102, p. 13-19, 2007.

OLIVEIRA G. Isolamento do *Trypanosoma cruzi* e outras noções concernentes à moléstia de Chagas no Rio Grande do Sul (nota prévia). Brasil Méd, v. 34, n. 9, p. 142-143, 1920.

OLIVEIRA-LIMA JW, FILHO OFF, VIEIRA JBF, GADELHA FV, FILHO AMO. Alterações do peridomicílio e suas implicações para o controle do *Triatoma brasiliensis*. Cad Saúde Pública, v. 16, Sup. 2, p. 75-81, 2000.

OSCHEROV EB, BAR ME, DAMBORSKY MP, MILANO AMF. Estadísticos poblacionales de *Triatoma rubrovaria* en condiciones de laboratorio. Rev Saúde Pública, v. 39, n. 2, p. 211-216, 2005.

OSCHEROV EB, BAR ME, DAMBORSKY MP, MILANO AMF. Tablas de vida de fecundidad de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Heteroptera: Reduviidae) em condiciones experimentales. In: Jornadas de Comun. Cient. y Tecnol. Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina, 2004.

PANZERA F, DUJARDIN JP, NICOLINI P, CARACCIO MN, ROSE V, TELLEZ T, BERMUDEZ H, BARGUES MD, MAS-COMA S, O'CONNOR JE, PEREZ R. Genomic changes of Chagas disease vector, South America. Emerg Infect Dis, v. 10, p. 438-446, 2004.

PAPAVERO N, MARTINS UR. Itens da publicação taxonômica. In: *Fundamentos práticos de taxonomia zoológica* (N. Papavero org.), São Paulo: Fundação Editora UNESP (FEU), p. 69-106, 1994.

PAULA AS, DIOATIUTI L, SCHOFIELD CJ. Testing the sister-group relationship of the Rhodniini and Triatomini (Insecta: Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mol Phyl Evol v. 35, p. 712-718, 2005.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ A. A eficácia do expurgo domiciliário com hexaclorociclohexana no controle do vetor da doença de Chagas (a importância de alguns característicos biológicos dos triatomíneos no planejamento do ciclo de aplicação do inseticida). Rev Bras Malariol Doen Trop, v. 6, p. 63-100, 1954.

- PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ A. Estudos sobre a biologia do *Triatoma infestans*, o principal da doença de Chagas no Brasil (importância de algumas de suas características biológicas no planejamento de esquemas de combates a esse vetor). Rev Bras Malariol Doen Trop, v. 21, p. 117-159, 1969.
- PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ A, MULLER CA, MOREIRA CJC. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiasis of hosts with Chagas' disease. 3. On the interaction of vector species and parasite strain in the reaction of bugs to infection by *Trypanosoma cruzi*. Rev Saúde Pública, v. 22, p. 390-400, 1988.
- PELLEGRINO J. Observações sobre a resistência do *Triatoma infestans* ao jejum. Rev Brasil Biol, v. 12, p. 317-320, 1952.
- PINTO C. Valor do rostrum e das antenas na caracterização dos triatomíneos. Boletim Biológico, v. 19, p. 45-137, 1931.
- PUIME A, ROSA R. Predadores, parasitos y parasitoides de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) en Uruguay. Bol Soc Zool Uruguay, v. 9 (segunda época), p. 48-55, 1995.
- RYCKMAN RE. Recent observations of cannibalism in *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae). J Parasitol v. 37, p. 433-434, 1951.
- ROCHA DS, JURBERG J, CARCAVALLO RU, PRESGRAVE OAF, CUNHA V, GALVÃO C. Influência da temperatura e umidade no desenvolvimento ninfal de *Rhodnius robustus*. Rev Saude Publica, v. 35(4), p. 400-406, 2001.
- ROCHA DS, SANTOS CM, CUNHA V, JURBERG J, GALVÃO C. Ciclo biológico em laboratório de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), potencial vetor silvestre da doença de Chagas na Amazônia. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 99 (6), p. 591-595, 2004.
- ROSA JA. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de 1º e de 5º estádios de *Triatoma circummaculata* (Stal, 1859) e de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae). [Tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1995.
- ROSA JA, BARATA JM, SANTOS JLF, CILENSE M. Morfologia dos ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). Rev Saude Publica 34, v. (5), p. 538-542, 2000.
- ROSA JA, BARATA JMS, CILENSE M, NETO FMB. Head morphology of 1st and 5th instar nymphs of *Triatoma circummaculata* and *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). Int J Insect Morphol Embriol v.28, p. 363-375, 1999.

RUAS-NETO AL, CORSEUIL E. Hábitos, Distribuição Geográfica e Potencialidade dos triatomíneos rupestres como vetores da doença de Chagas no Rio Grande do Sul, Brasil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Entomologia y Vectores*, v. 9, n. 2, p. 231-249, 2002.

RUAS-NETO AL, CORSEUIL E, CAVALLERI, A. Development of rupestrian triatomines (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) following hemolymphagy on blaberids (Blattodea: Blaberidae) in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Entomologia y Vectores*, v. 8, n. 2, p. 205-216, 2001.

SAINZ AC, MAURO LV, MORIYAMA EN, GARCIA BA. Phylogeny of triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* suggested by mitochondrial DNA sequences. *Genetica*, v. 121, p. 229-40, 2004.

SALVATELLA R, BASMADJIAN Y, ROSA R, MARTINEZ M, MENDARO G, CIVILA E. Hallazgo de *Triatoma platensis* Neiva, 1913 (Hemiptera, Triatominae) en el estado brasileño de "Rio Grande do Sul". *Rev Inst Med Trop São Paulo*, v.33, n.1, p.1-5, 1991.

SALVATELLA R, BASMADJIAN Y, ROSA R, PUIME A. *Triatoma delpontei* Romaña & Abalos, 1947 (Hemiptera, Triatominae) en el estado brasileño de "Rio Grande do Sul". *Rev Inst Med Trop São Paulo*, v.35, n.1, p.73-76, 1993.

SALVATELLA R, CALEGARI L, PUIME A, BASMADJIAN Y, ROSA R, GUERRERO J, MARTINEZ M, MENDARO G, BRIANO D, MONTERO C. Feeding pattern of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) in peridomestic habitats, of a rural area of Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v. 36 (4), p. 311-320, 1994.

SALVATELLA R, ROSA R, BASMADJIAN Y, PUIME A, CALEGARI L, GUERRERO J, MARTINEZ M, MENDARO G, BRIANO D, MONTERO C, WISNIVESKY-COLLI C. Ecology of *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Triatominae) in wild and peridomestic environments of Uruguay. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 90(3), p. 325-328, 1995.

SANDOVAL CM, DUARTE R, GUTIERREZ R, ROCHA DS, ANGULO VM, ESTEBAN L, REYES M, JURBERG J, GALVÃO C. Feeding Sources and Natural Infection of *Belminus herreri* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from Dwellings in Cesar, Colômbia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 99(2), 137-140, 2004.

SANTOS CM, JURBERG J, GALVÃO C, ROCHA DS, FERNANDEZ JIR. Estudo morfológico do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 98 (7), p. 939-944, 2003.

SCHAEFER CW. Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): systematic questions and some others. *Neotrop Entomol* v. 32, p. 1-10, 2003.

SCHMUNIS GA. A Tripanossomíase Americana e seu impacto na saúde pública das Américas. In: *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas* (Z. Brener, A. A. Andrade & M. Barral-Netto, org.), Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Editora, p. 1-15, 1999.

- SCHOFIELD CJ. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. Bull Entomol Res, v. 69, p. 363-379, 1979.
- SCHOFIELD CJ. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. Ann Soc Belge Med Trop, v. 65, p. 149-164, 1985.
- SCHOFIELD CJ. *Trypanosoma cruzi* – The vector-parasite paradox. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 95, p. 535-544, 2000.
- SCHOFIELD CJ, DIOTAIUTI L, DUJARDIN JP. The process of domestication in Triatominae. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 94 (Suppl. I), p. 375-378, 1999.
- SETTEMBRINI BP. The compound eyes of *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). J Med Entomol v. 21, p. 477-479, 1984.
- SHERLOCK IA, GUITTON N. Sobre o *Triatoma petrochii* Pinto & Barreto, 1925 (Hemiptera, Reduviidae). Rev Bras Malariol D Trop v. 17, p. 625-632, 1967.
- SILVA IG. Influência da temperatura na biologia de 18 espécies de triatomíneos (Hemíptera: Reduviidae) e no xenodiagnóstico. [Tese], Universidade Federal do Paraná, 169p, 1985.
- SILVA IG, SILVA HHG. Suscetibilidade de 11 espécies de triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) à cepa Y de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). Rev Bras Ent, v. 37, p. 459-463, 1993.
- SILVA MBA, BARBOSA HS, GALVÃO C, JURBERG J, CARCAVALLO RU. Comparative study of the stridulatory sulcus, buccula and rostrum of the nymphs of *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 and *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 by scanning electron microscopy (Hemiptera, Reduviidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 98 (3), p. 335-344, 2003.
- SILVA MBA, BARBOSA HS, JURBERG J, GALVÃO C, CARCAVALLO RU. Comparative ultrastructural analysis of the antennae of *Triatoma guazu* and *Triatoma jurbergi* during the nymphal stage development (Hemiptera, Reduviidae). J Med Entomol v. 39, p. 705-715, 2002.
- SILVA MBA, BARBOSA HS, CARCAVALLO RU, GALVÃO C, JURBERG J. Placas apicais do lábio das ninfas de 1º estágio de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 e *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae), vetores da doença de chagas. Entomol Vect v. 6, p.663-668, 1999.
- SILVA MBA, JURBERG J, GALVÃO C, CARCAVALLO RU. Estudo morfológico e morfométrico de ovos e ninfas de *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) vistos por microscopia óptica e eletrônica de varredura. Entomol Vect, vol. 7 (3), p. 311-334, 2000.

SILVEIRA AC. O controle vetorial da doença de Chagas no Brasil. In: CJ Schofield, JP Dujardin, J Jurberg (eds). Proceedings Internacional Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae. Santo Domingo de los Colorados, Ecuador, p. 89-94, 1995.

SILVEIRA AC. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. Cad Saúde Pública v. 16, p. 35-42, 2000.

SILVEIRA AC. O controle da doença de Chagas nos países do Cone Sul da América. In: AC Silveira, El Control de la Enfermedad de Chagas en los Países del Cone Sur de América. História de una Iniciativa Internacional, 1991/2001, Opas, Brasília, p. 15-43, 2002.

SILVEIRA AC, REZENDE DF. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. Rev Soc Bras Med Trop, v. 27(suppl. III), p. 11-22, 1994.

SILVEIRA AC, VINHAES MC. Elimination of vector-borne transmission of Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 94 (Suppl I), p. 405-411, 1999.

SINGH-PRUTHI H. The morphology of the male genitalia in Rhynchota. Trans Entomol Soc. London, v. 1, p. 127-267, 1925.

SOARES RPP, EVANGELISTA LG, LARANJA LS, DIOTAIUTI. Population dynamics and feeding behavior of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata*, main vectors of Chagas disease in northeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 95 (2), p. 151-155, 2000.

VIERA DE. Efecto del Ayuno sobre las Proteínas, Ácidos Nucléicos Ováricos y Estadísticas Vitales en *Rhodnius pictipes* STAL, 1859 (Hemiptera: Reduviidae), Thesis, Universidad de Los Andes, Mérida, p. 49, 1990.

VILLELA MM, SOUZA JB, MELLO VP, AZEREDO BVM, DIAS JCP. Vigilancia entomológica da doença de Chagas na região centro-oeste de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 e 2003. Cad Saúde Pública, v. 21(3), p. 878-886, 2005.

VINHAES MC. PAHO (Pan American Health Organization): VIII. Os programas nacionais de controle na fase avançada de controle e os novos desafios estratégicos, políticos e epidemiológicos. Grupo de Trabajo OPS en Enfermedad de Chagas, Montevideo, Uruguay, p. 51-57, 2001.

VINHAES MC, DIAS JCP. Doença de Chagas no Brasil. Cad Saúde Pública 16, v. (Suppl. 2), p. 7-12, 2000.

WEIRAUCH C. Glandular Areas Associated with the Male Genitalia in *Triatoma rubrofasciata* (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera) and Other Reduviidae. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 98(6), p. 773-776, 2003.

WHO (World Health Organization). Control of Chagas disease. Geneva: World Health Organization. (WHO Technical Report Series 811), 2002.

ZELEDON R, GUARDIA VM, ZUNIGA A, SWARTZWELDER JC. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. J Med Entomol, v. 7, p. 313-319, 1970.

ZELEDON R, RABINOVICH JE. Chagas' disease: An Ecological Appraisal with special emphasis on its Insect Vectors. Ann Rev Entomol, v. 26, p. 101-103, 1981.

ANEXOS

Morphology and morphometry of *Triatoma petrochiae* and *Triatoma brasiliensis*

MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRICAL ASPECTS OF
TRITOMA PETROCHIAE PINTO & BARRETO, 1925, AND *TRITOMA*
BRASILIENSIS NEIVA, 1911 (HEMIPTERA, REDUVIIDAE,
TRITOMINAE).

Margareth Cardozo-de-Almeida^{1,2}, Giovanna Marcella Cavalcante Carvalho³,
Teresa Cristina Monte Gonçalves², Orthrud Monika Barth⁴, Jacenir Reis dos
Santos-Mallet², Jane Costa⁵.

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil, 23890000. ²Setor de Morfologia e
Ultraestrutura de Artrópodes, Departamento de Entomologia, FIOCRUZ, Rio de
Janeiro, RJ, Brasil, 21045900. ³Laboratório de Fisiologia da Respiração, Instituto
de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 21949900.
⁴Laboratório de Ultraestrutura Viral, Departamento de Virologia, FIOCRUZ, Rio de
Janeiro, RJ, Brasil, 21045900. ⁵Laboratório de Biodiversidade Entomológica,
Departamento de Entomologia, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 21045900.

Key words: insect, vector, morphology, buccula, stridulatory sulcus, rostrum, eggs.

Author for correspondence:

marca@ioc.fiocruz.br

Phone: ++21. 2209.3122

Fax: ++21.2573.4468

ABSTRACT

Triatoma petrochiae is a wild species and similar to *Triatoma brasiliensis*, which today is considered to be the most important vector for *T. cruzi* in the semi-arid areas of the northeast of Brazil. By means of scanning electron microscopy and morphometrical data, significant differences in the eggs (body and operculum) were shown between *T. petrochiae* and *T. brasiliensis*. Morphostructural differences in the ventral face of the cephalic region were also shown between adult specimens. The morphometry of the eggs also demonstrated taxonomic characteristics. The analyses performed corroborate previous studies, thereby confirming the specific taxa. These results may serve as backing for triatomine surveys aimed at monitoring these vectors in endemic areas, since these two species inhabit the same wild ecotope and are chromatically similar.

INTRODUCTION

Chagas disease is an anthroponosis that is exclusive to the Americas and has been recorded from the southern United States to Argentina, with high incidence in Brazil. The etiological agent for this disease, *Trypanosoma cruzi*, is transmitted by populations of blood-sucking bugs called triatomines that have adapted to live inside and around human dwellings.

It occurs mainly in Latin America where, during the 1980s, over 20 million people were thought to be infected. Since then, Latin American countries have made enormous efforts to control the infection, such that current estimates suggest that less than 8 million people remain infected. However, the infection is no longer confined to the Americas because of blood transmission and organ transplantation. Cases have been identified in non-endemic countries in Europe, and in Canada and the United States (WHO, 2007).

Triatomine control regulations resulted in 99% reduction in the Brazilian populations of *Triatoma infestans* Klug, 1834, the main vector for *T. cruzi*, thereby restricting this species to isolated outbreaks (Silveira and Vinhaes (1999). The same cannot be said in relation to the populations of native triatomine species that occur in wild environments in Brazil, since control in such environments becomes difficult. Entomological surveys in the arid and semiarid regions of northeastern Brazil demonstrated that 17 species were recorded in domestic environments, with varying degrees of colonization and natural infection (Costa et al. 2003a). *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, is one of these species and it is now considered to be the most important vector for *T. cruzi*. However, it is also the most difficult one to control (Sarquis et al. 2004). Its geographic distribution covers 12 states in the northeastern, southeastern and central-western regions (Costa et al. 2003a). This

native species is found in natural ecotopes of the *caatinga* arid brushwood zone, where it generally lives in a much dispersed manner, with low population densities. Its domestication has been a consequence of human action and the conditions in human dwellings, and particularly in the areas surrounding these dwellings (Costa et al. 1998; Dias 2001).

In the epidemiological context of Chagas disease in Brazil, the northeastern region is the epicenter for the dispersion of two species of triatomines that are difficult to control: *T. brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Forattini 1980; Freitas et al. 2005). According to Diotaiuti et al. (2000), control over *T. brasiliensis* was made difficult because it had a high capacity for reinfestation. At that time, the hypothesis of resistance to insecticide was dismissed and it was thought to be more likely that recolonization resulted from triatomines coming from the wild environment and/or from around homes.

Triatoma petrochiae Pinto & Barreto, 1925, is a wild species that is rarely encountered (Lucena, 1962). Sherlock and Guitton (1967), in their redescription of *T. petrochiae*, mentioned that this species could be confused with *T. brasiliensis*, but was distinguished by its smaller size, the arrangement of the blotches on its body and the absence of clear rings on the femurs. Its geographic distribution is restricted to the states of Rio Grande do Norte, Pernambuco and Bahia.

According to Lent and Wygodzinsky (1979), *T. petrochiae* is a species similar to *T. brasiliensis* but with some morphological differences such as: absence of spongy fossette in the tibiae of the males of *T. petrochiae*, rostrum predominantly hairless and the first antenna segment shorter than in *T. brasiliensis*.

Barata (1981) evidences the taxonomic importance of the morphology and morfometry of eggs through the elaboration of a dicotomic key for the identification of ten species of genus *Rhodnius*. Although in consulted literature publications are found showing morphologic and morfometrics differences between the species of the subfamily Triatominae, was verified that despite the descriptions in the literature, there are no illustrations or detailed texts dealing with these differences.

Thus, the objectives of the present study were to illustrate and detail the principal morphological differences between the adults of *T. petrochiae* and *T. brasiliensis*, by means of optical microscopy and scanning electron microscopy; and to perform novel and detailed study on the eggs of *T. petrochiae* and compare them with the eggs of *T. brasiliensis* by means of scanning electron microscopy and morphometry.

MATERIALS AND METHODS

The specimens of *T. brasiliensis* (Fig. 1) and *T. petrochiae* (Fig. 2) were obtained from colonies in the Laboratory of the Computerization Center of the Entomological Collection of Instituto Oswaldo Cruz. The field specimens had been collected in the municipality of Caicó (-06° 27'30", 37°05'52"), in the Seridó region of the State of Rio Grande do Norte, in September 1996.

For the morphological analysis, eggs (body and operculum), antennae, head, thorax and legs from five female and five male specimens of *T. petrochiae* and *T. brasiliensis* were placed on small pieces of double-sided adhesive tape that were adhered onto scanning electron microscopy (SEM) stubs. The samples were then coated with gold and observed and photographed under SEM.

For the morphometric analysis, 30 eggs (body and operculum) of *T. petrochiae* and 30 eggs operculum of *T. brasiliensis* were separated out. They were then placed on double-sided adhesive tape that was stuck onto a slide for subsequent viewing under a stereoscopic microscope.

RESULTS

1. Egg morphology

Significant morphological differences in the eggs (body and operculum) of *T. petrochiae* and *T. brasiliensis* were observed using scanning electron microscopy. In *T. petrochiae*, 30 cells of the exocorium of the egg (body and operculum) were analyzed. The mean numbers of perforations found per cell were 51.21 and 15.03, respectively. The exocorium of the eggs body (Fig. 3) and eggs operculum (Fig. 4) of this species presented polygonal cells and some pentagonal cells, with a quilted surface and perforations location along the whole length of the cells.

In *T. brasiliensis*, cells of the egg body also presented polygonal shape, while cells in the egg operculum could be polygonal, pentagonal and occasionally rounded in the central region (Fig. 5). In this species, the perforations were close to the margins and their frequencies increased towards the center.

2. Egg morphometry

Morphometric analysis of the eggs body showed differences, with mean length and width of 1.92 mm and 1.19 mm, respectively, for *T. petrochiae* and 2.30 mm and 1.32 mm for *T. brasiliensis* (Table 1). Comparing the measures, the eggs of *T. brasiliensis* are largers that *T. petrochiae*.

Morphometric analysis of the eggs operculum also showed differences, with a mean diameter of 0.69 mm for *T. petrochiae* and 0.76 mm for *T. brasiliensis* (Table 2).

3- Morphological structures

The dorsal region of the head of *T. brasiliensis* and *T. petrochiae* presented black compound eyes with one posteroinferior area without ommatidia and with a few sparse short bristles (Figs. 6, 7). The antennae of *T. brasiliensis* and *T. petrochiae* presented bristles, sensillae and papillae that were similar (Figs. 8, 9).

The ventral region of the rostrum in *T. brasiliensis* presented a large number of randomly arranged bristles. This was not seen in *T. petrochiae*, which presented two rows of bristles. Both in *T. brasiliensis* and in *T. petrochiae*, the apex of this structure was lozenge-shaped, presenting one upper and one lower lamella in the shape of a finger and two lateral clefts (1+1) (Figs. 10, 11).

The buccula of *T. brasiliensis* and *T. petrochiae*, which were located in the posteroventral region of the rostrum, were in a V-shape in *T. brasiliensis* and a U-shape in *T. petrochiae*, both with a thick border and granular surface. The anterior region showed prominent creases, both in *T. brasiliensis* and in *T. petrochiae*. The central region presented a more prominent cleft in *T. brasiliensis* (Figs. 12, 13).

The stridulatory sulcus in both species was V-shaped, but was wider in *T. brasiliensis*. Both *T. brasiliensis* and *T. petrochiae* presented a depression in their central regions, with parallel striae and sensillae in the basal region. The depression was delimited laterally all along its margin by papillae and sensillae, and the margin was thicker in *T. brasiliensis* (Figs. 14, 15).

T. brasiliensis males presented a ctenidium in the tibia of the first pair of legs and a spongy fossette in the tibiae of the first and second pairs of legs. The

ctenidium, but not the spongy fossette, was present in the females. *T. petrochiae* males also presented a ctenidium at the same location, but had no spongy fossette. Both structures were absent in *T. petrochiae* females. (Figs. 16-19).

DISCUSSION

Lucena (1970) considered *T. petrochiae* to be synonymous with *T. brasiliensis*. However, with the aim of clarifying the doubts regarding the genetic compatibility between *T. brasiliensis* and *T. petrochiae*, Espínola (1971) performed crossing between them. The result from this showed that these were two distinct species, considering that no viable hybrids were obtained. Lent and Wygodzinsky (1979), although emphasizing the generally similar appearance, considered *T. petrochiae* to be a species distinct from *T. brasiliensis*. Monteiro et al. (1998) confirmed the reproductive isolation between these two species and also the specific category of *T. petrochiae*, by means of isoenzymatic studies.

Costa et al. 2003b showed through multidisciplinary studies that *T. brasiliensis* forms part of a complex of three species (*T. brasiliensis*, *T. juazerensis* and *T. melanica*) and one subspecies (*T. brasiliensis macromelasoma*) with distinct importance in the epidemiology of Chagas disease.

Sexual dimorphism in triatomines in general is related to size, such that the females are bigger than the males. The format of the end of the abdomen is also frequently used to distinguish between the sexes: it is sharply pointed in the females and rounded in the males (Lent & Wygodzinsky, 1979). In the present study, it was possible to distinguish other structures connected with sexual dimorphism in the legs of *T. petrochiae* and *T. brasiliensis*. In *T. petrochiae*, a ctenidium was found in the males. In *T. brasiliensis*, a ctenidium was found in both

females and males, at the apex of the tibia of the first pair of legs. It is emphasized that this structure had never previously been observed in the females. The spongy fossette was only present in the males of *T. brasiliensis*. The ocular morphological structure did not show any taxonomic or sexual dimorphism characteristics for these two species.

Study of the rostrum was considered by Pinto (1931) to be of taxonomic importance for characterizing the subfamily Triatominae. Our study has revealed differences between *T. petrochiae* and *T. brasiliensis* in the arrangements of the bristles found in this structure, thus corroborating the data that indicate the differentiation between these species.

Barata (1995) emphasized the importance of characterizing species from their eggs, considering that eggs, exocoria of eggs and exuviae are frequently found when undertaking control, monitoring and surveys on vector populations. The detailing of morphological information is of prime importance for greater precision in identifying the material collected.

The morphology of the eggs of *T. brasiliensis* was initially studied by Barth and Muth (1958), and subsequently by Jurberg et al. (1986). Costa et al. (1997) included morphometric data in analyses on the eggs of *T. brasiliensis*. Our results were concordant with the literature.

In the present study, we used *T. brasiliensis* from Rio Grande do Norte, because this species has the greatest resemblance to *T. petrochiae*, in chromatic terms. Furthermore, it was because there is a record in the literature of both species inhabiting the same natural ecotope (rock clefts) in this state (Monteiro et al. 1998).

With the detailing of the morphometric techniques, it has been possible to expand the specific concept, by using this important tool in studies on arthropods (Hutcheson et al., 1995, Anez et al., 1997).

The morphology and morphometry of the eggs was shown to be an important taxonomic characteristic for these two species. These tools had aided in the differentiation of these species, where it verified that the eggs of *T. brasiliensis* are larger than *T. petrochiae*. Corroborating these results, despite the chromatic similarity between *T. brasiliensis* and *T. petrochiae*, there are morphological features characteristic for each species that allow it to be affirmed that they are distinct species.

It is also emphasized that the morphological description of the eggs, head, antennae, buccula, rostrum and stridulatory sulcus of *T. petrochiae* is new in the literature, as is the documentation by photomicrographs from scanning electron microscopy.

The data presented in the morphometric analyses simultaneously with the morphological analyses may serve as support such that, during fieldwork aimed at surveying the population density of *T. brasiliensis* and/or monitoring control campaigns, the eggs of this species will not be confused with those of the species *T. petrochiae*, in the field, given that they inhabit the same natural ecotope and are chromatically similar.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Hertha Meyer Cell Laboratory of the Carlos Chagas Filho Biophysics Institute, Federal University of Rio de Janeiro, for allowing the use of the scanning electron microscope; to Ana Paula Rufino Amaro Sant'Anna from Sector of Morphology and

Ultrastructure of Arthropoda, Department of Entomology of Oswaldo Cruz Institute, for technical support.

REFERENCES

Anez N, Valenta DT, Carsola D, Quicke DJ, Feliciangeli MD 1997. Multivariate analysis discriminate species of Phlebotominae sand flies (Diptera; Psychodidae), *Lutzomyia townsendi*, *L. spinicrassa* and *L. young*. *J Med Entomol* 34: 312-316.

Barata JMS 1995. In Proc Inter workshop on population genetics and control of Triatominae, Ecuador, p. 55-58.

Barata JMS 1981. Morphological aspects of Triatominae eggs. II - Macroscopic and exochorial characteristics of 10 species of the genus *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera - Reduviidae). *Rev Saude Publica* 15: 490-542.

Barth R, Muth H 1958. Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). VII Parte: Observações sobre a superfície dos ovos das espécies mais importantes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 56: 197-208.

Costa J, Almeida CE, Dotson EM, Lins A, Vinhaes M, Silveira AC, Beard CB 2003a. The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 443-449.

Costa J, Almeida CE, Dujardin JP, Beard CB 2003b. Crossing experiments detect genetic incompatibility among populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 637-639.

Costa J, de Almeida JR, Britto C, Duarte R, Marchon-Silva V, Pacheco R da S 1998. Ecotopes, natural infection and trophic resources of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 7-13.

Costa J, Barth OM, Marchon-Silva V, Almeida CE, Freitas-Sibajev MGR, Panzera F 1997. Morphological studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) genital structures and eggs of different chromatic forms. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 493-498.

Dias JCP 2001. Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado. *Cad Saude Publica*, 17 (Suppl): 165-169.

Diotaiuti L, Filho OFF, Carneiro FCF, Dias JCP, Pires HHR, Schofield CJ 2000. Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis*. *Cad Saude Publica*, 16 (Suppl. 2): 61-67.

Espínola, 1971. Reproductive isolation between *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 and *Triatoma petrochii* Pinto & Barreto, 1925. *Rev Bras Biol* 31: 277-281.

Forattini OP 1980. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Rev Saúde Pública*, São Paulo, 14: 265-299.

Freitas SP, Lorosa ES, Rodrigues DC, Freitas AL, Gonçalves TC 2005. Feeding patterns of *Triatoma pseudomaculata* in the state of Ceará, Brazil. *Rev Saude Publica* 39: 27-32.

Hutcheson HJ, Olier JHJR, Houck MA, Stauss RE 1995. Multivariate morphometric discrimination of nymphal and adult forms of the blacklegged tick (Acari-Ixididae), a principal vector of Lyme disease in Eastern North America. *J Med Entomol* 32: 827-843.

Jurberg J, Gonçalves TCM, Costa JM, Sousa W 1986. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 111-120.

Lent H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull American Mus Nat Hist* 163: 123-520.

Lucena DT 1962. Epidemiologia da doença de Chagas no Rio Grande do Norte. I. A fauna Triatomínea. *Rev Bras Malariol D Trop* 14: 237-248.

Lucena DT 1970. Estudos sobre a doença de Chagas no Brasil. *Rev Bras Malariol D Trop* 22: 3-173.

Monteiro FA, Costa J, Solé-Cava AM 1998. Genetic confirmation of the specific status of *Triatoma petrochii* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Ann of Trop Med & Parasitol* 92: 897-900.

Pinto C 1931. Valor do rostrum e das antenas na caracterização dos triatomíneos. *Boletim Biológico* 19: 45-137.

Sarquis O, Borges-Pereira J, Mac Cord JR, Gomes TF, Cabello PH, Lima MM 2004. Epidemiology of Chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil. I. Presence of triatomines and index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of a rural area. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 263-70.

Sherlock IA, Guitton N 1967. Sobre o *Triatoma petrochii* Pinto & Barreto, 1925 (Hemiptera , Reduviidae). *Rev Bras Malariol D Trop* 17: 625-632.

Silveira AC, Vinhaes MC 1999. Elimination of vector-borne transmission of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl I): 405-411.

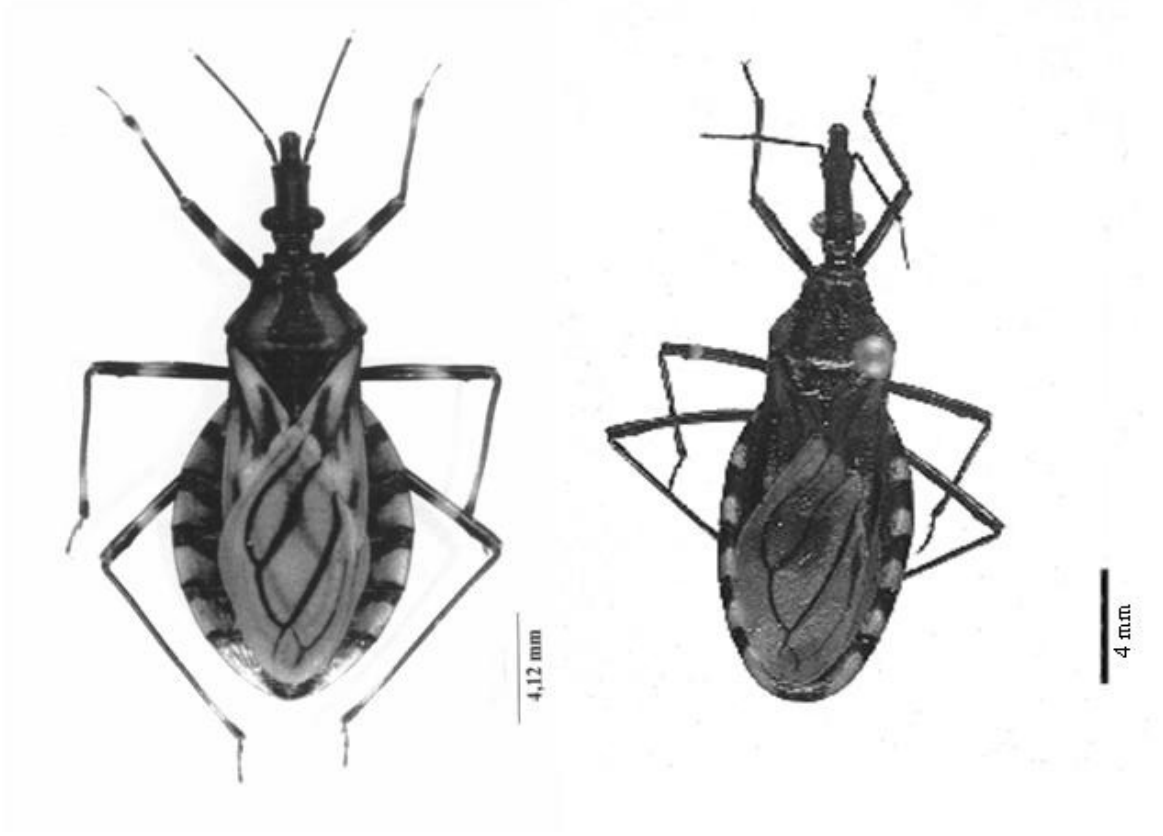
WHO (World Health Organization), 2007. Site da World Health Organization. (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr36/en/index.html>).

Table 1 – Compared morphometry of the egg body of two species of Triatomines (measurements/mm).

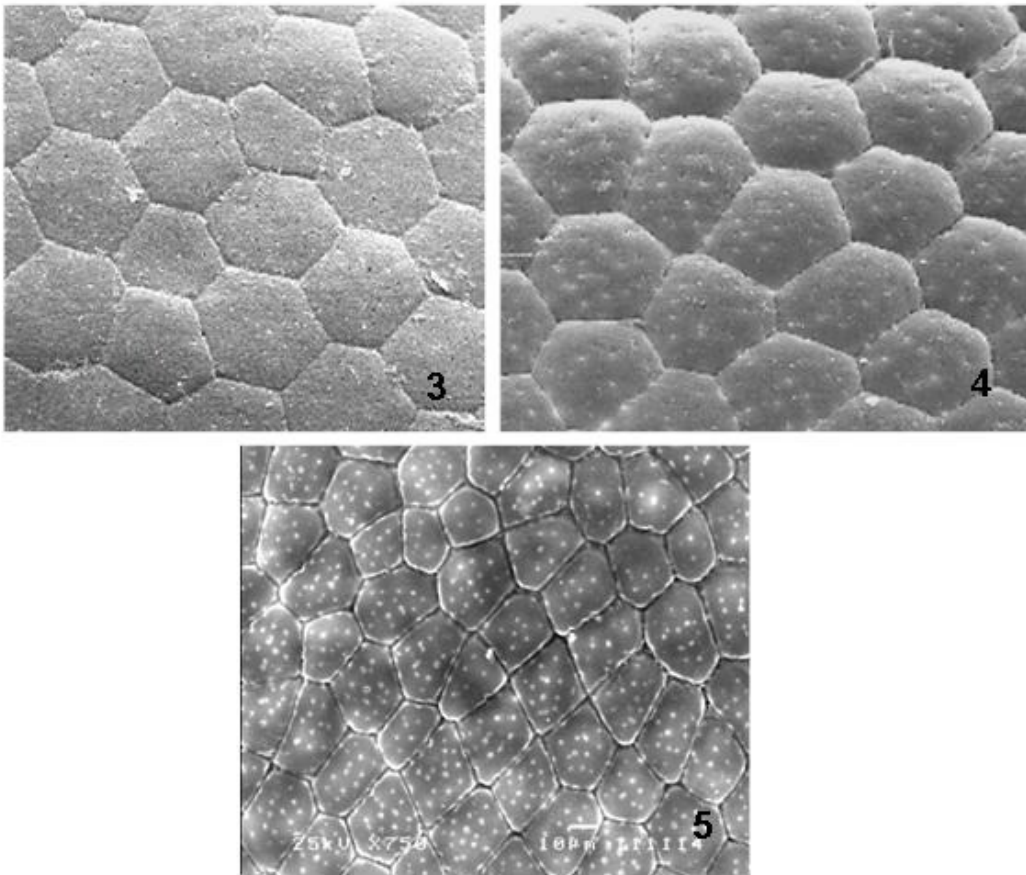
Measurements/mm		Species	
		<i>T. petrochiae</i>	<i>T. brasiliensis</i> (Costa et al. 1997)
Length	Maximum	2.02	2.49
	Minimum	1.77	2.15
	Mean	1.92	2.30
Standard deviation		0.0748	0.0913
Variance		0.0056	0.0083
Width	Maximum	1.32	1.40
	Minimum	1.15	1.25
	Mean	1.19	1.32
Standard deviation		0.0503	0.0366
Variance		0.0025	0.0013

Table 2 – Compared morphometry of the egg operculum of two species of Triatomines (measurements/mm).

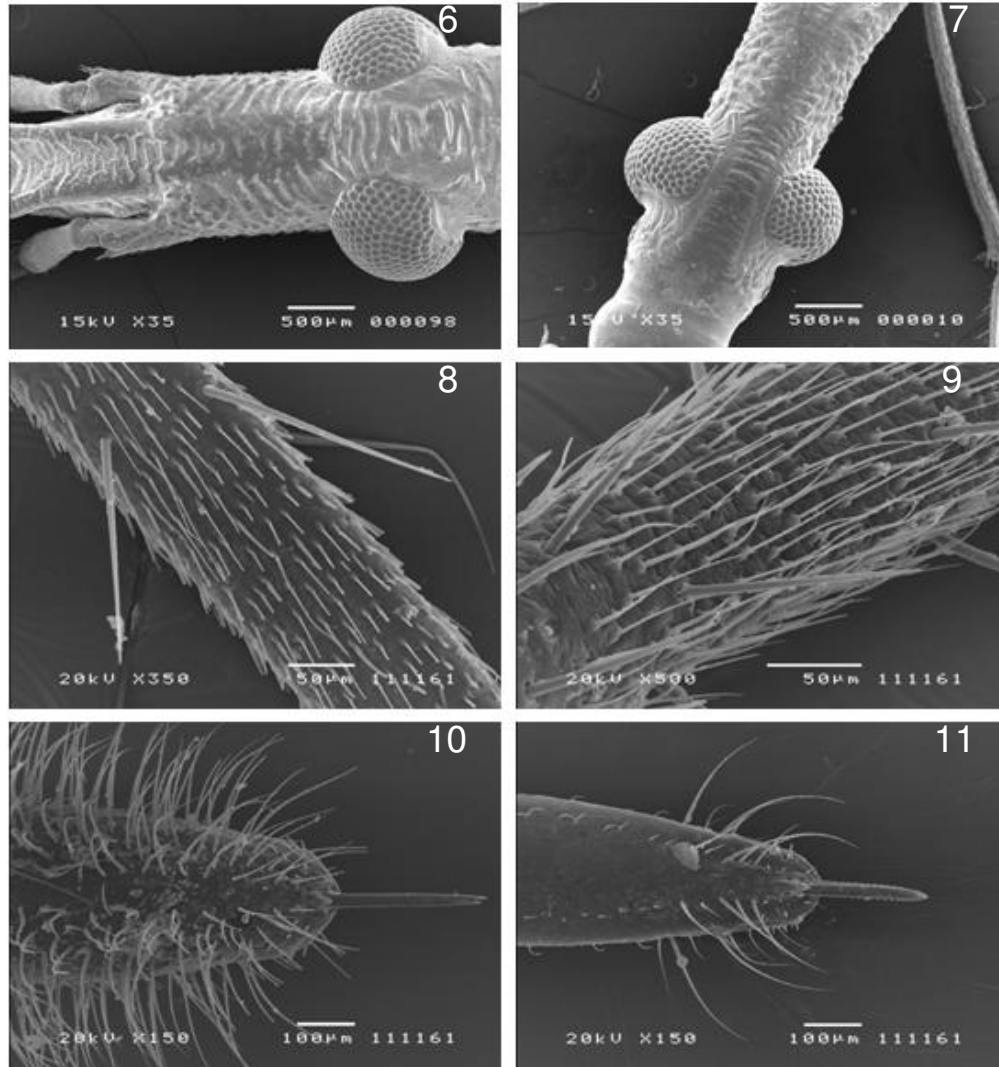
Measurements /mm		Species	
		<i>T. petrochiae</i>	<i>T. brasiliensis</i>
Diameter	Maximum	0.73	0.85
	Minimum	0.63	0.70
	Mean	0.69	0.76
Standard deviation		0.0269	0.0403
Variance		0.0007	0.0016



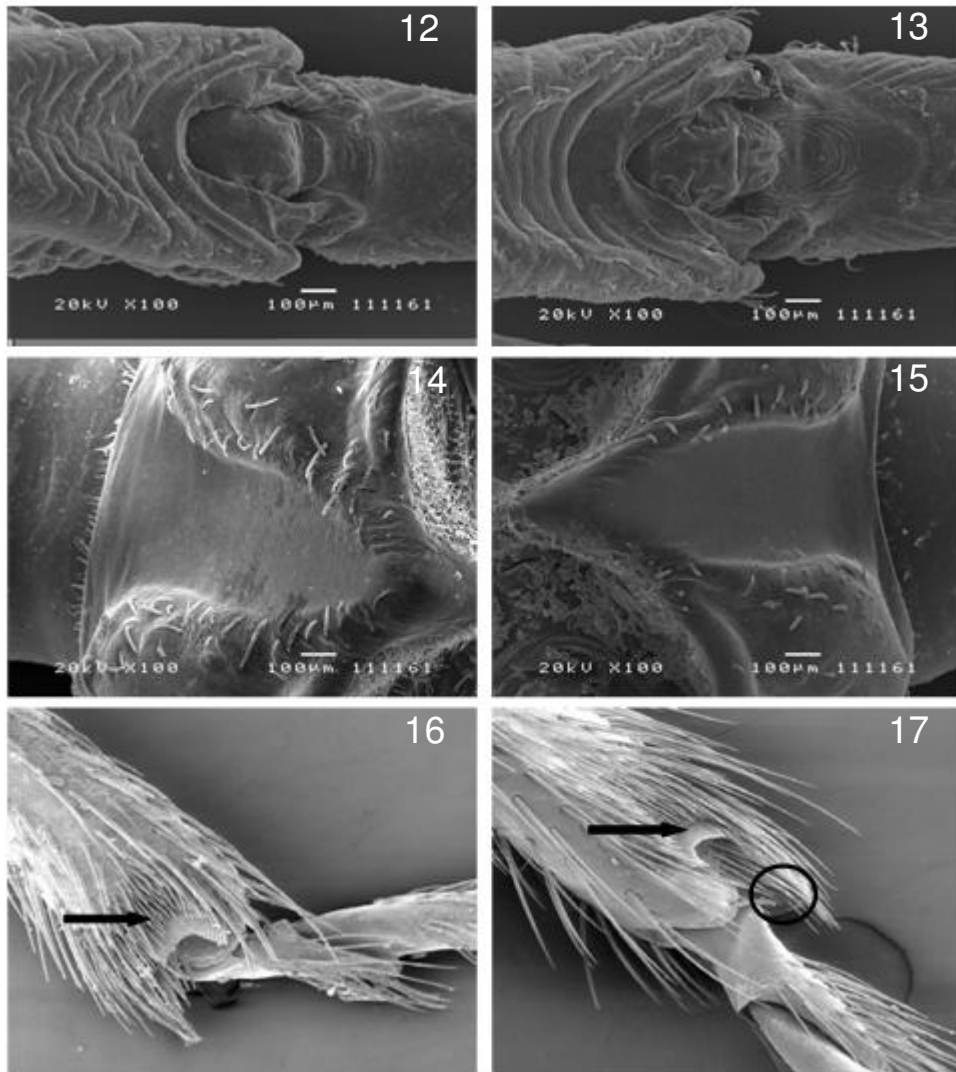
Figures 1-2: Males of triatomines (1) *Triatoma brasiliensis*. (2) *Triatoma petrochiae*.



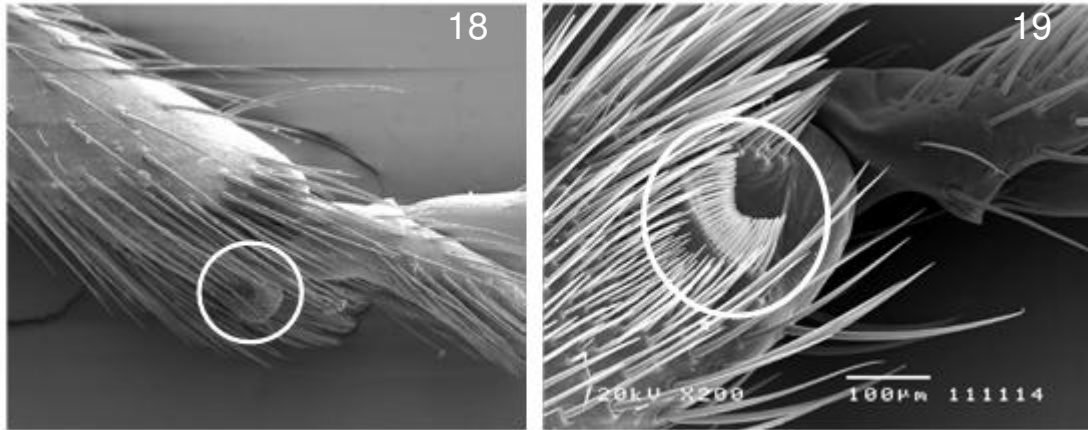
Figures 3-5: Eggs exocorium of triatomines (3) egg body of *T. petrochiae* – 1000X. (4) Egg operculum of *T. petrochiae* – 1000X. (5) Egg operculum of *Triatoma brasiliensis* – 750X.



Figures 6-11: Scanning electron microscopy of triatomines (6) View dorsal – composite eyes of *T. brasiliensis* – 35X. (7) View dorsal - composite eyes of *T. petrochiae* – 35X. (8) Antennae of *T. brasiliensis* – 350X. (9) Antennae of *T. petrochiae* – 500X. (10) Rostrum of *T. brasiliensis* – 150X. (11) Rostrum of *T. petrochiae* – 150X.



Figures 12-17: Scanning electron microscopy of triatomines (12) Buccula of *T. petrochiae* – 100X. (13) Buccula of *T. brasiliensis* – 100X. (14) Stridulatory sulcus of *T. brasiliensis* – 100X. (15) Stridulatory sulcus of *T. petrochiae* – 100X. (16) The arrow show a ctenidium, on the tibia of the first pair of legs of male of *T. petrochiae* – 100X. (17) The circulate show a spongy fossette and arrow a ctenidium on the tibia of the first pair of legs of male of *T. brasiliensis* - 100X.



Figures 18-19: Structures in the legs (18) The circulate show a spongy fossette of second pair of legs of male of *T. brasiliensis* – 100X. (19) The circulate show a ctenidium on the tibia of the first of legs of female of *T. brasiliensis* – 100X.

**Ultraestrutura e Morfometria de ovos de
Triatoma rubrovaria (Blanchard, 1843), *Triatoma carcavallo* Jurberg,
Rocha & Lent, 1998 e *Triatoma circummaculata* (Stal, 1859) (Hemiptera-
Reduviidae-Triatominae)**

**Margareth Cardozo-de-Almeida*/+, Simone Castro-de-Souza*, Nadja Lima
Pinheiro***, Teresa Cristina Monte Gonçalves*, Jacenir Reis dos Santos-Mallet***

*Setor de Morfologia e Ultraestrutura de Artrópodes, Departamento de Entomologia, Instituto
Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av Brasil 4365, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ Brasil ***Laboratório de
Histologia e Embriologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Br 465 Km 07, Seropédica, RJ, Brasil CEP 23890-000.

+Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, UFRRJ, Br 465 Km 07, 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil

Foram analisados o corpo e o opérculo dos ovos de *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavallo* e *Triatoma circummaculata*, consideradas espécies silvestres e que vivem em simpatria entre si. *T. rubrovaria*, atualmente é considerado o vetor mais importante de *T. cruzi* nas áreas rurais do Rio Grande do Sul, seguido por *T. circummaculata*. Foram evidenciadas diferenças significativas nestas estruturas nas três espécies através da microscopia óptica e eletrônica de varredura, além da morfometria. Os ovos de *T. circummaculata* são menores do que os ovos de *T. rubrovaria* e *T. carcavallo*. A média de perfurações por célula do ovo é maior na espécie *T. rubrovaria* e por célula do opérculo em *T. circummaculata*. Esta é a primeira descrição morfoestrutural dos ovos de *T. carcavallo*. Esses resultados ampliam o conceito destas três espécies e criam novos subsídios para o monitoramento entomológico em áreas onde poderão vir a infestar domicílios.

Palavra-chave: Microscopia – ótica – eletrônica de varredura – ovos – Triatominae –
Triatoma rubrovaria – *Triatoma carcavallo* – *Triatoma circummaculata*

O contexto histórico da doença de Chagas no Rio Grande do Sul menciona o registro de onze espécies, entre as quais *Triatoma infestans* (Klug, 1834) como a principal espécie vetor do agente etiológico, *Trypanosoma cruzi*. Este triatomíneo vem sendo o alvo das medidas de controle e tentativa de erradicação, segundo a campanha da Iniciativa do Cone Sul (Vinhaes & Dias, 2000; WHO, 2002, Martins et al. 2006). Após medidas para erradicação do *T. infestans* no estado do Rio Grande do Sul, esse vetor foi considerado eliminado, em junho de 2006, quando o Ministério da Saúde do Brasil recebeu a Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas por este triatomíneo, conferida pela Organização Pan-Americana da Saúde (FERREIRA & SILVA, 2006). Neste sentido, Barata (1998) mencionou que enquanto o vetor é eliminado, torna-se

necessário continuar o estudo destes insetos, em especial aqueles estágios relativamente pouco conhecidos entre os quais se encontram os ovos.

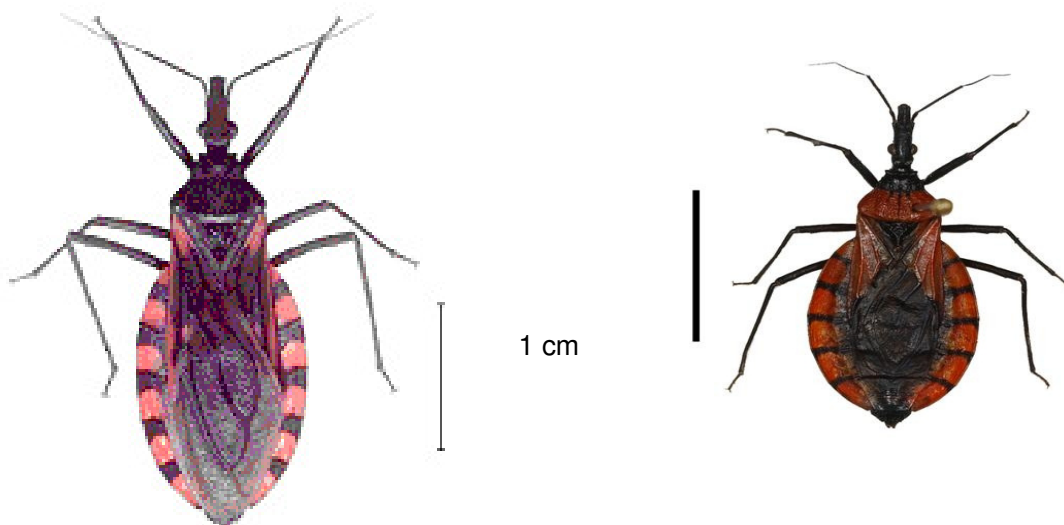
De acordo com os dados obtidos, em 20 anos, pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), durante o Programa de Controle da doença de Chagas no Rio Grande do Sul (RS), *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Fig.1) passou a ser o triatomíneo mais capturado nesta área,(Almeida et al. 2000, 2005). Apesar dos esforços de controle, *T. infestans* ainda ocorre em municípios do noroeste, centro e sul do Estado (Ruas-Neto & Corseuil, 2002, Dias, 2007).

Segundo Lent & Wygodzinsky (1979), a distribuição geográfica de *T. rubrovaria* no Brasil localizava-se nos Estados do Paraná e do Rio Grande do Sul, mas atualmente restringem-se à área endêmica de doença de Chagas no Rio Grande do Sul (Rosa 1995). Em seu ambiente natural, esta espécie vive em fendas rochosas e invade o domicílio humano devido às mudanças dos ambientes produzidas por atividades antrópicas e a eliminação de *T. infestans* do domicílio que deixa um nicho vazio e disponível (Salvatella et al. 1995; Oscherov et al. 2004). Gradualmente se adapta ao peridomicílio e coloniza o intradomicílio, transformando-se em um importante vetor secundário (Salvatella et al. 1994). Esta espécie alimenta-se de uma variedade de hospedeiros, incluindo o homem, demonstrando rapidez na obtenção do alimento e na primeira defecação, características de um vetor eficaz na transmissão do agente etiológico da doença de Chagas (Bar et al. 2003).

Triatoma carcavallo Jurberg, Rocha & Lent 1998 (Fig.2) foi descrita com base em quatro fêmeas coletadas nos Municípios de Santana do Livramento, Canguçu, Jaguarão e Dom Feliciano (RS). Esta espécie vive em simpatria com *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* no peridomicílio e no intradomicílio, e foi considerada afim de *T. rubrovaria* por distinguir-se pelo intenso colorido laranja do lobo posterior do pronoto, do cório e do aspecto aguçado do ângulo anterior do pronoto, além das características morfológicas, (em relação às proporções) do comprimento e da largura da cabeça, do rosto, do tamanho dos olhos, do abdômen menor, o que lhe confere um aspecto arredondado, e do gonocoxito do nono segmento. Após esta descrição esta espécie foi registrada no município de Encruzilhada do Sul (RS), sendo capturado um exemplar em estágio ninfal que atingiu a fase adulta no laboratório (Almeida et al. 2002).

Triatoma circummaculata (Stal, 1859) (Fig. 3) é a espécie mais importante depois de *T. infestans* no Uruguai. Sua distribuição geográfica no Brasil está restrita ao Rio Grande do Sul. Esta espécie ocupa ecótopos semelhantes ao de *T. rubrovaria* e, por vezes, podem ser encontradas juntas (Lent & Wygodzinsky 1979, Rosa et al. 2000). Estudos filogenéticos com *T. circummaculata* baseados nas seqüências do DNA mitocondrial incluíram-na no complexo *T. infestans* embora estivesse em desacordo com a classificação morfológica (Garcia et al. 2001). Sainz et al. 2004 também analisaram seqüências de DNA mitocondrial de *T. circummaculata* baseados na morfologia e confirmaram a inclusão desta espécie, mas como um membro de um complexo diferente dentro do complexo *T. infestans*.

O objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente os aspectos morfológicos e morfométricos dos exocórios dos corpos e opérculos dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata*, através da Microscopia Óptica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).



Triatoma rubrovaria

Triatoma carcavalloi



Triatoma circummaculata

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata* foram obtidos de colônias mantidas no Setor de Morfologia, Ultraestrutura e Bioquímica de Artrópodes de Parasitos, Laboratório de Transmissores de Leishmanioses do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. As colônias foram estabelecidas com espécimes coletados no ecótopo natural, em dezembro de 2000 e outubro de 2005, no Estado do Rio Grande do Sul, em Encruzilhada do Sul (30°32'38"S;52°31'19"W).

1) Microscopia Ótica:

Para o estudo morfométrico, foram separados 30 ovos e opérculos de cada espécie aleatoriamente, os quais foram fixados a uma fita dupla-face aderida à lâmina para mensuração do comprimento e da largura.

Para o estudo morfológico fragmentos do ovo e do opérculo foram montados entre lâmina e lamínula com fenol e os desenhos feitos em microscópio ótico Leitz Dialux 20 EB, no aumento de 40x, acoplados com câmara clara.

A análise estatística dos dados morfométricos foi realizada aplicando os testes ANOVA, para verificar a existência de diferença significativa entre as populações, e SNK, para discriminar qual ou quais as populações foram consideradas diferentes. Todos os testes foram realizados utilizando-se o programa “SPSS – Windows”, versão 10.

2) Microscopia Eletrônica de Varredura:

Para o estudo morfológico, 10 ovos e 10 opérculos foram fixados a uma fita dupla-face aderida ao suporte metálico e pulverizado com ouro para serem observados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura JSM 5310 (Jeol), nos aumentos de 750 vezes, 1000 vezes e 1500x . Foi quantificado o número de perfurações existentes na superfície de 30 células do ovo e do opérculo, respectivamente.

RESULTADOS

Os exocórios dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata* são semelhantes, com áreas hexagonais de aspecto rugoso, divididas por pontuações e demarcadas com linhas curtas interceptadas ou não por pontos (Fig. 4A, 4B e 4C).

O opérculo das três espécies apresenta-se sob a forma circular convexa externamente, formado por células hexagonais, em sua maioria, de aspecto estofado (Fig. 4D, 4E e 4F).

A linha opercular limitante das três espécies é constituída por massa cementante, denominada faixa de vedação, cuja função é fixar o opérculo à borda corial do ovo.

O estudo morfométrico mostra diferenças evidentes, sendo as larguras e comprimentos médios dos exocórios dos corpos dos ovos de 1.17mm e 1.65mm para *T. rubrovaria*, de 1.23mm e 1.59mm para *T. carcavalloi* e 0,88mm e 1,47 para *T. circummaculata* (Tabela 1) e o diâmetro médio dos opérculos é de 0,71mm para *T. rubrovaria*, 0,64mm para *T. carcavalloi* e 0,56 para *T. circummaculata* (Tabela 2).

A aplicação do teste estatístico (ANOVA) evidenciou diferença significativa entre as três populações tanto para o corpo do ovo quanto para o opérculo ($p < 0,05$, $p = 0,0$). Aplicando o teste de Student-Newman-Keuls (SNK), obteve-se um padrão de separação em grupo, de acordo com as médias obtidas em cada amostra, sendo analisado cada caráter isoladamente (largura, comprimento e diâmetro). Os resultados obtidos demonstram que tanto para o parâmetro largura do ovo quanto diâmetro do opérculo houve a separação em três grupos e no parâmetro comprimento em apenas dois grupos (Tabela 3).

Trinta células dos exocórios da região central, tanto do ovo quanto do opérculo de *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata*, foram analisadas através da MEV, para quantificar o número de perfurações por célula. Em *T. rubrovaria* o número médio de perfurações por célula do ovo e do opérculo obtido foi de 44,3 (Fig. 5A) e 8,2 (Fig. 5D), em *T. carcavalloi* de 20,8 (Fig. 5B) e 7,5 (Fig. 5E) e em *T. circummaculata* de 35,0 (Fig. 5C) e 13,3 (Fig. 5F), respectivamente. Essas perfurações em *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* estão dispostas por toda a extensão das células, inclusive sobre as bordas, ao contrário de *T. carcavalloi* cujas perfurações são raras na borda, estando mais concentradas na região central de cada célula. No aspecto geral, os ovos de *T. circummaculata* são menores do que

os ovos de *T. rubrovaria* e *T. carcavalloi*. A média de perfurações por célula do ovo é maior na espécie *T. rubrovaria* e por célula do opérculo em *T. circummaculata*.

Tabela 1 – Morfometria do corpo do ovo de *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* e *Triatoma circummaculata* (mm).

Espécies		<i>T. rubrovaria</i>	<i>T. carcavalloi</i>	<i>T. circummaculata</i>
Medidas				
Comprimento	Máxima	1,77	1,81	1,54
	Mínima	1,54	1,38	1,40
Desvio padrão	Média	1,65	1,59	1,47
		0,059	0,116	0,042
Largura	Máxima	1,23	1,31	0,94
	Mínima	1,11	1,15	0,82
Desvio Padrão	Média	1,17	1,23	0,87
		0,039	0,055	0,039

Tabela 2 – Morfometria do opérculo do ovo *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma carcavalloi* e *Triatoma circummaculata* (mm).

Espécies		<i>T. rubrovaria</i>	<i>T. carcavalloi</i>	<i>T. circummaculata</i>
Medidas				
Diâmetro	Máximo	0,76	0,70	0,64
	Mínimo	0,66	0,58	0,52
	Médio	0,71	0,64	0,56
Desvio Padrão		0,031	0,034	0,039

Tabela 3 – Estudo da homogeneidade da largura do ovo de *Triatoma carcavalloi*. Teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

População	N	Conjunto		
		1	2	3
T. circummaculata	30	0,8773		
T. carcavalloi	30		1,1673	
T. rubrovaria	30			1,2313
Significância	30	1,000	1,000	1,000

Tabela 4 – Estudo da homogeneidade do comprimento do ovo de *Triatoma carcavalloi*. Teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

População	N	Conjunto	
		1	2
T. circummaculata	30	1,4673	
T. carcavalloi	30		1,6347
T. rubrovaria	30		1,6483
Significância	30	1,000	0,504

Tabela 4 – Estudo da homogeneidade do diâmetro opérculo do ovo de *Triatoma carcavalloi*. Teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

População	N	Conjunto		
		1	2	3
T. circummaculata	30	0,5773		
T. carcavalloi	30		0,6337	
T. rubrovaria	30			0,7047
Significância	30	1,000	1,000	1,000

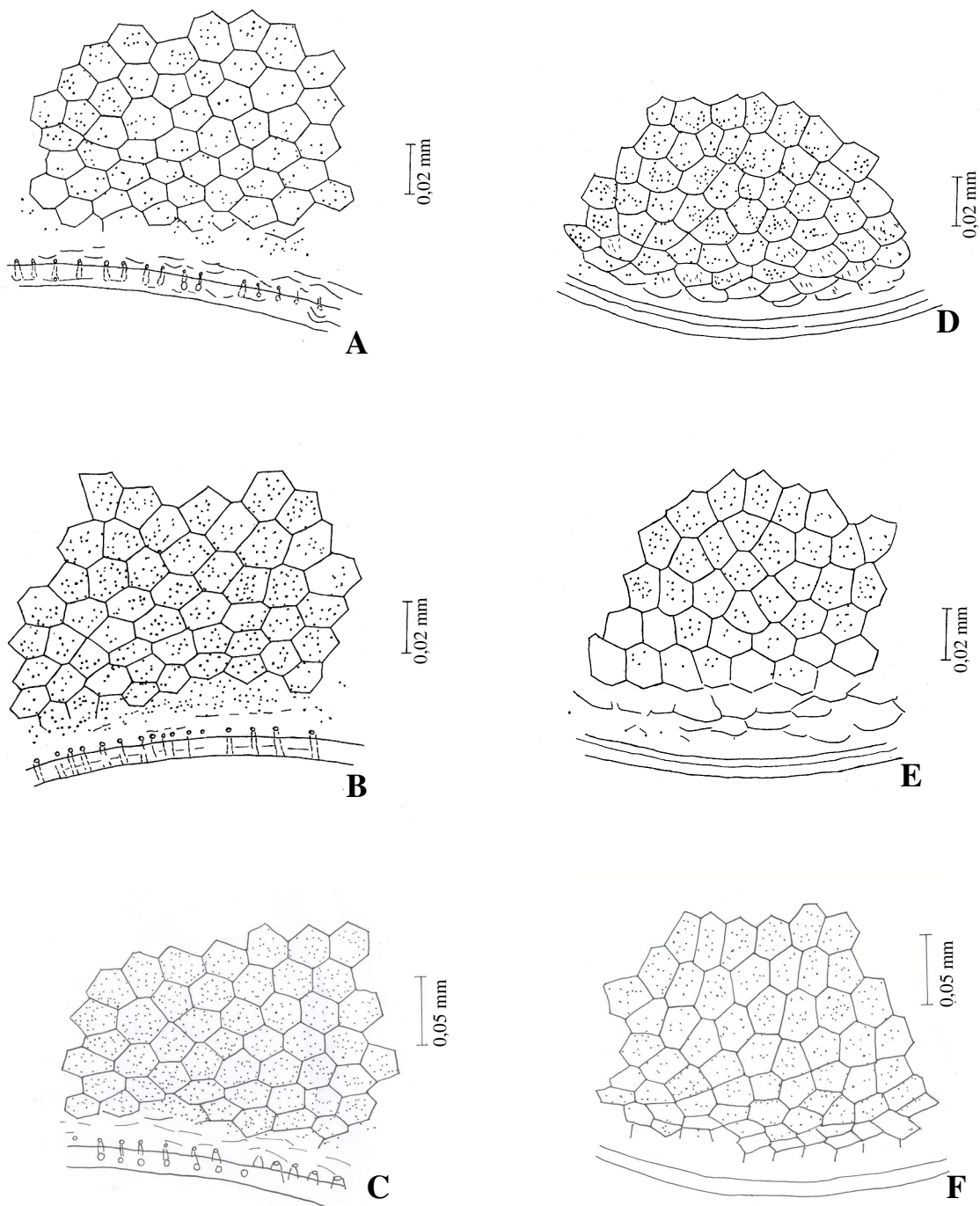


Figura 4 – Microscopia Ótica - Exocório do ovo: A - *Triatoma rubrovaria*, B - *Triatoma carcavalloi*, C - *Triatoma circummaculata*. Exocório do opérculo: D - *Triatoma rubrovaria*, E - *Triatoma carcavalloi*, F - *Triatoma circummaculata*.

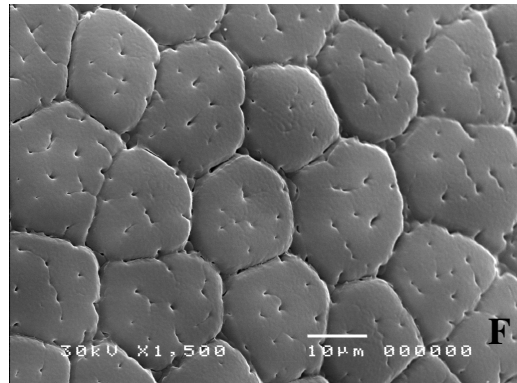
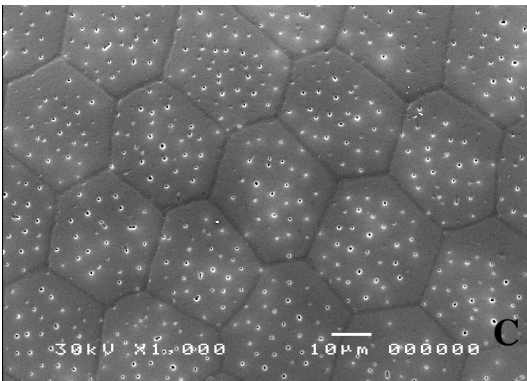
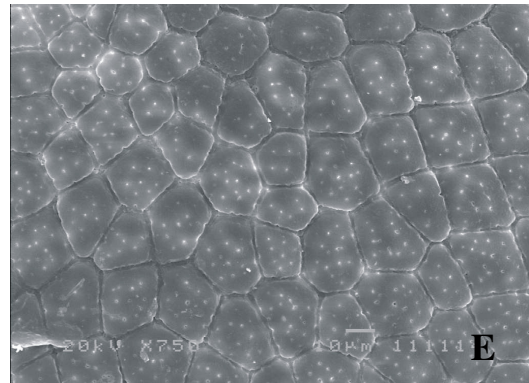
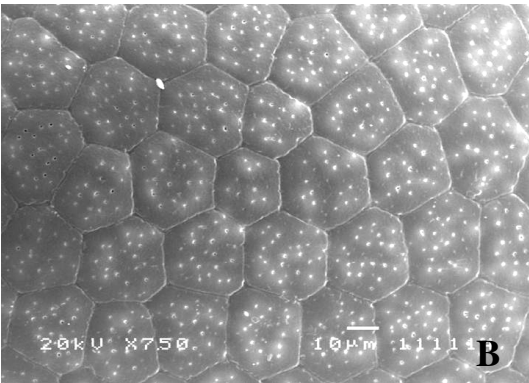
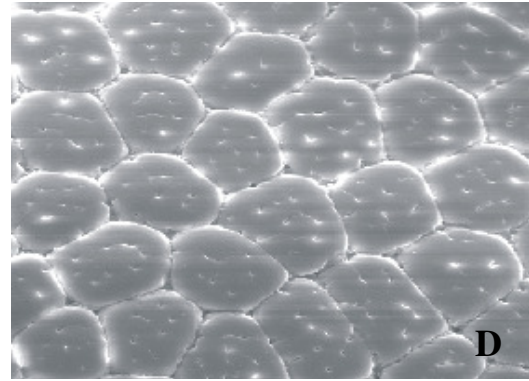
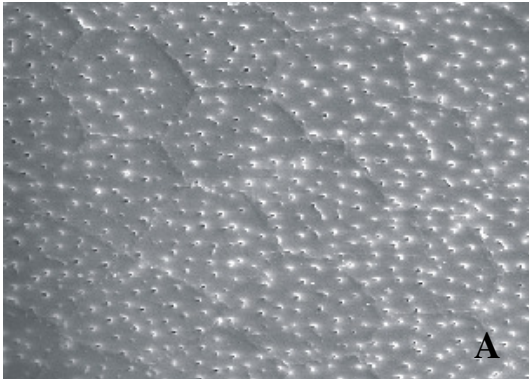


Figura 5: Microscopia Eletrônica de Varredura - Exocório do ovo: A - *Triatoma rubrovaria* – 1000x, B - *Triatoma carcavalloi* – 750x, C - *Triatoma circummaculata* – 1000x. Exocório do opérculo, D - *Triatoma rubrovaria* – 1000x, E - *Triatoma carcavalloi* – 750x, F - *Triatoma circummaculata* – 1500x.

DISCUSSÃO

Os ovos da subfamília Triatominae vêm sendo estudados há várias décadas. Pinto (1924) descreveu os ovos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 e Galliard (1935) mostrou a importância do aspecto da escultura exocorial na taxonomia, afirmando que as cascas dos ovos da subfamília Triatominae apresentavam em sua superfície externa uma ornamentação característica e constante que permitia distinguir as diferentes espécies uma das outras. Além desse caráter, Galliard utilizou outros caracteres macroscópicos, como tamanho, forma, coloração, tipo da casca e fixação entre outros, no estudo dos ovos de triatomíneos. Alguns autores, entretanto, basearam-se nas estruturas morfológicas dos ovos entre espécies (Barata 1981, Gonçalves et al. 1985, Rosa et al. 2000).

No gênero *Triatoma* há uma grande variabilidade nos caracteres dos ovos em nível macroscópico exocorial, caracterizada por células hexagonais com linhas limitantes indeterminadas, com perfurações esparsas de tamanho e formas variáveis. Tal caráter é tipicamente detectado em dez espécies, entre elas *Triatoma rubrovaria* (Barata, 1995).

O presente estudo confirma o aspecto geral dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavallo* e *T. circummaculata* para o gênero *Triatoma* e demonstra a existência de caracteres morfológicos bastante diferenciados entre elas. Enfatiza-se que esta é a primeira descrição morfológica e morfométrica dos ovos de *T. carcavallo*.

Além da diferença marcante quanto à dimensão dos ovos de *T. rubrovaria*, *T. carcavallo* e *T. circummaculata* foram percebidas duas outras diferenças morfológicas entre essas três espécies. A quantidade das perfurações por célula do ovo de *T. rubrovaria* é maior que em *T. carcavallo* e *T. circummaculata*, e a disposição dessas perfurações nos exocórios dos ovos e opérculos de *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* estão distribuídas por toda a extensão das mesmas, enquanto que em *T. carcavallo* as perfurações estão mais concentradas na região central de cada célula.

A textura do exocório do opérculo do ovo de *T. rubrovaria* e de *T. carcavallo* é análoga a de *T. maculata* e de *T. brasiliensis*, conforme demonstra Gonçalves et al. (1985) e Jurberg et al. (1986).

As observações realizadas na linha opercular limitante nas três espécies visualizadas neste estudo estão de acordo com os dados obtidos em *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* realizados por Rosa et al. (2000).

Segundo Costa et al. (1997), diferentes condições ambientais, como fonte alimentar disponível, temperatura e umidade podem afetar direta ou indiretamente na morfologia do ovo. Porém, neste trabalho não podemos considerar as condições ambientais sendo diferentes já que *T. rubrovaria* foi encontrada vivendo em simpatria com *T. carcavalloi* e *T. circummaculata*.

Além das diferenças cromáticas e morfológicas entre *T. rubrovaria* e *T. carcavalloi* descritas por Jurberg et al. (1998) e de *T. rubrovaria* e *T. circummaculata* descritas por Rosa et al. (1999), podemos comprovar neste estudo, através das diferenças morfológicas dos ovos que *T. rubrovaria*, *T. carcavalloi* e *T. circummaculata* são espécies distintas.

Estes resultados ampliam o conceito específico de *T. carcavalloi* e criam subsídios para um monitoramento mais preciso de espécies invasoras dos ecótopos domiciliares, durante as campanhas de controle vetorial realizado pelas secretarias de saúde da região sul do Brasil.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ pela utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol 5310 pela utilização do MEV Zeiss 940 e ao Laboratório de Hematozoários (IOC/FIOCRUZ) pela utilização do microscópio ótico. Ao Prof. Alfredo Carlos de Azevedo pela contribuição na análise dos dados estatísticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida CE, Duarte R, Nascimento RG, Pacheco RS, Costa J 2002. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) II: Trophic resources and

- ecological observations of five populations collected in the state of Rio Grande do Sul. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1127-1131.
- Almeida CE, Folly-Ramos E, Agapito-Souza R, Magno-Esperança G, Pacheco RS, Costa J 2005. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera – Reduviidae – Triatominae) IV: bionomic aspects on the vector capacity of nymphs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 231-235.
- Almeida CE, Vinhaes MC, Almeida JR, Silveira AC, Costa J 2000. Monitoring the domiciliary and peridomiciliary invasion process of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 761-768.
- Bar ME, Milano AMF, Damborsky MP, Oscherov EB, Avalos G 2003. Patrones de alimentación y de defecación de *Triatoma rubrovaria* (Heteroptera: Reduviidae) bajo condiciones de laboratorio. *Rev Soc Entomol Argentina* 63: 107-113.
- Barata JMS 1998. Macroscopic and exochorial structures of Triatomines eggs (Hemiptera, Reduviidae). Estruturas macroscópicas e exocoriais de ovos de Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). In RU Carcavallo, I Galíndez-Girón, J Jurberg, H Lent (orgs.), *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas, Atlas dos Vetores da Doenças de Chagas nas Américas*, Vol. II, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 409-448.
- Barata JMS 1995. In Proc Inter workshop on population genetics and control of Triatominae, Ecuador, p. 55-58.
- Barata JMS 1981. Morphological aspects of Triatominae eggs. II - Macroscopic and exochorial characteristics of 10 species of the genus *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera - Reduviidae). *Rev Saude Publica* 15: 490-542.
- Costa J, Barth OM, Marchon-Silva V, Almeida CE, Freitas-Sibajev MGR, Panzera F 1997. Morphological studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) genital structures and eggs of different chromatic forms. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 493-498.
- Garcia BA, Moriyama EN, Powell JR 2001. Mitochondrial DNA sequences of triatomines (Hemiptera: Reduviidae): phylogenetic relationships. *J Med Entomol* 38:675-83.
- Galliard H 1935. Recherches sur les Reduviidés Hématophages *Rhodnius* et *Triatoma*. V. Morphologie de l'oeuf des Triatomes. *Ann Parasit Hum Comp* 13: 511-527.

- Gonçalves TCM, Jurberg J, Costa JM, Souza W 1985. Estudo morfológico comparativo de ovos e ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Côrrea & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 263-276.
- Jurberg J, Rocha DS, Lorosa ES, Vinhaes M, Lent H 1998. Uma nova espécie de *Triatoma* do estado do Rio Grande do Sul (Hemiptera, Reduviidae). *Entomol Vect* 5 (6): 295-310.
- Jurberg J, Gonçalves TCM, Costa JM, Sousa W 1986. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 111-120.
- Lent H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull American Mus Nat Hist* 163: 123-520.
- Oscherov EB, Bar ME, Damborsky MP, Milano AMF 2004. Tablas de vida de fecundidad de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Heteroptera: Reduviidae) em condiciones experimentales. In: *Jornadas de Comun. Cient. y Tecnol. Universidad Nacional del Nordeste, Resistencia, Chaco, Argentina*. [Http://www.unne.edu.ar/cyt/2004/](http://www.unne.edu.ar/cyt/2004/)
- Pinto C 1924. Biologia do *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911. *Sciência Médica* 2: 541-543.
- Rosa JA 1995. Contribuição ao estudo morfológico de ovos e ninfas de 1° e de 5° estádios de *Triatoma circummaculata* (Stal, 1859) e de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Reduviidae). São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo [Tese].
- Rosa JA, Barata JMS, Cilense M, Belda FMN 1999. Head morphology of 1st and 5th instar nymphs of *Triatoma circummaculata* and *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). *Int J Insect Morphol Embryol* 28: 363-75.
- Rosa JA, Barata JM, Santos JLF, Cilense M 2000. Morfologia dos ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). *Rev Saude Publica* 34: 538-542.

- Ruas-Neto AL, Corseuil E 2002. Hábitos, distribuição geográfica e potencialidade dos triatomíneos rupestres como vetores da doença de Chagas no Rio Grande do Sul, Brasil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Entomol Vect* 9: 231-249.
- Sainz AC, Mauro LV, Moriyama EN, Garcia BA 2004. Phylogeny of triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* suggested by mitochondrial DNA sequences. *Genetica* 121:229-40.
- Salvatella R, Rosa R, Basmadjian Y, Puime A, Calegari L, Guerrero J, Martinez M, Mendaro G, Briano D, Montero C, Wisnivesky-Colli C 1995. Ecology of *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Triatominae) in wild and peridomestic environments of Uruguay. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 325-328.
- Salvatella R, Calegari L, Puime A, Basmadjian Y, Rosa R, Guerrero J, Martinez M, Mendaro G, Briano D, Montero C, et al. 1994. Feeding pattern of *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) in peridomestic habitats, of a rural area of Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 36: 311-320.
- Silveira AC 2000. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. *Cad Saúde Publica* 16 (Suppl. 2): 35-42.
- Vinhaes MC, Dias JCP 2000. Doença de Chagas no Brasil. *Cad Saúde Pública* 16 (Suppl. 2): 7-12.
- WHO (World Health Organization), 2002. Control of Chagas disease. Geneva: World Health Organization. (WHO Technical Report Series 811).

NOTA

Descrição do alótipo macho de *Triatoma carcavallo* Jurberg, Rocha & Lent 1998 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)

Margareth Cardozo-de-Almeida, Jacenir Reis dos Santos-Mallet, Teresa Cristina Monte Gonçalves

Setor de Morfologia e Ultraestrutura de Vetores, Departamento de Entomologia, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A descrição do holótipo fêmea, de *Triatoma carcavallo* Jurberg, Rocha e Lent, 1998, foi feita com base na descrição de quatro espécimes, coletadas no intradomicílio, nos municípios de Santana do Livramento, Canguçu, Jaguarão e Dom Feliciano, estado do Rio Grande do Sul. No presente trabalho está sendo descrito o alótipo macho, com base nas características morfológicas inclusive da genitália externa, de três espécimes capturados no peridomicílio, no município de Encruzilhada do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

Palavras-chaves: Triatominae - *Triatoma carcavallo* - alótipo - doença de Chagas

O holótipo, fêmea, de *Triatoma carcavallo* Jurberg, Rocha & Lent, 1998 foi baseado na descrição de quatro espécimes fêmeas, coletadas no intradomicílio, nas localidades de Santana do Livramento, Canguçu, Jaguarão e Dom Feliciano, municípios do estado do Rio Grande do Sul. Esta espécie foi considerada afim de *Triatoma rubrovaria* por distinguir-se pelo intenso colorido laranja do lobo posterior do pronoto, do cório e do aspecto aguçado do ângulo anterior do pronoto, além das características anatômicas em relação às proporções, comprimento e largura da cabeça, características do rosto, tamanho dos olhos, abdômen menor (o que lhe confere um aspecto arredondado) e do gonocoxito do nono segmento. O presente trabalho refere-se a descrição morfológica do aspecto geral e da genitália externa do alótipo de *Triatoma carcavallo*, coletado em 28 de outubro de 2005, no peridomicílio, na localidade de Cordilheira, município de Encruzilhada do Sul (30°32'38"S; 52°31'19"O), estado do Rio Grande do Sul.

* Autor para correspondência: marca@ioc.fiocruz.br

DESCRIÇÃO

Alótipo macho de *Triatoma carcavalloi* Jurberg, Rocha & Lent 1998.

Comprimento total do macho: 18 mm;

Largura do pronoto: 4,3 mm; largura do abdômen 6,7 mm.

Coloração geral píceca ou preto com lobo posterior do pronoto laranja ou avermelhado, menos a metade posterior da linha mediana e duas pequenas linhas submedianas em forma de vírgula que são negras, e manchas avermelhadas no cório e conexivo. Pilosidade curta.

Cabeça moderadamente rugosa, principalmente na região inter-ocular, quase glabra. Comprimento quase três vezes a largura (1:0,33), e mais longa que o pronoto (1:1,2); região pós-ocular levemente convexa, sem projeções angulares. Pescoço com 1+1 manchas amareladas laterais. Clípeo bem demarcado, alargado na metade posterior. Genas longas, levemente arredondadas distalmente, quase atingindo o ápice do clípeo. Olhos lateralmente alcançando o ápice do clípeo e atingindo ou ultrapassando o nível da superfície ventral, mas não atingindo a superfície dorsal da cabeça. Relação largura do olho (vista dorsal) e distância inter-ocular (1:2). Tubérculos anteníferos situados na metade da região ante-ocular. Primeiro segmento antenal curto, não alcançando o ápice da cabeça, ficando perto do terço distal; segundo segmento antenal com pilosidade preta, curta e forte formando filas paralelas sem outro tipo de sensilas; terceiro e quarto segmentos antenais com abundante pilosidade fina dourada em todos os segmentos com cerdas pretas mais fortes e mais longas nas extremidades proximais e mais de quatorze tricobótrias bem longas e visíveis. Relação entre os segmentos antenais (1:4,5:3:2). Rostro píceco ou preto exceto o terceiro segmento que é castanho ou marrom dourado. Cerdas do rostro curtas, exceto no terceiro segmento, longas e mais nítidas. Primeiro segmento do rostro curto, não alcançando o nível da inserção do primeiro segmento antenal no tubérculo antenífero; segundo segmento do rostro muito longo, ultrapassando a parte posterior do olho; terceiro segmento do rostro curto.

Pronoto com o colar negro e ângulos anteros-laterais acentuados e cônicos, ligeiramente divergentes. Lobo anterior escuro, píceco ou preto, com tubérculos distais bem desenvolvidos conectados por uma área elevada lembrando uma ponte; esta área interdiscal é envolvida por um anel, especialmente marcada no bordo posterior; ângulos laterais ausentes. A superfície do lobo anterior é granulosa. O lobo posterior laranja avermelhado é rugoso, moderadamente brilhante, mas não polido, as carenas submedianas são largas e longas com aspecto de uma área elevada e de coloração píceca ou preta.

Escutelo preto, convexo e com bordas lisas; projeções basais pequenas, mas sempre presentes e distinguíveis. Depressão central triangular ou em formato de coração, profunda e com superfície rugosa. Processo apical do escutelo subcônico de superfície rugosa transversal de tamanho moderado, com dois terços do comprimento do corpo do escutelo. Propleura avermelhada.

Hemélitros atingindo o ápice do VII urotergito. Cório quase totalmente laranja avermelhado, exceto na extremidade e num pequeno triângulo na área interna limítrofe à membrana, esta é píceca ou escurecida. Nervuras da membrana da mesma cor escura, exceto o 1/5 proximal da pós-cubital que é avermelhado. Patas uniformemente pretas, exceto algumas áreas tarsais que são castanhas; fêmur posterior sete vezes mais longo que largo.

Fêmures com um par muito pequeno de denticulos subapicais. Fossetas presentes nas tíbias anteriores e medianas nos machos.

Abdômen largo, com parte dos urotergitos dorsais expostos. Ventralmente convexo, não achatado ao longo da região mediana, com superfície polida de coloração negra brilhante, quase glabra, com desenho estriado quase não aparente.

Espiráculos adjacentes à sutura conexial, quase em contato com ela. Conexivo laranja avermelhado com linhas negras nas duas margens de cada segmento. Ventralmente, a coloração avermelhada do conexivo se estende até os urotergitos numa área curta (Fig. 1).

Genitália externa dos machos é ventral e constituída do falo e 1+1 parâmeros, localizados no 9º segmento ou pigóforo. O estudo das estruturas da genitália está em andamento.

Alótipo: macho, depositado na Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Outros espécimes examinados: machos depositados na Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Data da coleta: 28/10/2005.

Procedência: Localidade de Cordilheira, Município de Encruzilhada do Sul (30°32'38"S; 52°31'19"W), Rio Grande do Sul, Brasil.

Agradecimentos: Ao Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS), Secretaria de Estado da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, pelo envio dos espécimes examinados.