



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

TESE DOUTORADO

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DAS DIFERENTES
POPULAÇÕES DE *Triatoma sordida* (STÅL, 1859)
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE)

Catarina Macedo Lopes

2012



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

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DE DIFERENTES
POPULAÇÕES DE *Triatoma sordida* (STÅL, 1859)
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE)

CATARINA MACEDO LOPES

Sob a Orientação da Professora

Jacenir Reis dos Santos Mallet

e Co-orientação do Professor

Dr. François Noireau – (*In memoriam*)

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de *Doctor Scientiae*, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.



595.7

Lopes, Catarina Macedo, 1965-

L864c

T

Contribuição ao conhecimento de diferentes populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) / Catarina Macedo Lopes. - 2012.

xvii, 93 f.: il.

Orientador: Jacenir Reis dos Santos Mallet.

Tese(doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, 2012.

Bibliografia: 80-93.

1. *Triatoma* - Populações - Teses. 2. *Triatoma* - Distribuição geográfica - Teses. 3. *Triatoma* - Morfologia - Teses. 4. *Tripanossoma cruzi* - Teses. I. Mallet, Jacenir Reis dos Santos, 1958-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

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

CATARINA MACEDO LOPES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de *Doctor Scientiae*, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal em 30 de novembro de 2012, área de concentração em Zoologia.

TESE APROVADA EM 30/11/2012

Banca Examinadora:

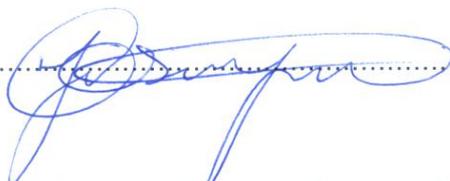

.....
Profa. Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet – UFRRJ/ IOC
(Orientador)


.....

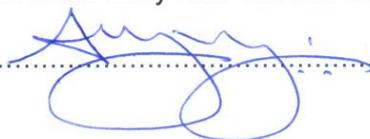
Profa. Dra. Angela Cristina Veríssimo Junqueira- IOC/FIOCRUZ


.....

Profa. Dra. Marina Vianna Braga- IOC/FIOCRUZ


.....

Prof. Dr. José Eloy dos Santos Júnior – CpRR/FIOCRUZ-MG


.....

Prof. Dr. Antônio José Mayhé Nunes - UFRRJ

DEDICO À

Criança que há em cada um de nós, pois são elas que acalantam nossas almas tornando suportáveis nossas incertezas durante este passar *continuun*.

Grandiosa Mente Cósmica, que possibilitou meu convívio com Seres repletos de luz que constituem **Minha família**, porto seguro em meio a tantas tempestades.

“Dissertações, assim como os filhos e as amizades necessitam de um período gestacional para sua consolidação. Onde o tempo destinado é calcado na qualidade daquilo que se dá e do que se recebe”.

Catarina Macedo

“A ciência pode classificar e nomear os órgãos de um sabiá, mas não pode medir os seus encantos. A ciência não pode calcular quantos cavalos de força existem nos encantos de um sabiá. Quem acumular muita informação perde o condão de adivinhar: divinare. Os sabiás divinam”.

Manoel de Barros

AGRADECIMENTOS,

No transcorrer de minha existência tenho tanto á agradecer a legião de seres que tornaram menos árdua a tarefa do apreender. Neste momento de intensa emoção talvez venha a esquecer de alguns, mas a essência do ensinamento proferido por cada um está impressa de forma indelével em minha pessoa. Costumo dizer que o ato de agradecer em seu bojo carrega a doce magia do contentamento de estar junto, partilhando de pedras e flores da estrada.

Então para começar a elencar meus agradecimentos começo pelo começo de tudo no universo, a Grandiosa Mente Cósmica que nos conecta através de sua “ENERGIA” que usualmente chamamos de Deus, agradeço pelo discernimento do mutável, pelo pulsar constante que me leva a transpor inúmeros obstáculos em meu caminhar e pela maior de todas as dádivas que foi o fato de nascer na família constituída por Joana Macedo Lopes, João Evangelista Lopes, Inácio, Evangelista e Rita Regina, onde desde cedo tive a chance de vivenciar exemplos de doação, superação na busca dos ideais sem esquecer o respeito e o reconhecimento das potencialidades de cada um.

À Rita Regina, Mana amada, companheira inseparável de todos os momentos que desde muito cedo me fez companheira de suas fantásticas viagens ensinando-me a mergulhar no mundo mágico dos livros.

Ao Rubens Pinto de Mello, Amigo e Esposo por ter me amado sem restrições, adivinhando como Mago todos meus sonhos para então concretizá-los e por ter tornado-se o companheiro de todas as horas; fato que o faz para mim mais que um homem, um verdadeiro Mestre, que com o qual estou sempre apreendendo sobre as nuances desta passagem.

Ao Pedro Lucas e Katherine, porque em meio a tantas outras opções escolheram a mim para desempenhar a mais difícil de todas as tarefas a de ser **Mãe**, dando-me assim a oportunidade de exercitar o partilhar, o ouvir e sobre tudo a oportunidade de descobrir o real significado da palavra Suficiente.

À Flaviane Sampaio, que harmonicamente se fez nora, mãe e amiga, a que me concedeu junto com Pedro Lucas um dos maiores dos presentes dos seres vivos, a perpetuação de meus genes em um ser repleto de luz, Gustavo, que se entrosou em nosso seio familiar de forma indelével.

À Angélica Mello que estando no mundo sem ser do mundo honrou-me com sua valiosa amizade, que para mim é um grande presente, pelos ensinamentos proferidos.

Ao sempre Amigo Anthony Érico Guimarães pelo suporte científico de ensinamentos sobre a vida e a Miriam Mendes por seu carinho sempre constante.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, na pessoa do Prof. Francisco Gerson de Araújo, pela honra de levar o nome desta renomada Instituição como parte de minha formação acadêmica.

Aos Docentes do curso de Pós-Graduação, pelos valiosos ensinamentos.

À Agra Mendonça, pelo seu ombro amigo, sua disponibilidade e carinho em servir todos os alunos de Pós- Graduação, do curso de Biologia Animal.

À Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet, que mais que uma orientadora é uma amiga que incentiva, acolhe com a delicadeza e a sabedoria de uma Mãe.

Ao Dr. François Noireau, intenso como um cometa lindo, com a cauda repleta de tantas perguntas científicas a serem respondidas junto aqueles de quem cruzava o céu da existência. Sua passagem para o outro nível de energia deixou-me além da saudade intensa e da sensação de orfandade a certeza de que a ciência se faz através das colaborações. Voe livre e feliz através do sempre.

À Dra. Ana Laura Carbajal de la Fuente, uma das estrelas brilhantes que veio na bela cauda do Cometa François. Agradeço o bem maior que me deste, a amizade e a família que me acolheu quando longe de minha Pátria. Agradeço também pela parceria, dedicação e ensinamentos em todas as áreas da ciência e pelo principal a cumplicidade, que até hoje nos faz dar boas gargalhadas.

À Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves, que com sua experiência e o coração puro repassa a mágica alegria de ensinar, sendo capaz de transformar o nada em tudo, fazendo de sua passagem uma sinfonia composta por sonatas de doação.

Ao Dr. José Jurberg, por ter me iniciado no estudo com Triatomíneos e por ter me feito vivenciar e acreditar que uma porta fechada não quer dizer o fim o caminho.

À Dra. Marta Patricia Juarez, que me acolheu em seu laboratório ensinando os passos da análise de cromatografia, concedendo além do apoio logístico o apoio de família o qual sempre quero ter por perto em minha jornada científica.

Ao Dr. Gustavo Calderón Fernandez, por ter me dedicado horas de seus dias tão assoberbados, ensinando-me a avaliar os resultados dos cromatogramas.

Ao Querido Amigo Dr. Juan Girotti, que se fez um super companheiro durante minha estadia na Argentina, sendo aquele que me passou com muita propriedade fatos culturais de seu País e ensinou-me com muita dedicação, a técnica.

Á Dra. Luciana Villaverde que abriu muito mais do que as portas de sua casa, e sim as portas de uma amizade muito forte que é capaz de suplantar barreiras da distância.

Ao Querido Sérgio Mijailovsky que esteve ao meu lado ensinando-me as nuances do equipamento.

À Dra. Rosemary Duarte, pela amizade sincera ao longo destes 25 anos de parceria.

À Delmi Canalle, por ter me concedido as amostras de *Triatoma sordida* da Província de Formosa – Argentina.

À Dra. Ângela Junqueira, que em sua fortaleza acolheu-me em sua confiança, devotando-me carinho.

À Dra. Raquel Pacheco e a Marize Quinhones Pires, pela amizade e dedicação em todos estes anos.

À Dra. Simone Freitas, que pelo seu exemplo de luta para realização de seus sonhos contagia, não somente a minha pessoa, mas a todos, com a sua pulsante energia e ainda me brinda com sua torcida constante para que eu também realize os meus.

À Dra. Suzete Araújo Gomes, por sempre ter sido o exemplo de mulher guerreira e parceira.

À Professora Simone Teves, companheira do bom combate, que por seu comportamento de ser muito mais guindaste do que carga está sempre pronta a ajudar. Obrigada por incentivar-me a seguir para o alto e além de nossos limites.

Ao Amigo Dr. Jeronimo Alencar, por ser este exemplo inigualável de superação aos obstáculos do caminho.

À Dra. Monique Motta, companheira de muitas jornadas que todos os dias se faz presente trazendo-me o seu sorriso amigo que reflete não somente a beleza de sua alma, mas que a ciência se faz de forma natural.

À Lucilla, que considero um Anjo que chegou ao momento certo de minha precisão.

Ao Tailan Moretti, outro Anjo que cruzou o meu caminho, devotando-me não só sua paciência, mas toda natureza do ensinar.

Às amigas, Selma Mello, Célia Mello, Maria da Conceição e Rita de Cássia, pela torcida diária e incansável.

À Maria de Lourdes Nascimento de Souza, pelo carinho e por todas as boas de horas de descontração.

Ao Dr. Alfredo de Azevedo, que durante todos esses anos brinda-me com sua visita diária, trazendo discussões multidisciplinares. Às Dras. Claudia Andrade e a Nataly de Souza e Maycon Neves, que são exemplo de dignidade, luta e perseverança.

Às amigas, Alice Helena e Danielle Misael não somente pela ajuda na realização da técnica e análise do hábito alimentar dos insetos, mas também pelos momentos inesquecíveis vividos durante as campanhas para coletar triatomíneos de que foram coroados de intensa parceria onde dividir acomodações de repouso era sempre momentos de descontração envoltos em atmosfera de amizade. Estejam certas de a companhia de vocês fez com que o trabalho de campo se tornasse menos árduo.

Ao Joaquim Godinho, pelo entrosamento, por ter vestido a camisa do projeto atuando não só como motorista, mais como um membro da equipe e um amigo.

À sempre e constante Amiga Stela que como uma estrela brilha no céu de Oriximiná levando dignidade e emoção ao povo negligenciado do norte do Brasil, por nossas conversas que me fazem tão bem.

Às minhas queridas Secretárias do apoio predial do Pavilhão Carlos Chagas Ester (Esterzinha) e Carla Saldanha que juntas tornam os caminhos administrativos sempre transponíveis:

Ao meu querido Amigo Genilton Vieira do Laboratório de Imagens do IOC pelo incentivo constante.

Aos Companheiros Leandro Borges, Ana Paula Ruffino e Adalberto, que sempre estavam dispostos a colaborar nas atividades de campo e na rotina do laboratório, fato que tornava horas de trabalho em agradáveis momentos de descontração.

Ao casal exemplo de parceria na vida conjugal e científica José Eloy e Christiane Matos por serem uma fonte inesgotável de bons fluídos sempre colocando-me para cima.

À todos os membros da equipe de pesquisadores do Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas do Instituto Oswaldo Cruz, em especial a Dra Constança Brito e a Professora Livia Reis pelas análises de PCR das fezes dos insetos.

À Dra. Frédérique Brenière pela confiança, amizade, carinho e bons conselhos.

Ao Dr. Fábio Mourão e à Inês amigos com quem troquei muitas horas de boas risadas regadas sempre pelo carinho e um saborosíssimo café.

À todos colegas do Laboratório de Transmissores de Leishmanioses Amanda Bastos, Ariane Pereira, Aline Baffa, Bento Mochcovitch, Cristina Santos, Marcus, Margareth Almeida, Maria Luiza Ribeiro, Nathanielly Casado, Silvia Justi, Silvia Menezes, Renato Jr, Willian Marques e outros que certamente podem não estar aqui relacionados, por toda a torcida.

Às Secretarias de Saúde Municipais e Estaduais da área de estudo, pela total dedicação prestada a nossa equipe, durante o trabalho de campo.

A todos aqueles que de uma forma ou de outra estiveram comigo a caminhar, fica aqui o meu mais profundo agradecimento e a felicidade de estar presente em Vosso convívio.

BIOGRAFIA

Catarina Macedo Lopes, filha de João Evangelista Lopes e Joana Macedo Lopes, nasceu em 20 de Maio de 1965, no Estado do Rio de Janeiro (antigo Estado da Guanabara). Iniciou sua formação universitária no Curso de Ciências Biológicas em Março de 1984 na Fundação Técnico Educacional Souza Marques, no Estado do Rio de Janeiro, onde em 05 de Janeiro de 1989 diplomou-se em Biologia. Sua carreira científica teve início em 1987, como estagiária bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico no Departamento de Entomologia, Laboratório de Culicídeos do Instituto Oswaldo Cruz sob a orientação do Professor Dr. Anthony Érico da Gama Guimarães para desenvolver atividades de pesquisa sobre Ecologia de dípteros Culicídeos vetores de agentes causadores de Doenças em ambiente silvestre como também em áreas sob ações impactantes. No ano de 1988 foi contratada como Auxiliar Técnica em pesquisa pela firma de Consultoria Sondotécnica Engenharia de Solos, para integrar a equipe de Entomologia da Divisão de Meio Ambiente, responsável pela elaboração de Relatório de Impacto de Meio Ambiente (RIMA) em obras de grande porte, situadas em diferentes ecossistemas, como as Usinas Hidrelétricas de Samuel, Rondônia e a de Manso no Mato Grosso e assim analisar os efeitos da ação antrópica no ambiente e os efeitos advindos sobre a entomofauna vetora de agentes patógenos. Tendo como meta ampliar conhecimentos no campo da ecologia, em 1989, passa a frequentar o curso de Bacharelado em Ecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. No início da década de 90 retorna aos quadros do Instituto Oswaldo Cruz como bolsista na Categoria de Aperfeiçoamento, do Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico sob a orientação do Professor Dr. Anthony Érico da Gama Guimarães no Departamento de Entomologia, Laboratório de Culicídeos, para dar continuidade as atividades de pesquisa de campo e de laboratório sobre Ecologia de dípteros vetores de agentes patogênicos agora também em Parques Nacionais e Estaduais e Reservas Florestais e em áreas de grandes empreendimentos, como obras de construção de Usinas Hidrelétricas. Durante o período de 1991 a 1995 desempenhou atividades de ensino, como Monitora de trabalhos práticos no Curso de Mestrado em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, na Disciplina de Entomologia Médica. Em 1996 com o projeto aprovado pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ: “Estudos da Ecologia de Mosquitos (Diptera - Culicidae) na Reserva Biológica do Tinguá, Nova Iguaçu - Estado do Rio de Janeiro” apresenta sua monografia, para obtenção do título de especialista em Entomologia, concedido pelo curso de Especialização em Entomologia Médica “*Lato senso*” da Fundação Oswaldo Cruz. Desde então, vem atuando como docente na disciplina do módulo Entomologia Médica do referido curso, onde também vem orientado em trabalhos de

elaboração da monografia. No ano de 1998 inicia seus estudos com triatomíneos, sendo contratada, através do convênio Fiocruz/ CNPq/ FNS, para analisar através da utilização de técnicas Bioquímicas e Moleculares, o “status” específico de *taxa* de difícil elucidação, iniciando a parceria científica com o Dr. François Noireau. Através do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ, onde ingressa no ano de 1999, foi escolhida para receber a bolsa de estudos da FAPERJ na modalidade Aluno Nota 10. Em 2001 apresenta sua dissertação de mestrado intitulada “Estudo do complexo de espécies *Triatoma sordida* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) através de marcadores genéticos, morfometria e morfologia”. Obtendo aprovação no concurso público, em 2002 passa a compor os quadros de funcionário da Fundação Oswaldo Cruz, na função de Tecnologista em Saúde Pública. Desde então vem participando de vários projetos e de várias publicações.

RESUMO

Diferentes espécies da subfamília Triatominae estão envolvidas na transmissão da Tripanosomíase Americana em uma área que abrange desde o sul dos Estados Unidos da América até o sul da Argentina. As populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) com ampla distribuição geográfica na área que se estende pela América do Sul, são basicamente associadas ao domínio do bioma Cerrado "corredor Cerrado" no Brasil e, em demais países da América do Sul (Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai), sendo encontradas no bioma do Gran-Chaco. No Brasil ainda são encontradas em áreas de Cerrado seco, Caatinga, Mata Atlântica e Pantanal. No entanto, esta distribuição não é uniforme em sua área de ocorrência, e a capacidade de dispersão e colonização de novos habitats é condicionada pela interação entre fatores abióticos e bióticos. As áreas modificadas por pressão antrópica contribuem para o processo de dispersão das diferentes populações de *T. sordida*, modificando os mecanismos de associação com a fauna no ambiente natural. Com o objetivo de estudar as populações de *T. sordida*, abordagens multidisciplinares foram realizadas para testar a hipótese de que a ocorrência de estruturação de características fenotípicas estar relacionadas com as fitogeográficas. Para isso, foi utilizado: a caracterização morfológica da genitália externa do macho por microscopia óptica, e das fêmeas por microscopia eletrônica de varredura; análises da morfometria geométrica das asas de machos e fêmeas e análise bioquímica do perfil de hidrocarbonetos cuticulares. Também foi investigada a presença de infecção por *Trypanosoma cruzi* pela técnica multiplex-PCR. A morfologia das estruturas da genitália de macho e fêmeas não forneceram diferenças que pudessem estruturar as populações por ecorregiões. As análises com a morfometria geométrica detectaram variações significativas no tamanho e forma que expressam uma plasticidade possivelmente gênica nas populações. Os perfis de hidrocarbonetos apresentados também assinalam a tendência a uma possível agregação das populações em ecorregiões. As populações das três ecorregiões analisadas estavam negativas quanto à presença de infecção por *T. cruzi*. Os resultados observados expressam que as populações de *T. sordida* vêm apresentando variações genéticas ao longo de sua área de distribuição.

Palavras-chave: Triatomíneo, plasticidade fenotípica, morfologia, hidrocarbonetos, ecorregiões, multiplex PCR

ABSTRACT

Different species of Triatominae are involved in the transmission of American Trypanosomiasis in an area that spread from the southern United States to southern Argentina. Populations of *Triatoma sordida* (Stål, 1859) with wide geographic distribution in the area that stretches across South America, are primarily associated with the area of Cerrado "Savanna corridor" in Brazil and other South American countries (Argentina, Bolivia, Paraguay and Uruguay), being found in the Gran-Chaco biome. In Brazil they are still found in dry Savanna areas, Caatinga, Atlantic Forest and Pantanal. However, this distribution is not uniform in its range, and dispersibility and colonization of new habitats is conditioned by the interaction between abiotic and biotic factors. The areas modified by human pressure contribute to the dispersion process of the different *T. sordida* populations, modifying the mechanisms of association with the fauna in the natural environment. Aiming to study the populations of *T. sordida*, multidisciplinary approaches were undertaken to test the hypothesis that occurrence of a structuring based on phenotypic features are related to phytogeographical characteristics. For this purpose, we performed the characterization of the male external genitalia by light microscopy and of the females by scanning electron microscopy; geometric morphometric studies of the wings of both sexes; and biochemical analysis of cuticular hydrocarbon profiles. The presence of infection by *Trypanosoma cruzi* was also investigated using the multiplex-PCR technique. The differences in morphology of the genital structure of both sexes could not be used to structure populations by ecoregions. The geometric morphometrics analysis detected significant variations in size and shape expressing a possible genetic plasticity in populations. The hydrocarbon profiles also indicate a tendency to aggregate the populations in ecoregions. The populations of the three analyzed ecoregions were negative for *T. cruzi* infection. The results obtained are indicate that the populations of *T. sordida* are presenting genetic variations in the areas of geographical distribution.

Key-words: Triatomine, phenotypic plasticity, morphology, hidrocarbon, ecoregion, multiplex-PCR

ABREVIATURAS E SIGLAS:**Estruturas da genitália externa do macho.**

Ae- Edeago

Apb – Aparelho articular basal

Cj – Conjuntiva

En - Endosoma

EPIb - Extensão Mediana da Placa Basal

M – Membrana

Pa – parâmeros

Pb - Ponte basal

Ph - Falosoma

PIb - Placa basal

PrEn - Processo do Endosoma

PrG - Processo do Gonoporo

Prp – processo mediano do pigóforo

SPh - Suporte do Falosoma

Estruturas genitália da externa da fêmea:

Gc8 - Gonocoxito do 8° segmento

Gp8 – Gonapófise do 8° segmento

IX- 9° urotergito

VIII- 8°urotergito

VII - 7°urotergito

Estruturas Morfometria geométrica das asas:**Veias Principais**

Cu - Cubital

M - Média

Pcu - Posterior Cubital

R -Radial

Sc - Subcostal

Veias Transversais

m-cu - Média cubital

cu-pcu – Cubital pós cubital

PAR – Pontos Anatomicos de referência

Técnicas Utilizadas:

CA - Análise de Clado

CG - Cromatografia gasosa

CGC/MS- Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa

KI - Índices de Kovats

HC- Hidrocarbonetos cuticular

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

MO - Microscopia Optica

UPGMA – Algoritmo de Média Aritmética Não Ponderada

Países/ Estados/Municípios:

ARG- Argentina

BR – Brasil

BO – Bolívia

BA - Bahia

MG - Minas Gerais

MS - Mato Grosso do Sul

MT - Mato Grosso

TO - Tocantins

Aur - Aurora do Tocantins

Boc - Bocaiúva

Com - Combinado

Cup - Aparecida do Taboado

Dou - Douradina

For – Formosa

Gua - Guaraciama

Ita - Itaobim

Lav - Lavandeira

Par - Paranaíba

Pon - Ponte Alta do Tocantins

StaCruz - Santa Cruz

Sdes - São Desidério

Ter- Terenos

Tla - Três Lagoas

Val - São Valério da Natividade

VG - Várzea Grande

Software utilizados :

CLIC- Coleção de pontos anatômicos de referência para identificação e caracterização.
(Collecting Landmarks for Identification and Characterization)

JMP- Statistical Discovery- [HTTP:WWW.jmp.com](http://www.jmp.com)

NTSYS-pc – Sistema de análise de Taxonomia Numérica e Multivariada.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	1
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1- DESCRIÇÃO DAS LOCALIDADES	10
3.2- COLETA DOS INSETOS.....	14
3.3- PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES.....	14
3.4- IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO de <i>Trypanosoma cruzi</i>.....	15
3.5. ANÁLISES POPULACIONAIS	16
3.5.1- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DOS MACHOS POR MICROSCOPIA ÓPTICA (MO).....	16
3.5.2- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	19
3.5.3 - MORFOMETRIA GEOMÉTRICA.....	25
3.5.3.1 – DADOS MÉTRICOS	25
3.5.3.2 - COLETA DE DADOS	27
3.5.3.3 – TESTES ESTATÍSTICOS.....	28
3.5.4 – ANÁLISE DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES.....	29
3.5.4.1 – COLETA DE DADOS.....	29
3.5.4.2 – TESTES ESTATÍSTICOS.....	33
4- RESULTADOS	34
4.1- ENTOMOLÓGICOS.....	34
4.2- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE MACHOS POR MICROSCOPIA ÓPTICA (MO)	35
4.3- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	44
4.3.1- VISTA DORSAL.....	44
4.3.2- VISTA VENTRAL	52
4.4- MORFOMETRIA GEOMETRICA DAS ESTRUTURAS DAS ASAS	59
4.4.1- ANÁLISE DO TAMANHO	59

4.4.2- ANÁLISE DA CONFORMAÇÃO.....	59
4.5- ANÁLISE DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES	67
4.6- ANÁLISE DA INFECÇÃO POR <i>Trypanosoma cruzi</i>	70
5- DISCUSSÃO	71
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	71
5.1- INFECÇÃO POR <i>Trypanosoma cruzi</i>.....	73
5.2- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE MACHOS POR MICROSCOPIA ÓTICA (MO)	74
5.3- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	75
5.4- MORFOMETRIA GEOMETRICA DAS ESTRUTURAS DAS ASAS	76
5.5- ANÁLISE HIDROCARBONETOS CUTICULARES	77
6- CONCLUSÕES	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: A - MAPA GERAL DAS ÁREAS DE PROCENDÊNCIA DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA*; B – DETALHE DAS ÁREAS DE ORIGEM DOS EXEMPLARES DE *T. SORDIDA*; AZUL - POPULAÇÕES DO GRAN CHACO; VERMELHO - POPULAÇÕES DO CERRADO ÚMIDO; VERDE- POPULAÇÕES DO CERRADO SECO; 1- PATIÑO/FORMOSA (FOR); 2 - SANTA CRUZ/ BO (STACRUZ); 3 - SÃO DESIDÉRIO/BA (SDES); 4 - VÁRZEA GRANDE/MT (VG); 5 - BOCAIÚVA/MG (BOC); 6 - GUARACIAMA/MG (GUA); 7- ITAOBIM/MG (ITA); 8 - APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP); 9 - DOURADINA/MS (DOU); 10 - PARANAÍBA/MS (PAR); 11 - TRÊS LAGOAS/MS (TLA); 12 - TERENOS/MS (TER); 13 - AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR); 14 - COMBINADO/TO (COM); 15 - LAVANDEIRA/TO (LAV); 16 - PONTE ALTA DO TOCANTINS/TO (PON); 17 - SÃO VALÉRIO DA NATIVIDADE/TO (VAL); C - EXEMPLAR DE FÊMEA DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL 1859). 12

FIGURA 2: PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DOS MACHOS DAS POPULAÇÕES ANALISADAS DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL 1859); A – PONTO DE CISÃO NO VII SEGMENTO; B- CADINHO DE PORCELANA CONTENDO HIDRÓXIDO DE PÓTASSIO (KOH) 10% E IMERSÃO DOS ÚLTIMOS SEGMENTOS ABDOMINAIS NA SOLUÇÃO; C- AQUECIMENTO DA SOLUÇÃO DE KOH . D- GENITÁLIA DIAFANIZADA. PA – PARÂMEROS; PH – FALOSOMA; PRP – PROCESSO MEDIANO DO PIGÓFORO..... 17

FIGURA 3: PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DAS FÊMEAS DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL 1859); A – PASSAGEM EM SÉRIE ALCOÓLICA DA PEÇA SECCIONADA NO VII SEGMENTO; B- CONSERVAÇÃO EM DESSECADOR PARA POSTERIOR METALIZAÇÃO; C- MONTAGEM NO SUPORTE DO MEV; D- MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA MODELO JEOL JSM 6390 LV, ONDE REALIZOU-SE A OBSERVAÇÃO DAS ESTRUTURAS..... 19

FIGURA 4: TRATAMENTO DA ASA DO EXEMPLAR DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) PARA A TÉCNICA DE MORFOMETRIA GEOMETRICA; A- RETIRADA DA ASA; B- MONTAGEM ENTRE LÂMINA E LAMÍNULA COM ESCALA E IDENTIFICAÇÃO; C- FOTOGRAFIA EM MICROSCÓPIO ESTEREOSCÓPICO; FOTOS: CATARINA MACEDO 26

FIGURA 5: FOTOGRAFIA DA ASA DIREITA DA FÊMEA DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859), MOSTRANDO A DISPOSIÇÃO DOS PONTOS ANATÔMICOS DE REFERENCIA (PAR 1-10) SELECIONADOS PARA ANÁLISE DAS COORDENADAS DAS POPULAÇÕES DE TRIATOMÍNEOS. FOTO CATARINA MACEDO. CU= CUBITAL; M= MÉDIA; PCU= POSTERIOR CUBITAL; R= RADIAL; SC= SUBCOSTAL; M-CU - MÉDIA CUBITAL; CU-PCU – CUBITAL PÓS CUBITAL 27

FIGURA 6: SEQUÊNCIA DO PROCESSAMENTO PARA INICIO DA EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES DAS ASAS DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); A- ASAS ACONDICIONADAS EM PAPEL ALUMÍNIO; B-

FRASCOS (VIALS) CONTENDO N-HEXANO, ONDE AS ASAS FICAM IMERSAS NO SOLVENTE POR 24 HORAS; D- OTIMIZAÇÃO DA AÇÃO DO SOLVENTE ATRAVÉS DO AQUECIMENTO EM PLACA DOS VIALS ETIQUETADOS CONTENDO AS AMOSTRAS. E- RETIRADA DAS ASAS DOS VIALS. FOTOS: CATARINA MACEDO 31

FIGURA 7: SEQUÊNCIA DO PROCESSAMENTO PARA EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES DAS ASAS DE *TRIATOMA SORDIDA* (STÅL, 1859), A - LAVAGEM DAS ASAS; B - REDUÇÃO DO VOLUME SOB FLUXO DE NITROGÊNIO; C - PASSAGEM DA AMOSTRA POR COLUNA NÃO POLAR CONSTITUÍDA POR SÍLICA. D E E- CROMATÓGRAFO DE FASE GASOSA E APLICAÇÃO DA AMOSTRA NO EQUIPAMENTO. FOTOS: CATARINA MACEDO..... 32

FIGURA 8: DENDROGRAMA ELABORADO A PARTIR DAS DISTÂNCIAS GEOGRÁFICAS DOS PONTOS DE CAPTURA DAS POPULAÇÕES ANALISADAS DE *TRIATOMA SORDIDA* (STÅL 1859); CLADO VERDE (CERRADO SECO) – REFERENTE AS ÁREAS QUE COMPARTILHAM FEIÇÕES DO ECOSSISTEMA CERRADO/CAATINGA (CERRADO *STRICTO SENSU*); CLADO AZUL (GRAN CHACO)- REFERENTE AS ÁREAS QUE COMPARTILHAM FEIÇÕES DO ECOSSISTEMA CERRADO/GRAN CHACO; CLADO VERMELHO (CERRADO ÚMIDO) - REFERENTE AS ÁREAS QUE COMPARTILHAM FEIÇÕES DO ECOSSISTEMA CERRADO/ CERRADÃO/ PANTANAL. 34

FIGURA 9A: POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - FALOSOMA, VISTA DORSAL, APRESENTANDO ASPECTO RETANGULAR, ALONGADO, COM PROJEÇÃO APICAL, OBSERVADO EM COMBINADO/TO (COM); GUARACIAMA/MG (GUA); SÃO DESIDÉRIO/BA (SDS); STA CRUZ/BO (STACRUZ). VALOR DA ESCALA 0,2MM AE-EDEAGO; APB – APARELHO ARTICULAR BASAL; CJ – CONJUNTIVA; EPLB - EXTENSÃO MEDIANA DA PLACA BASAL; M – MEMBRANA; PH - FALOSOMA; PLB - PLACA BASAL; PREN - PROCESSO DO ENDOSOMA..... 36

FIGURA 9B: POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - FALOSOMA, VISTA DORSAL, APRESENTANDO ASPECTO OVOIDE, MAIS LARGO QUE LONGO E PEQUENO, COM PROJEÇÃO APICAL. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR); PARANAIBA/MS (PAR); SÃO VALÉRIO DE NATIVIDADE/TO (VAL); TRÊS LAGOAS/MS (TLA). VALOR DA ESCALA 0,2MM. AE- EDEAGO; APB – APARELHO ARTICULAR BASAL; CJ – CONJUNTIVA; EPLB - EXTENSÃO MEDIANA DA PLACA BASAL; M – MEMBRANA; PH - FALOSOMA; PLB - PLACA BASAL; PREN - PROCESSO DO ENDOSOMA..... 37

FIGURA 09C POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - FALOSOMA, VISTA DORSAL, APRESENTANDO ASPECTO OVÓIDE, MAIS LONGO QUE LARGO. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP); BOCAIÚVA/MG (BOC); DOURADINA/MS (DOU); FORMOSA/ARG (FOR); ITAOBIM/MG (ITA); LAVANDEIRA/TO (LAV); PONTE ALTA DO BOM JESUS/TO (PON); TERENOS/MS (TER); VÁRZEA GRANDE/MT (VG). VALOR DA ESCALA 0,2MM. AE- EDEAGO; APB – APARELHO ARTICULAR BASAL; CJ – CONJUNTIVA; EPLB - EXTENSÃO MEDIANA DA

PLACA BASAL; M – MEMBRANA; PH - FALOSOMA; PLB - PLACA BASAL; PREN - PROCESSO DO ENDOSOMA..... **38**

FIGURA 10A: POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - PROCESSO DO ENDOSOMA ALIFORME, CURTO E COM O ÁPICE COMPLETAMENTE RECOBERTO DE DENTÍCULOS. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP); ITAOBIM/MG (ITA); LAVANDEIRA/TO (LAV). VALOR DA ESCALA 0,2MM. **39**

FIGURA 10B: POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - PROCESSO DO ENDOSOMA ALIFORME, LONGO E LARGO COM O ÁPICE COMPLETAMENTE RECOBERTO DE DENTÍCULOS. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE BOCAIÚVA/MG (BOC); DOURADINA/MS (DOU); GUARACIAMA/MG (GUA); FORMOSA/ARG (FOR); SÃO VALÉRIO DA NATIVIDADE (VAL) E VÁRZEA GRANDE/MS (VG). VALOR DA ESCALA 0,2MM). **40**

FIGURA 10C POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - PROCESSO DO ENDOSOMA ALIFORME, LONGO E AFILADO COM O ÁPICE COMPLETAMENTE RECOBERTO DE DENTÍCULOS. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE: AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR); COMBINADO/TO (COM); PARANAÍBA/MS (PAR); PONTE ALTA DO BOM JESUS (PON); SÃO DESIDÉRIO/BA (SDES); SANTA CRUZ/BO (STACRUZ); TRENOS/MS (TER); TRÊS LAGOAS/MS (TLA). VALOR DA ESCALA 0,2MM. **41**

FIGURA 11: POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) - SUPORTE DO FALOSOMA SOLDADO EM SUA BASE E LIVRE NA PORÇÃO APICAL DO BRAÇO. OBSERVADO NAS POPULAÇÕES DE AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR); LAVANDEIRA/TO (LAV); SÃO DESIDÉRIO/BA (SDES). VALOR DA ESCALA 0,2MM. **42**

FIGURA 11A: ÁRVORE UPGMA A PARTIR DOS COEFICIENTES DE SIMILARIDADE DOS PERFIS DOS CARACTERES OBSERVADOS NAS ESTRUTURAS EXTERNAS DA GENITÁLIA: FALOSOMA, PROCESSO DO ENDOSOMA, SUPORTE DO ENDOSOMA DOS MACHOS DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859). VERDE - POPULAÇÕES PROVENIENTES DA ECORREGIÃO DO CERRADO SECO; VERMELHO DO CERRADO ÚMIDO; AZUL DO GRAN CHACO. **43**

FIGURA 12: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – VISUALIZAÇÃO DOS ÂNGULOS LATERAIS BEM MARCADOS EM RELAÇÃO A MARGEM DO BORDO DISTAL DO VII UROTERGITO (SETA) NAS POPULAÇÕES PROCEDENTES DE FORMOSA/ARG (FOR); VÁRZEA GRANDE/MT (VG); BOCAIÚVA/MG (BOC); ITAOBIM/MG (ITA); APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP)..... **45**

FIGURA 13: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – VISUALIZAÇÃO DOS ÂNGULOS LATERAIS BEM MARCADOS EM RELAÇÃO A MARGEM DO BORDO DISTAL DO VII UROTERGITO (SETA) NAS POPULAÇÕES DE AURORA DO

TOCANTINS/TO (AUR); COMBINADO/TO (COM); PARANAÍBA/MS (PAR); TERENOS/MS (TER); TRÊS LAGOAS/MS (TLA). 46

FIGURA 14 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – VISUALIZAÇÃO DOS ÂNGULOS LATERAIS POUCO ACENTUADOS EM RELAÇÃO A MARGEM DO BORDO DISTAL DO VII UROTERGITO (SETA) NAS POPULAÇÕES DE SÃO DESIDÉRIO/BA (SDS); PONTE ALTA DO TOCANTINS/TO (PON); SÃO VALÉRIO DA NATIVIDADE/TO (VAL). 47

FIGURA 15: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – ASPECTO DO BORDO DISTAL DO IX UROTERGITO TRILOBADO (SETA) NAS POPULAÇÕES DE VÁRZEA GRANDE/MT (VG); ITAOBIM/MG (ITA); TRÊS LAGOAS/MS (TLA); SÃO VALÉRIO DA NATIVIDADE/TO (VAL). 48

FIGURA 16: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – ASPECTO DO BORDO DISTAL DO IX UROTERGITO LEVEMENTE TRILOBADO (SETA) NAS POPULAÇÕES DE FORMOSA/ARG (FOR); SÃO DESIDÉRIO/BA (SDS); BOCAIÚVA/MG (BOC); APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP); PARANAÍBA/MS (PAR); TERENOS/MS (TER); COMBINADO/TO (COM). 49

FIGURA 17: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – ASPECTO DO BORDO DISTAL DO IX UROTERGITO SEM LÓBULO NA REGIÃO MEDIANA (SETA) NAS POPULAÇÕES DE AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR); PONTE ALTA DO TOCANTINS/TO (PON). 50

FIGURA 18: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA DORSAL – A, B E C - ASPECTO DA FORMA SEMICIRCULAR DO X UROTERGITO (SETA) NAS POPULAÇÕES DE ITAOBIM/MG (ITA); TERENOS/MS; PONTE ALTA DO TOCANTINS/TO (PON); D – ASPECTO DA FORMA EM CAMPÂNULA DO X UROTERGITO NAS DEMAIS POPULAÇÕES. 51

FIGURA 19: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL – (A, B E C), ELEVAÇÃO PROEMINENTE NA PORÇÃO MEDIANA DO BORDO POSTERIOR DO VII UROESTERNITO NAS POPULAÇÕES DE BOCAIÚVA/MG (BOC); GUARACIAMA/MG (GUA); PAR- PARANAÍBA/MS; D- ELEVAÇÃO DISCRETA NA PORÇÃO MEDIANA DO BORDO POSTERIOR DO VII UROESTERNITO (SETA) NAS DEMAIS POPULAÇÕES. 52

FIGURA 20: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL -

REENTRÂNCIAS ACENTUADAS NA PORÇÃO DISTAL DO IX UROTERGITOS (SETA) NAS POPULAÇÕES DE BOCAIÚVA/MG (BOC); COMBINADO/TO (COM); DOURADINA/MS (DOU); SÃO VALÉRIO/TO (VAL); TERENOS/MS (TER); VÁRZEA GRANDE/MT (VG)..... 54

FIGURA 21: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL – REENTRÂNCIAS SUAVES NA PORÇÃO DISTAL DO IX UROTERGITOS (SETA) NAS POPULAÇÕES DE APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP); AURORA/TO (AUR); ITAOBIM/MG (ITA); LAVANDEIRA/TO (LAV); PARANAÍBA/MS (PAR); PONTE ALTA DO TOCANTINS/TO (PON); SÃO DESIDÉRIO/BA (SDS). 55

FIGURA 22: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL – SEM REENTRÂNCIAS NA PORÇÃO DISTAL DO IX UROTERGITOS (SETA) NAS POPULAÇÕES DE; FORMOSA/ARG (FOR); TRÊS LAGOAS/MS (TLA). 56

FIGURA 23: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL – A- GONOCOXITOS GC8 AFASTADOS. B- GONOCOXITOS GC8 PRÓXIMOS (SETA).. .. 56

FIGURA 24: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859); VISTA VENTRAL – REGIÃO BASAL DO GONOCOXITO 8 COM A PRESENÇA DE INÚMEROS ESPINHOS, UNIFURCADOS, BIFURCADOS E TRIFURCADOS (SETA). 57

FIGURA 24A: ÁRVORE UPGMA A PARTIR DOS COEFICIENTES DE SIMILARIDADE DOS PERFIS DOS CARACTERES OBSERVADOS NAS MICROGRAFIAS ELETRÔNICA DA PORÇÃO FINAL DO ABDÔMEN DE FÊMEAS DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1859) EM VISTA VENTRAL. VERDE - POPULAÇÕES PROVENIENTES DA ECORREGIÃO DO CERRADO SECO; VERMELHO DO CERRADO ÚMIDO; AZUL DO GRAN CHACO. 58

FIGURA 25: TAMANHO CENTRÓIDE DAS ASAS DE FÊMEAS (F) E MACHOS (M) DE *TRITOMA SORDIDA* ORIGINÁRIAS DAS LOCALIDADES BRASILEIRAS DE APARECIDA DO TABOADO/MS (CUP), AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR), BOCAIÚVA/MG (BOC), COMBINADO/TO (COM), ITAOBIM/MG (ITA), PARANAÍBA/MS (PAR), SÃO DESIDÉRIO/BA (SDS), TRÊS LAGOAS/MS (TLA) E VÁRZEA GRANDE/MT (VG) E FORMOSA (FOR) DA ARGENTINA. AS CAIXAS MOSTRAM OS VALORES MÉDIOS EM CADA GRUPO, A LINHA CENTRAL SEPARA O QUARTIS 25 E 75 E AS LINHAS EXTREMAS 10 E 90. A LINHA CENTRAL DENOTA A GRANDE MÉDIA E OS PONTOS NOS CENTROS DAS CAIXAS A DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS. VERMELHO CLARO, VERDE CLARO E AZUL CLARO CORRESPONDEM AS FÊMEAS; VERMELHO ESCURO, VERDE ESCURO E AZUL ESCURO CORRESPONDEM AOS MACHOS. 61

FIGURA 26 MAPA FATORIAL BASEADO EM DOIS FATORES (F1 E F2) DISCRIMINANTES DA VARIAÇÃO DA CONFORMAÇÃO DAS ASAS DE POPULAÇÕES

DE *TRIATOMA SORDIDA*, MOSTRANDO EM VERDE (F: VERDE CLARO; M: MACHO ESCURO) AS POPULAÇÕES DAS LOCALIDADES DE: AURORA DO TOCANTINS/TO (AUR), COMBINADO/TO (COM); BOCAIÚVA/MG (BOC), ITAOBIM/MG (ITA); E SÃO DESIDÉRIO/BA (SDES): PROVENIENTES DAS ECORREGIÕES DO CERRADO SECO. EM VERMELHO (F: VERMELHO CLARO; M: MACHO ESCURO), AS POPULAÇÕES DAS ECORREGIÕES DO CERRADO ÚMIDO; APARECIDA DO TABOADOS/MS (CUP); PARANAÍBA/MS (PAR); TRÊS LAGOAS/MS (TLA) E VÁRZEA GRANDE/MT (VG). EM AZUL (F: AZUL CLARO; M: AZUL ESCURO).A POPULAÇÃO DE FORMOSA DA ARGENTINA (FOR) PROVENIENTE DO GRAN CHACO..... 62

FIGURA 27: ÁRVORE UPGMA A PARTIR DAS DISTÂNCIAS DE MAHALANOBIS MOSTRANDO EM VERDE (F VERDE CLARO E M VERDE ESCURO), O GRUPO DAS POPULAÇÕES DE *T. SORDIDA* PROVENIENTE DA ECORREGIÃO DO CERRADO *STRICTO SENSU* (SECO); EM VERMELHO (F VERMELHO CLARO E M VERMELHO ESCURO), POPULAÇÕES DO CERRADO ÚMIDO; EM AZUL (F AZUL CLARO E M AZUL ESCURO) AS DO GRAN CHACO. AS VARIÁVEIS CANÔNICAS MOSTRAM QUE HÁ UMA DISCRETA SEPARAÇÃO DA CONFORMAÇÃO DAS ASAS ENTRE OS GRUPOS DAS DIFERENTES ECORREGIÕES..... 64

FIGURA 28: MAPA FATORIAL ELABORADO A PARTIR DAS DISTÂNCIAS DE MAHALANOBIS MOSTRANDO POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* PROVENIENTES DA ECORREGIÃO DO CERRADO SECO (VERDE); CERRADO ÚMIDO (VERMELHO) E GRAN CHACO (AZUL)..... 65

FIGURA 29: ÁRVORE UPGMA A PARTIR DAS DISTÂNCIAS DE MAHALANOBIS MOSTRANDO, EM VERDE, UM GRUPO COM AS POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* PROVENIENTE DO CERRADO SECO; EM VERMELHO, DO CERRADO ÚMIDO E EM AZUL DO GRAN CHACO.. 66

FIGURA 30: REPRESENTAÇÃO DOS CROMATOGRAMAS OBTIDOS PELA ANÁLISE DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES DAS ASAS DE EXEMPLARES DE POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA* REPRESENTANTES DE TRÊS ECORREGIÕES: GRAN CHACO (SANTA CRUZ E FORMOSA), CERRADO SECO (SÃO VALÉRIO), CERRADO ÚMIDO (APARECIDA DO TABOADO). OS NÚMEROS SÃO EQUIVALENTES À QUANTIDADE DE CARBONOS QUE FORMAM OS COMPOSTOS E O TEMPO DE RETENÇÃO DOS COMPOSTOS EM MINUTOS.. 67

FIGURA 31: ÁRVORE UPGMA ELABORADA A PARTIR DAS DISTÂNCIAS DE MAHALANOBIS CALCULADAS ENTRE AS POPULAÇÕES DE *TRIATOMA SORDIDA*. CLADO 1- NA COR AZUL, POPULAÇÕES DO GRAN CHACO (STA CRUZ/BO E FORMOSA/ARG); CLADO 2- NA COR VERDE, POPULAÇÕES DO CERRADO SECO; CLADO 3- EM VERMELHO POPULAÇÕES DE *T. SORDIDA* PROVENIENTES DE ZONAS COMPREENDIDAS NAS ÁREAS DO CERRADO ÚMIDO. 69

ÍNDICE DE TABELAS

- TABELA 1:** DADOS GERAIS SOBRE AS LOCALIDADES DE ORIGEM DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA*; QUANTIDADE DE ESPÉCIMES E TÉCNICAS UTILIZADAS PARA ANÁLISE DOS INDIVÍDUOS. MO= MICROSCOPIA ÓTICA; MEV= MICROSCOPIA ELECTRÔNICA DE VARREDURA; HC= HIDROCARBONETOS; PCR= DO INGLÊS “QUANTITATIVE POLYMERASE CHAIN REACTION”. **13**
- TABELA 2:** POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* ANALISADAS POR MORFOMETRIA GEOMÉTRICA DE ASAS SEGUNDO SEXO E LOCALIDADE. **25**
- TABELA 3:** AMOSTRAS DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* ANALISADAS SEGUNDO O PERFIL DE HIDROCARBONETOS CUTICULARES DAS ASAS DE ACORDO LOCALIDADE E SEXO. **30**
- TABELA 4:** PORCENTAGEM DE RECLASSIFICAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DE *T. SORDIDA* SEGUNDO LOCALIDADE DE ORIGEM E SEXO. **63**
- TABELA 5:** HIDROCARBONETOS CUTICULAR DE POPULAÇÕES DE *T.SORDIDA*, IDENTIFICADOS ATRAVÉS DE CGC/MS. **68**
- TABELA 6:** ANÁLISE POR MULTIPLEX-PCR DO CONTEÚDO INTESTINAL DE POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA* (STÅL, 1959). **70**

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1: CARACTERES MORFOLÓGICOS DAS ESTRUTURAS DOS UROTERGITOS DAS FÊMEAS DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA*, OBSERVADOS NA MICROGRAFIA ELETRÔNICA: VII= 7ºUROTERGITO; VIII= 8ºUROTERGITO; IX= 9ºUROTERGITO; X= TUBO ANAL. **22**

QUADRO 2: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DAS ESTRUTURAS DOS UROTERGITOS E UROESTERNITOS DAS FÊMEAS DAS POPULAÇÕES DE *TRITOMA SORDIDA*. SETAS INDICAM OS CARACTERES UTILIZADOS NA ANÁLISE DA LINHA DO BORDO POSTERIOR DO IX E ÁPICE DO BORDO LATERAL DO IX UROTERGITO. VII= 7ºUROTERGITO; VIII= 8ºUROTERGITO; IX= 9ºUROTERGITO; X= TUBO ANAL; GP8= GONOPOFÍSE DO VIII SEGMENTO; GC8= GONOCOXITO. DO VIII SEGMENTO..... **23**

QUADRO 3: MICROGRAFIA ELETRÔNICA DAS ESTRUTURAS DOS UROESTERNITOS DAS FÊMEAS DAS POPULAÇÕES DE *T. SORDIDA*. SETAS INDICAM OS CARACTERES UTILIZADOS NA ANÁLISE DO POSICIONAMENTO DAS PLACAS DO GC8= GONOCOXITO 8 E NA PRESENÇA DE ESPINHOS NA BASE. **24**



1- INTRODUÇÃO

A diversidade de características ecológicas, morfológicas, fisiológicas e genéticas das distintas populações de uma espécie, pode ser uma resposta à adaptação regional ou local, onde espécies de ampla distribuição geográfica têm seus demes sujeitos às variações ambientais. A descontinuidade é uma característica da distribuição geográfica ou ecológica das populações e os contatos esporádicos, estabelecidos por indivíduos transientes, é que mantêm o patrimônio genético comum nos diferentes bolsões populacionais de uma espécie (Ávila-Pires, 2000).

Os indivíduos pertencentes aos *taxa* não se encontram uniformemente distribuídos dentro de sua área de ocorrência ou área de distribuição geográfica, e sim, estão organizados de forma a se estabelecerem onde as condições do biótopo lhes são favoráveis, condicionadas pelas inter-relações existentes entre os organismos e os ambientes físico ou abiótico (Costa *et al.*, 2002; Peterson *et al.*, 2002; Ibarra-Cardena *et al.*, 2009). Sendo as propriedades do nicho ocupado, momentaneamente por determinada espécie, de extrema importância no conhecimento da plasticidade fenotípica das distintas populações, uma vez que esta plasticidade pode ser uma resposta à adaptação regional ou local para as influências que moldam as diversas características ecológicas, morfológicas, fisiológicas e genéticas, a evolução torna-se imprescindível para lidar com importantes alterações ambientais. Assim, as espécies estão em constante adaptação a novos desafios que inevitavelmente produzirão variação intraespecífica (Ávila-Pires, 2000).

Embora várias condicionantes ambientais atuem como fatores limitantes para o desempenho dos organismos, são as oscilações dos fatores climáticos que realmente parecem atuar nos processos seletivos e de distribuição geográfica, determinando a abundância latitudinal de alguns gêneros e espécies da subfamília Triatominae (Galvão *et al.*, 1998; Rodriguero & Gorla, 2004; Bahrndorff *et al.*, 2006). Estes insetos vetoram o parasito *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico causador da tripanosomíase americana, enfermidade que acometia historicamente somente os países que integram a América Latina. Sem sombras de dúvidas, o processo de globalização vem afetando, positiva ou negativamente, tanto os perfis epidemiológicos da doença de Chagas como as perspectivas e estratégias de seu controle e manejo. Mediante mudanças importantes no sistema de produção agropecuária e o intenso fluxo migratório, a doença vem urbanizando-se em ritmo acelerado e indivíduos infectados estão silenciosamente dispersando-se para áreas não endêmicas da América do Norte, Japão e Europa, gerando riscos de transmissão

transfusional, constituindo-se assim em um problema de saúde pública para estas regiões (Dias, 2007; Bern & Montgomery, 2009; Schmunis & Yadon, 2010).

Lucena (1959), quando abordou a ecologia dos triatomíneos que ocorriam em território brasileiro, discorreu sobre a impossibilidade de delimitar com exatidão a área de ocorrência das espécies, pois as flutuações dos fatores bióticos e abióticos influenciam na dispersão alongando ou retraindo a área de incidência tornando a distribuição geográfica imprecisa.

Desta maneira, os mecanismos de dispersão dos triatomíneos, a superposição destes insetos em ambiente natural, assim como as distâncias geográficas existentes entre as populações, são aspectos que constituem alvos fundamentais de investigação sobre possíveis variações morfológicas, morfométricas, cromáticas, bioquímicas, ecológicas e epidemiológicas, associadas ou não aos processos de adaptação ao ambiente doméstico que estejam se expressando nos *taxa*, uma vez que a flutuação do conjunto de fatores ecológicos são primordiais para a especiação em triatomíneos (Pereira *et al.*, 1996).

A ampla distribuição geográfica de várias espécies de triatomíneos está relacionada à amplitude da valência ecológica apresentada pelos indivíduos. As populações que ocupam posições geográficas extremas podem diferir entre si, chegando algumas vezes, a apresentar espécimes descritos como especificamente distintos ou os mesmos podem estar passando pelo processo de especiação, que surge em decorrência de subpopulações localmente adaptadas (Avila- Pires, 2000).

As alterações das características fitofisionômicas das áreas, especialmente com as ações de desmatamento, queimadas, construções de grande porte, implantações de extensas áreas voltadas para produção agrícola, estão sempre associadas à grande fluxo migratório e também à perda da biodiversidade da flora e fauna, fatores que comumente modificam a dinâmica da transmissão dos agentes patógenos pelos insetos vetores levando a um incremento de casos de transmissão de enfermidades, como a doença de Chagas (Diotaiuti, 2007). Segundo a classificação ecológica básica os triatomíneos podem ser considerados como: vetores de importância primária - quando apresentam marcada antropofilia e capacidade de se adaptar aos ecótopos artificiais, onde formam colônias com altas densidades; e vetores secundários – quando apresentam graus de antropofilia variados e uma relativa e instável adaptação a habitação humana.

Assim, dentro da subfamília Triatominae observa-se diferenças na capacidade vetorial das espécies (Gourbière *et al.*, 2012), e a correta identificação taxonômica quer seja pela utilização dos caracteres morfológicos que podem distinguir a maioria das espécies

(Carbajal de la Fuente *et al.*, 2011), ou por técnicas bioquímicas, é importantíssima para a implementação da vigilância e controle das espécies consideradas como primárias, nos ambientes de peridomicílio e intradomicílio, envolvidas no ciclo de transmissão do *T. cruzi*.

Estudos entomológicos de vetoração de patógenos demonstraram que as espécies secundárias de triatomíneos vêm aumentando a densidade nos domicílios nos últimos anos, devido ao comportamento mutável que leva a adaptação constante para as novas situações (Tartarotti *et al.*, 2004). Deve ser ainda considerado que espécies com importância secundária na transmissão da doença estão ocupando posições vetorais primárias. De acordo com Diotaiuti *et al.* (2000), a importância epidemiológica dos triatomíneos também pode ser definida por seu grau de associação com o ser humano e Tartarotti *et al.* (2004) enfatiza que o acompanhamento de novas populações de vetores em regiões de risco deve ser realizado periodicamente. Assim, a definição do papel primário ou secundário das diferentes espécies de triatomíneos não pode ter um conceito geral, devendo-se considerar o potencial de domiciliação local e a pressão que as modificações ambientais possam acarretar ao processo de domiciliação.

A redução da fauna e flora nativas advindas de ações antrópicas, a introdução de animais domésticos em áreas silvestres, bem como as mudanças ambientais decorrentes das ações de controle de vetores, podem implicar nos mecanismos de dispersão de diversas espécies da subfamília Triatominae que apresentem comportamento essencialmente silvestre, influenciando o reposicionamento de determinada espécie dentro deste ambiente de entropia. Forattini *et al.* (1971) verificaram a dispersão passiva de triatomíneos silvestres a custos de materiais de construção e de animais, o que demonstra a extrema importância do conhecimento bem como do controle da fauna de triatomíneos sobre a tendência de domiciliação. Segundo Coura (2003), o processo de adaptação dos triatomíneos ao ambiente do domicílio no Brasil passou a ocorrer a partir do período de intenso desmatamento, fruto das alterações trazidas com os ciclos da agricultura e da pecuária.

Segundo Diotaiuti *et al.* (1994), as mudanças no ambiente natural associadas aos diversos usos dos ecossistemas, também seriam fatores que favoreceram a invasão domiciliar por triatomíneos e da fauna que lhe serve de alimento e de reservatório para *T. cruzi*.

Desta forma, a veiculação da doença de Chagas, que atinge cerca de 8 milhões de pessoas, principalmente na América Latina, tendo no Brasil a estimativa de 2 milhões está condicionada no ambiente domiciliar primariamente à existência de circunstâncias

favoráveis à domiciliação dos insetos que atuam como vetor (Silveira, 2000; Rassi *et al.*, 2010, WHO, 2010).

Diante das altas densidades peridomiciliares e do fato de ser *T. sordida* uma das espécies mais capturada no Brasil, considera-se relevante o estudo de populações de diferentes ecorregiões do bioma de Cerrado, sendo uma das hipóteses deste trabalho avaliar se nas áreas de ocorrência de *T. sordida* aspectos relacionados com as variáveis fenotípicas estão sendo influenciadas pelas feições fitogeográficas locais. Ainda neste contexto, outra hipótese a ser testada é se os gradientes fitogeográficos constituem gradações que influem nas expressões dos atributos relacionados aos caracteres fenotípicos e genéticos, que podem ser detectados pela análise da morfologia, conformação e tamanho além dos perfis de hidrocarbonetos cuticulares presentes nas epicutícula dos indivíduos das populações.

Desta forma, este trabalho tem como meta precípua conhecer as possíveis variações ecológicas, morfológicas, morfométricas e bioquímicas em distintas populações de *T. sordida* provenientes da Argentina (Província de Formosa), Bolívia (Departamento de Santa Cruz de la Sierra) e Brasil (estados de Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Tocantins), e como objetivos específicos pretende-se:

- Analisar as características morfológicas das estruturas da genitália externa dos machos utilizando a Microscopia Óptica (MO);
- Analisar a morfologia da genitália externa de fêmeas das diferentes populações utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Estabelecer se existe variação fenotípica quanto ao tamanho e à conformação das estruturas alares, utilizando a morfometria geométrica em populações de *T. sordida* originárias de distintas ecorregiões;
- Analisar o perfil dos hidrocarbonetos cuticulares presentes nas asas de insetos das diferentes populações de *T. sordida*, utilizando a técnica de cromatografia gasosa capilar e da espectrometria de massa;
- Identificar a infecção circulante por *Trypanosoma cruzi* nas populações de *T. sordida* das distintas ecorregiões através da técnica do multiplex-PCR, para caracterizar o risco de transmissão do parasito nestas áreas.



2- REVISÃO DA LITERATURA

Lucena em (1959), discorreu sobre os gradientes de ocorrência de *Triatoma sordida* (Stål, 1859), afirmando que esta espécie podia ser encontrada desde áreas frias e secas até as mais quentes e úmidas dos biomas de Cerrado e do Gran Chaco, mantendo sempre uma estreita associação com as áreas de mata ciliar, onde esta espécie ocorria ao longo dos rios.

Dentre as espécies consideradas de importância secundária, *Triatoma sordida* (Stål, 1859) é uma espécie ubiquista com amplo potencial ecológico e larga distribuição geográfica, e as populações podem ocorrer em altitudes que variam desde o nível do mar até cerca de 1.800 metros, abrangendo vários países do Cone Sul (Carcavallo *et al.*, 1999). Segundo comunicação pessoal do pesquisador François Noireau, há registro de ocorrência de exemplares silvestres de *T. sordida* em áreas situadas nos Andes bolivianos a 2.600 m de altura. Assim, sua distribuição se dá ao longo das áreas da América do Sul que compõem o corredor Gran Chaco – Cerrado – Caatinga, em ecorregiões abertas que podem ser definidas nas áreas: do “Chaco úmido” na Argentina; no Gran chaco com característica de savanas na Bolívia; no “Chaco seco” no Paraguai e Uruguai; e no mosaico de biomas que constitui no Brasil a área do Chaco - Cerrado - Caatinga, onde as estações são bem definidas.

Em sua área de ocorrência, *T. sordida* destaca-se pelas altas densidades peridomiciliares e as baixas densidades em ambiente silvestre (Lent & Wygodzinky, 1979; Forattini, 1980; Diotaiuti *et al.*, 1995; Noireau *et al.*, 1997; Bar & Wisnivesky-Colli, 2001; Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2011; Vianna, 2011)

T. sordida apresenta extrema facilidade em estabelecer colônias em ambiente peridomiciliar e às vezes no domicílio, podendo assumir importante papel na transmissão da tripanosomíase (Diotaiuti *et al.*, 1995; Noireau *et al.*, 1997, 1998), sobretudo nas áreas onde tenha sido efetuado o programa de erradicação de *Triatoma infestans* (Klug, 1834).

O ecletismo na escolha de fontes de alimentação, a tendência de invadir o ambiente domiciliar e a competência vetorial em laboratório, faz com que *T. sordida* possua um potencial epidemiológico considerável. Barretto (1971, 1976); Forattini *et al.* (1973); Forattini (1980); Carcavallo *et al.* (1988); Dias (1988); Schofield (1994) e Noireau *et al.* (1997, 1998) relataram, que esta espécie é comumente encontrada infectada por *T. cruzi*. Além disso, *T. sordida* apresenta extrema facilidade em estabelecer colônias em ambiente peridomiciliar e

às vezes no domicílio, podendo assumir papel na transmissão da tripanosomíase (Diotaiuti *et al.*, 1995; Noireau *et al.*, 1997; Noireau *et al.*, 1998), sobretudo em áreas onde tenha sido efetuado o programa de erradicação de *T. infestans*.

No ano de 2006 foi atribuída a ocorrência de sete casos agudos da doença de Chagas em Macaúbas, no sudoeste do Estado da Bahia, Brasil, à espécie *T. sordida* (Dias *et al.*, 2008) e em 2009, Diotaiuti *et al.*, associaram o caso agudo de infecção no Tocantins a esta espécie.

A distribuição de *T. sordida* se aproxima muito daquela apresentada por *T. infestans*, que em alguns países da América Latina como o Paraguai, Bolívia e Argentina, ainda representa a principal fonte de transmissão do parasito *T. cruzi* (Loza-Murguía & Noireau, 2010).

O surgimento de diversas zoonoses, entre elas a doença de Chagas, sempre esteve relacionado às mudanças antrópicas ocorridas no ambiente natural. Tais mudanças causadas pela fragmentação e degradação dos ecossistemas naturais abalam o equilíbrio existente nestes habitats silvestres, fator que influencia diretamente o comportamento da fauna de vertebrados e invertebrados que atuam como hospedeiros, e dos triatomíneos (Forattini, 1980; Diotaiuti *et al.*, 1994).

O Bioma de Cerrado está compreendido em uma área considerada como "hotspot", isto é, uma das mais ricas ecorregiões terrestres no planeta, com fauna única e uma das maiores diversidade de flora que compreende uma cobertura vegetal nativa da ordem de 1.043.346,02 km² (Mittermeier *et al.*, 1999). Segundo Ledru (2002), o fato de que áreas do cerrado e floresta podem ocorrer na mesma região, na mesma latitude, sob condições climáticas semelhantes, gerou duas hipóteses para a formação deste bioma: 1^a- se fundamenta na ação natural do fogo em áreas de floresta decídua seca; 2^a sustenta que a origem do cerrado foi natural.

Segundo Castro (1994), mesmo sendo o Cerrado um bioma dos mais ameaçados devido à intensa pressão antrópica que acelera o desaparecimento de conjuntos de espécies, a sua biodiversidade ainda é bastante expressiva e distinta. A região deste bioma com a formação de grandes áreas desmatadas corresponde no Brasil ao estado de Goiás, leste do Mato Grosso do Sul, centro do Tocantins, extremo oeste da Bahia e Triângulo Mineiro. Nestas regiões a ocupação humana está bastante consolidada e aparentemente foi motivada pela implantação de pastagens para a criação de gado de corte.

O Cerrado ao longo da sua ocorrência, apresenta estratificação vertical, que pode ser caracterizada pela presença de mosaicos resultantes da variação dos ecossistemas, com formação de áreas de tensão entre diferentes biomas: Hileia Amazônica, Mata Atlântica e Gran Chaco. Esta diversidade de paisagens é um fator determinante para a formação de rotas migratórias de variado número de espécies da flora e fauna e de inúmeras oportunidades para o estabelecimento das espécies, inclusive de insetos relacionados com a transmissão de agentes patógenos (Silva, 2011).

A região do Gran Chaco é uma unidade natural com aproximadamente 1.000.000 km², caracterizado por florestas dominadas por quebrachos, que se alternam com extensas áreas de pastagens para a qual se atribui quatro províncias: a província da Caatinga que compreende o nordeste do Brasil; a província do Cerrado que abrange o centro sul do Brasil e o nordeste do Paraguai e da Bolívia; a província do Gran Chaco compreendendo o sul da Bolívia, ocidente do Paraguai, sul do Brasil e o centro norte da Argentina; e a província do Pampa compreende a parte central e ocidental da Argentina, o sul do Uruguai, o sul estado de Brasília e do Rio Grande do Sul (Morrone, 2006). Segundo Ceballos *et al.* (2006) e WHO, (2009), o Gran Chaco é considerada como uma das regiões mais endêmicas para a doença de Chagas. Rojas de Arias *et al.* (1993); Bar *et al.* (1996, 1999); Noireau *et al.* (1997, 1998) também relacionaram áreas do bioma do Gran Chaco com a ocorrência de triatomíneos infectados por *T. cruzi*.

A hipótese de que a região fitogeográfica do Cerrado, caracterizada por seu clima seco e elevadas temperaturas, incluindo o estado de Minas Gerais, seria a área de origem do centro dispersão de *T. sordida* (Forattini, 1980). Entretanto, esta foi questionada por Noireau *et al.* (1999) e Carcavallo *et al.* (2000), que basearam-se na variabilidade genética apresentadas pelas populações coletadas tanto no Chaco como no Cerrado, onde verificaram além da variação genética relativamente alta do Gran Chaco, a estruturação geográfica das populações coletadas com distâncias superiores a 20Km. Surge assim a hipótese de que a origem do centro de dispersão da unidade panmítica em que se constitui a espécie *T. sordida* partiria da região do Gran Chaco. Gurgel-Gonçalves *et al.* (2011) corroboram a hipótese com resultados baseando-se na abordagem realizada sobre modelagem de nichos ecológicos.

De acordo com Forattini *et al.* (1979) *T. sordida* resiste com sucesso às modificações ambientais com apreciável capacidade de dispersão e colonização de ecótopos artificiais instalados em espaços abertos mesmo a distâncias apreciáveis da vegetação residual, uma vez que de acordo com Bar *et al.* (1993), sua capacidade de voo máxima pode atingir um raio de 700 m. *T. sordida*, mesmo sendo originalmente um inseto silvestre, em sua área de

distribuição, vem sendo o vetor mais abundante nas estruturas artificiais onde se efetuaram ações de controle para eliminação de *T. infestans*, podendo ser considerado como um possível substituto do vetor principal na transmissão de *T. cruzi* (Dias, 1988; Bar *et al.* 1993; Rojas de Arias *et al.* 1993; Diotaiuti *et al.* 1995; Costa, 1997; Noireau *et al.* 1997; Vinhaes e Silveira, 2001; Pelli *et al.* 2007). Noireau *et al.* (1995, 1996, 1997) ressaltam que a domiciliação de *T. sordida* em várias regiões da Bolívia pode ser considerada primária, não sendo proveniente do processo de erradicação do vetor principal. Damborsky *et al.* (2001) verificaram a presença de *T. sordida* em ecótopos domésticos, peridomésticos e silvestres na província de Corrientes na Argentina, demonstrando amplo valor ecológico em relação as outras espécies secundárias.

Segundo Dujardin *et al.* (2009) a utilização da morfometria geométrica que se trata de uma análise matemática, tem como base as observações biológicas da co-variação de tamanho e da conformação dos organismos preservando a informação do arranjo espacial do organismo ou o da estrutura estudada, reduzindo os efeitos das diferenças no crescimento, que têm geralmente causas ambientais. Desta forma, os mecanismos de dispersão das diversas espécies da subfamília Triatominae, a superposição destas em ambiente natural, assim como as distâncias geográficas existentes entre as populações intraespecíficas e interespecíficas, são aspectos que constituem alvos fundamentais de investigação sobre possíveis variações morfométricas, cromáticas e ecológicas que estejam se expressando nos taxa.

Dujardin *et al.* (1997a, 1998) foram os primeiros a empregarem nos seus estudos a morfometria como mais um parâmetro na validação de táxon. Esta técnica tem sido muito utilizada para dirimir dúvidas quanto ao status taxonômicos em Triatominae (Matias *et al.* 2001; Villegas *et al.* 2002; Carbajal de la Fuente *et al.* 2011), possibilitando distinguir o tamanho das estruturas entre espécimes de laboratório e do campo (Jaramillo *et al.* 2002, Jaramillo, 2004); estudar a estruturação espacial (Schachter-Broide *et al.*, 2005; 2009; Gaspe *et al.* 2012); caracterizar a dinâmica das interações entre populações silvestres, peridomésticas e domésticas (Borges *et al.* 2005); conhecer as possíveis alterações das características morfológicas ao longo da distribuição geográfica de populações intraespecíficas (Lopes *et al.* 2008) e avaliar a influência dos efeitos ecológicos sobre a conformação e tamanho de espécies irmãs (Gurgel-Gonçalves *et al.* 2011) que podem fornecer dados que possam subsidiar estratégias de controle entomológico do vetor da enfermidade de Chagas. Além disso, trata-se de uma técnica de fácil execução e baixo custo.

A cutícula externa de insetos é uma camada hidrofóbica de cera composta por misturas de lípideos que incluem hidrocarbonetos de cadeia longa, sendo eles alcanos, alcenos, ésteres de ceras, ácidos graxos, álcoois, aldeídos e esteróis. Este padrão da composição química da fina camada, denominada de epicutícula, que recobre todo o corpo do inseto e desempenha diferentes funções tais como isolamento térmico, proteção contra desidratação, proteção contra absorção de químicos e ação deletéria de microorganismos. Também é considerado um caráter útil para realizar de forma confiável, uma abordagem quimiotaxonomica entre as populações inter e intra-específica de triatomíneos (Juarez & Brenner, 1986; Calderón-Fernandez *et al.* 2004). Desta maneira, através da aplicação da técnica de cromatografia gasosa, a análise da composição de hidrocarbonetos cuticulares tem se constituído ferramenta adicional para estudar a relação entre gêneros, espécies e populações (Juarez *et al.* 2000, Calderón-Fernandez *et al.* 2004).



3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1- DESCRIÇÃO DAS LOCALIDADES

Foram estudadas 17 populações de *T. sordida* oriundas de regiões geograficamente distintas que abrangeram três países da América do Sul (Bolívia, Argentina e Brasil), a saber (Figura 1; Tabela 1):

- 01 população - Departamento de Patiño da Província de Formosa - Argentina (ARG) – (25°,01'S; 60°,01'O) - Região que apresenta fitogeografia variada com a presença de matas ciliares, matas com madeira dura como o quebracho, vegetação hidrófila nas áreas pantanosas e matas xerófilas na parte ocidental mais seca. Este ecossistema é compartilhado com a Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai e neste as atividades agrícola e pastoril são importantes para economia do Departamento.
- 01 população - Departamento de Santa Cruz de la Sierra - Bolívia (BO) – (17°,44'S; 63°,12'O) – Região na qual se encontra a alternância de florestas de savana com grande áreas de cultivo e de criação de gado.
- 01 população do município de São Desidério - Bahia (BA) - (12°,29'S; 44°, 55'O) - Região localizada na zona de transição Cerrado – Caatinga, no oeste da Bahia.
- 01 população do município de Várzea Grande - Mato Grosso (MT) - (15°,38' S; 56°,13'O) – Região de transição do Cerrado com o Pantanal apresenta matas mais densas em beiras de rios e áreas úmidas.
- 03 populações dos municípios de Bocaiúva (17°,20'S; 43°,47'O); Guaraciama (16°,58'S; 43°,40'O); Itaobim (16°,34'S; 41°,33'O) - Minas Gerais (MG) - Região do bioma de Cerrado seco *sensu stricto*.
- 05 populações dos municípios de Paranaíba (19°,29'S; 51°,11'O); Três Lagoas (20°,51'S; 51°,4'O); Douradina (22°,04'S; 54°,34'O); Aparecida do Taboado (19°,50'S; 51°,20'O); Terenos (20°,27'S; 54°,49'O) - Mato Grosso do Sul (MS) - Região em áreas de influência que apresentam fitogeografia composta por denso estrato de árvores de porte médio, que se caracteriza como uma formação típica de Cerradão composto por estrato

arbóreo Denso. Entretanto, a área está sob constante avanço da atividade agropastoril e a vegetação revela o domínio da pastagem plantada.

- 05 populações dos municípios de Aurora do Tocantins (12°,37'S; 46°,30'O); Combinado (12°,51'S; 46°,33'O); Lavandeira (12°,45'S; 46°,31'O); Ponte Alta do Bom Jesus (12°,01'S; 46°,31'O) e São Valério da Natividade (11°,47'S; 48°,19'O) - Tocantins (TO) - Região do bioma de Cerrado seco *sensu stricto*.

Para verificar se as áreas de coletas das populações estavam dentro do mesmo perfil paisagístico, analisaram-se as distâncias pelo método de ligação que reúne os grupos em função de sua similaridade (menor distância) e a partir destes dados elaborou-se o dendrograma pelo método Ward com auxílio do software JMP® 10, versão livre para teste.

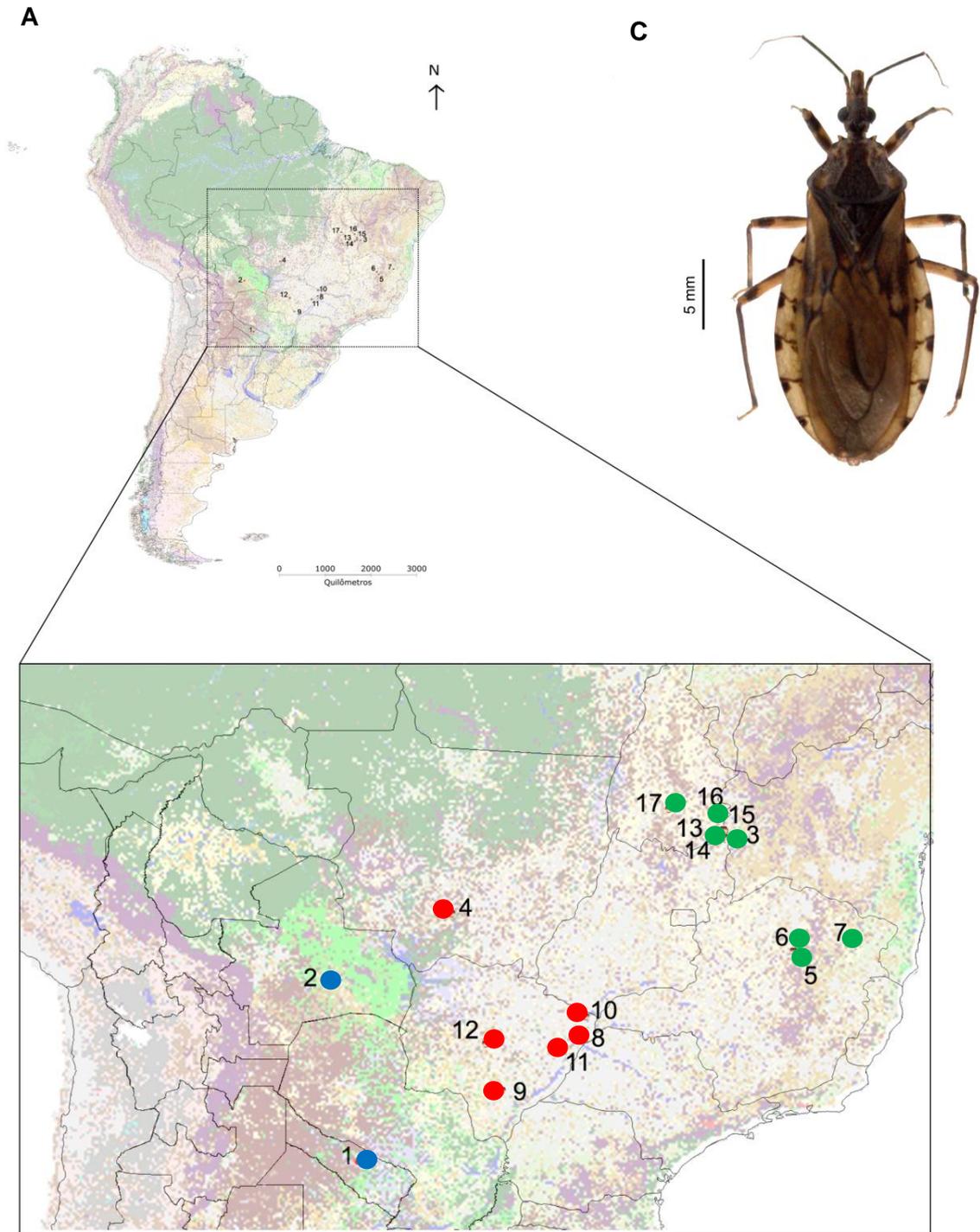


Figura 1: A - Mapa geral das áreas de procedência das populações de *Triatoma sordida*; B – Detalhe das áreas de origem dos exemplares de *T. sordida*; Azul - populações do Gran Chaco; Vermelho - populações do Cerrado úmido; Verde- populações do Cerrado seco; 1- Patiño/Formosa (For); 2 - Santa Cruz/ BO (StaCruz); 3 - São Desidério/BA (Sdes); 4 -Várzea Grande/MT (VG); 5 - Bocaiúva/MG (Boc); 6 - Guaraciama/MG (Gua); 7- Itaobim/MG (Ita); 8 - Aparecida do Taboado/MS (Cup); 9 - Douradina/MS (Dou); 10 - Paranaíba/MS (Par); 11 - Três Lagoas/MS (Tla); 12 - Terenos/MS (Ter); 13 - Aurora do Tocantins/TO (Aur); 14 - Combinado/TO (Com); 15 - Lavandeira/TO (Lav); 16 - Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon); 17 - São Valério da Natividade/TO (Val); C - Exemplar de fêmea de *Triatoma sordida* (Stål 1859). Adaptado por Catarina Macedo de Eva HD *et al.* 2002.

Tabela 1: Dados gerais sobre as localidades de origem das populações de *Triatoma sordida*; quantidade de espécimes e técnicas utilizadas para análise dos indivíduos. MG= Morfometria Geométrica; MO= Microscopia Óptica; MEV= Microscopia Eletrônica de Varredura; HC= Hidrocarbonetos; PCR= do inglês “quantitative Polymerase Chain Reaction”.

Locais de Origem	Populações código	Ecossistemas	Técnicas e número. de insetos examinados				
			MO	MEV	MG	HC	PCR
Prov. Formosa, Patiño, Argentina	For	Gran Chaco	03	03	14	06	13
Depto Santa Cruz, Bolívia	Sta cruz	Gran Chaco	03	-	-	05	05
São Desidério, BA, Brasil	Sdes	Cerrado	03	02	11	06	06
Várzea Grande, MT, Brasil	VG	Cerrado	03	03	18	06	11
Bocaiúva, MG, Brasil	Boc	Cerrado	03	04	15	06	12
Guaraciama, MG, Brasil	Gua	Cerrado	03	01	-	05	05
Itaobim, MG, Brasil	Ita	Cerrado	03	04	34	06	15
Aparecida do Taboado, MS, Brasil	Cup	Cerrado	03	04	19	06	09
Douradina, MS, Brasil	Dou	Cerrado	03	01	-	05	04
Paranaíba, MS, Brasil	Par	Cerrado	03	04	26	06	22
Três Lagoas, MS, Brasil	Tla	Cerrado	03	02	16	06	08
Terenos, MS, Brasil	Ter	Cerrado	01	03	-	05	05
Aurora do Tocantins, TO, Brasil	Aur	Cerrado	03	04	10	06	06
Combinado, TO, Brasil	Com	Cerrado	03	04	28	06	06
Lavandeira, TO, Brasil	Lav	Cerrado	02	01	-	03	01
Ponte Alta do Tocantins, TO, Brasil	Pon	Cerrado	03	02	-	05	-
São Valério da Natividade, TO, Brasil	Val	Cerrado	01	03	-	08	08
Total de insetos analisados			46	45	191	96	136

3.2- COLETA DOS INSETOS

As capturas foram realizadas em diferentes ecótopos no ambiente de peridomicílio, pelo método da busca ativa, com auxílio de pinças e lanternas, e de busca passiva com armadilha. A pesquisa de busca pelos triatomíneos estendeu-se na periferia imediata em raios de 50 m; 100 m; 150 m, dos espaços de peridomicílio e em áreas naturais (pouco antropofizadas) pelos seguintes métodos:

- Pesquisa direta nos ecótopos, tanto em ambiente de peridomicílio quanto no ambiente silvestre em buracos nas árvores, cascas de árvores, rochas ou pilhas de pedras, ninhos de aves e abrigos terrestres de animais; anexos constituídos por galinheiros, pocilgas e paióis.
- Pesquisa com armadilha do tipo Noireau conforme metodologia preconizada em Noireau *et al.*(1999).

A população oriunda do município de Guaraciama – MG, colônia encontrada no ambiente silvestre pela pesquisa direta em troncos secos, foi à única capturada neste tipo de ambiente.

A população do Departamento de Patiño, Província de Formosa – Argentina, foi oriunda da colônia nº 0335 (6º geração), cedidos pelo Centro de Referencia de Vectores de Córdoba.

3.3- PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES

Os insetos coletados foram levados ao laboratório acondicionados em tubos plásticos identificados com as coordenadas do local de captura, obtidas com um aparelho receptor de GPS modelo Garmin™ Legend. No interior de cada tubo foi adicionado papel de filtro para aumentar a superfície de contato e servir de abrigo, e reter umidade proveniente dos excretas.

Ao todo foram processados 234 insetos, identificados à nível de espécie pela chave dicotômica de Lent & Wygodzinsky (1979). Destes foram utilizados um total de 191 exemplares.

Os insetos tiveram as estruturas das asas, e das peças genitais dissecadas e acondicionadas, individualmente, em papel alumínio e em tubos plásticos, respectivamente as amostras foram devidamente identificadas, para posterior emprego em quatro diferentes técnicas.

Em todas as análises foram utilizadas somente as formas adultas; assim o número de espécimes variou conforme a técnica a ser realizada. Depois de realizados os procedimentos necessários às análises, alguns insetos adultos foram alfinetados para futura incorporação a Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz.

As informações sobre as populações utilizadas em cada técnica proposta neste estudo estão sumarizadas na Tabela 1.

3.4- IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO de *Trypanosoma cruzi*

Todos os exemplares capturados no campo foram submetidos inicialmente ao exame das fezes, por compressão abdominal dos insetos vivos e examinadas entre lâmina e lamínula ao microscópio ótico para verificação da presença do protozoário *T. cruzi*. Entretanto, nos triatomíneos mortos e naqueles com pouca quantidade de conteúdo no intestino, o exame se deu pela retirada do aparelho digestório e posterior acondicionamento em solução de álcool 20% para realização de diagnóstico molecular para presença de *T. cruzi* pela reação da cadeia de polimerase (PCR). O procedimento para a extração de DNA da amostra do intestino dos insetos e a amplificação das sequências específicas dos minicírculos do kDNA seguiu-se o protocolo de Multiplex-PCR preconizado por Britto *et al.* (1993) adaptada por Azevedo (2011). O desenvolvimento da metodologia molecular pela Reação em Cadeia da Polimerase ou Multiplex-PCR foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas do Instituto Oswaldo Cruz por Lívia Reis, sob a orientação da Dra. Constança Britto.

Desta forma, para a amplificação bioquímica de seqüências específicas dos minicírculos do kDNA de *T. cruzi* utilizou-se iniciadores já descritos que hibridizam com as seqüências flanqueadoras das regiões conservadas das moléculas de minicírculos,

amplificando produtos de 330 pb, correspondentes às regiões variáveis (iniciadores 121 e 122; Britto *et al.*, 1993; Wincker *et al.*, 1994). No mesmo ensaio, foram introduzidos os iniciadores que amplificam uma seqüência genômica conservada consenso de diferentes espécies de triatomíneos (gene que codifica a região 12S do RNA ribossomal: senso - 5'-AAAGAATTTGGCGGTAATTTAGTCT-3' e anti-senso 5'-GCTGCACCTTGACCTGACATT-3'), com o objetivo de demonstrar ausência de possíveis inibidores da reação, assim como para verificar a qualidade da amostra de DNA. As reações ocorreram em um volume final de 100 µL nas seguintes condições: solução tampão da PCR 1X [10mM de Tris-HCl pH 8,3 contendo 50 mM de KCl], MgCl₂ (4,5 mM), dNTPs (15 mM), iniciadores (5 pmol/µL), Taq Gold DNA polimerase (5 U/µL) e 10 µL do DNA total extraído. A ciclagem térmica consistiu de 36 ciclos, no equipamento DNA Thermal Cycler 9600, com a seguinte programação, por ciclo: desnaturação (30 s, 94 °C), anelamento dos iniciadores (30 s, 55 °C) e extensão (30 s, 72 °C). Este programa foi precedido de um passo (12 min, 94 °C) para ativação da enzima (Hot Start) e após os 36 ciclos foi adicionada uma etapa de extensão final (10 min, 72 °C). Todas as etapas do protocolo foram realizadas em câmara previamente irradiada com luz UV, tendo sido tomados todos os cuidados necessários para evitar contaminações na PCR.

Os ensaios de eletroforese foram realizados em cuba horizontal em géis de agarose a 2% preparados em TBE 1X, por 2 horas à 70V. Os géis foram analisados e as imagens registradas através de um sistema fotográfico de documentação em gel – UVP Bioimaging Systems.

3.5. ANÁLISES POPULACIONAIS

3.5.1- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DOS MACHOS POR MICROSCOPIA ÓPTICA (MO)

As estruturas da genitália externa do macho foram observadas em 46 espécimes, em média três espécimens de cada população estudada (Tabela 1). O abdômen foi seccionado no VII segmento abdominal e a região posterior submetida ao processo de saponificação, onde foram tratadas em solução aquecida de hidróxido de potássio (KOH) 10% durante 5 - 10 minutos ou até que nenhum vestígio de gordura corporal ou músculos estivessem presentes na amostra. Em seguida as estruturas foram lavadas em água pura e passadas em série alcoólica com as seguintes concentrações e períodos de tempo 50%, 60% 70%, 80%, 90%, 100%, durante 25 minutos cada. Após esta etapa foram conservadas em

glicerina para posterior dissecação das estruturas em microscópio estereoscópio do modelo LEICA MZ125. As estruturas analisadas foram: parâmeros (Pa), processo mediano do pigóforo (Prp), processo do endosoma (PrEn), aparelho articular (Apb), falosoma (Ph), endosoma (En) e suporte do falosoma (SPh). A cada passo da dissecação as estruturas eram fotografadas e desenhadas com auxílio de câmara clara acoplada ao equipamento (Figura 2).

Posteriormente, realizou-se análise apartir das matrizes geradas de informações de presença e/ou ausência de atributos morfológicos, esta foi avaliada através do programa NTSYS 2.0 (Exeter Software). Os coeficientes de similaridade foram calculados usando-se o coeficiente de Jaccard e o coeficiente de similaridade simples. Esta matriz de similaridade foi transformada em fenograma usando-se o algoritmo de UPGMA (Unweighted Pair – Group Method, Arithmetic Average).

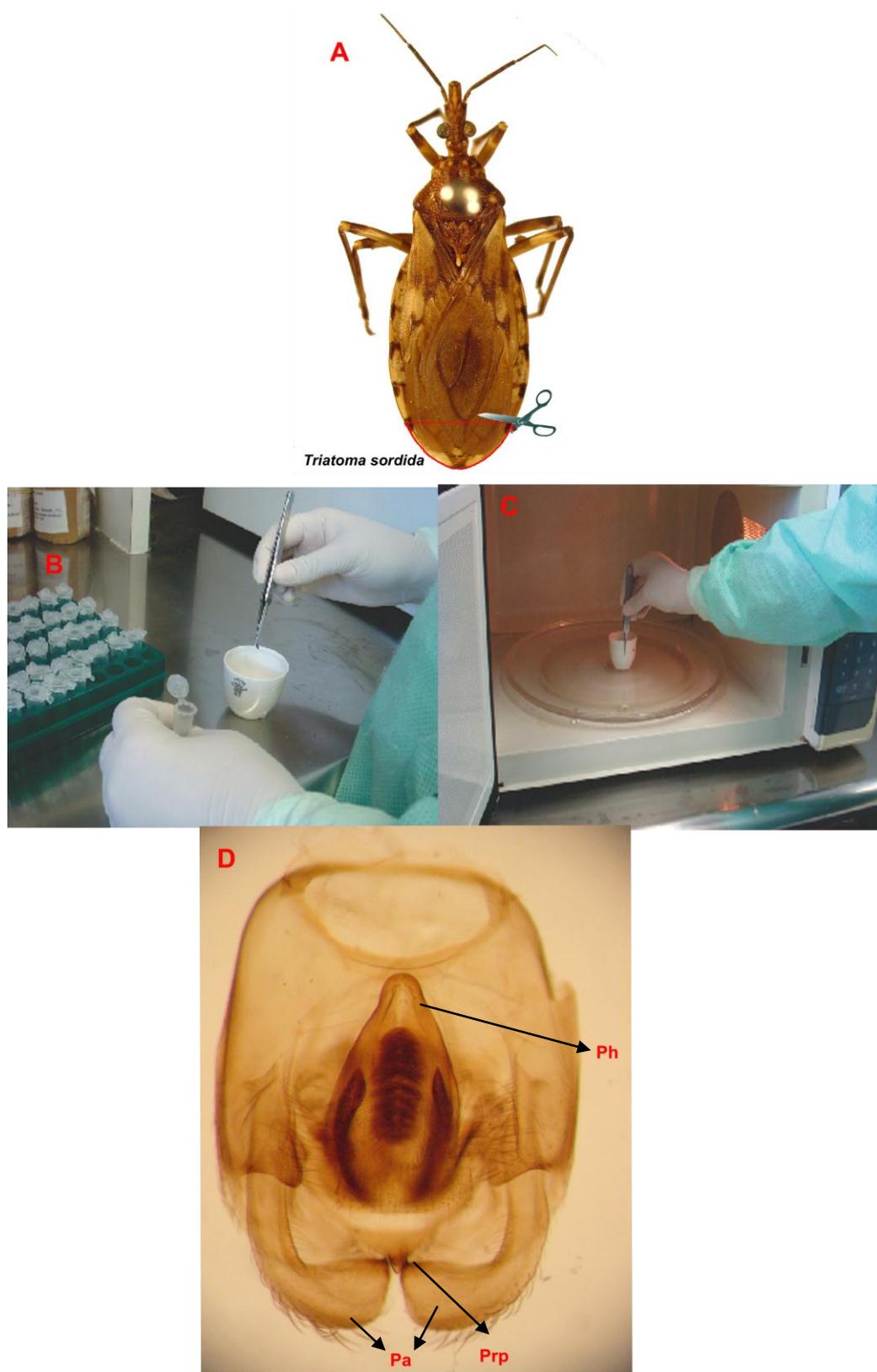


Figura 2: Procedimento para preparação das estruturas da genitália externa dos machos das populações analisadas de *Triatoma sordida* (Stål 1859); A – Ponto de cisão no VII segmento; B- Cadinho de porcelana contendo hidróxido de pótassio (KOH) 10% e imersão dos últimos segmentos abdominais na solução; C- Aquecimento da solução de KOH . D- Genitália diafanizada. Pa – parâmeros; Ph – fallosoma; Prp – processo mediano do pigóforo. Fotos: Catarina Macedo

3.5.2- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

O estudo da morfologia da genitália externa de fêmeas foi realizado em 45 exemplares (Tabela 1). Os triatomíneos foram seccionados para a retirada das estruturas da genitália, no sentido transversal, na altura do sexto (VI) segmento abdominal. A porção terminal do abdômen foi lavada em solução aquecida (40 °C) de Hipoclorito de Sódio (NaClO) 0,1% e posteriormente, para retirada de impurezas e gorduras corporais, as peças foram lavadas com água pura na temperatura de 42 °C. Para a desidratação total as estruturas, foram passadas por série alcoólica 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%; durante 25 minutos cada, e posteriormente, deixadas em estufa a 50 °C por 30 minutos.

Após a secagem, o material foi aderido em suportes de alumínio, com auxílio de fita-dupla-face, nas posições ventral e dorsal formando um ângulo de 90° com o suporte. Posteriormente, foram submetidas ao processo de metalização com ouro *paladium*. As peças foram observadas em microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JSM 6390 LV (Figura 3), da Plataforma de Microscopia Eletrônica da Fundação Oswaldo Cruz.

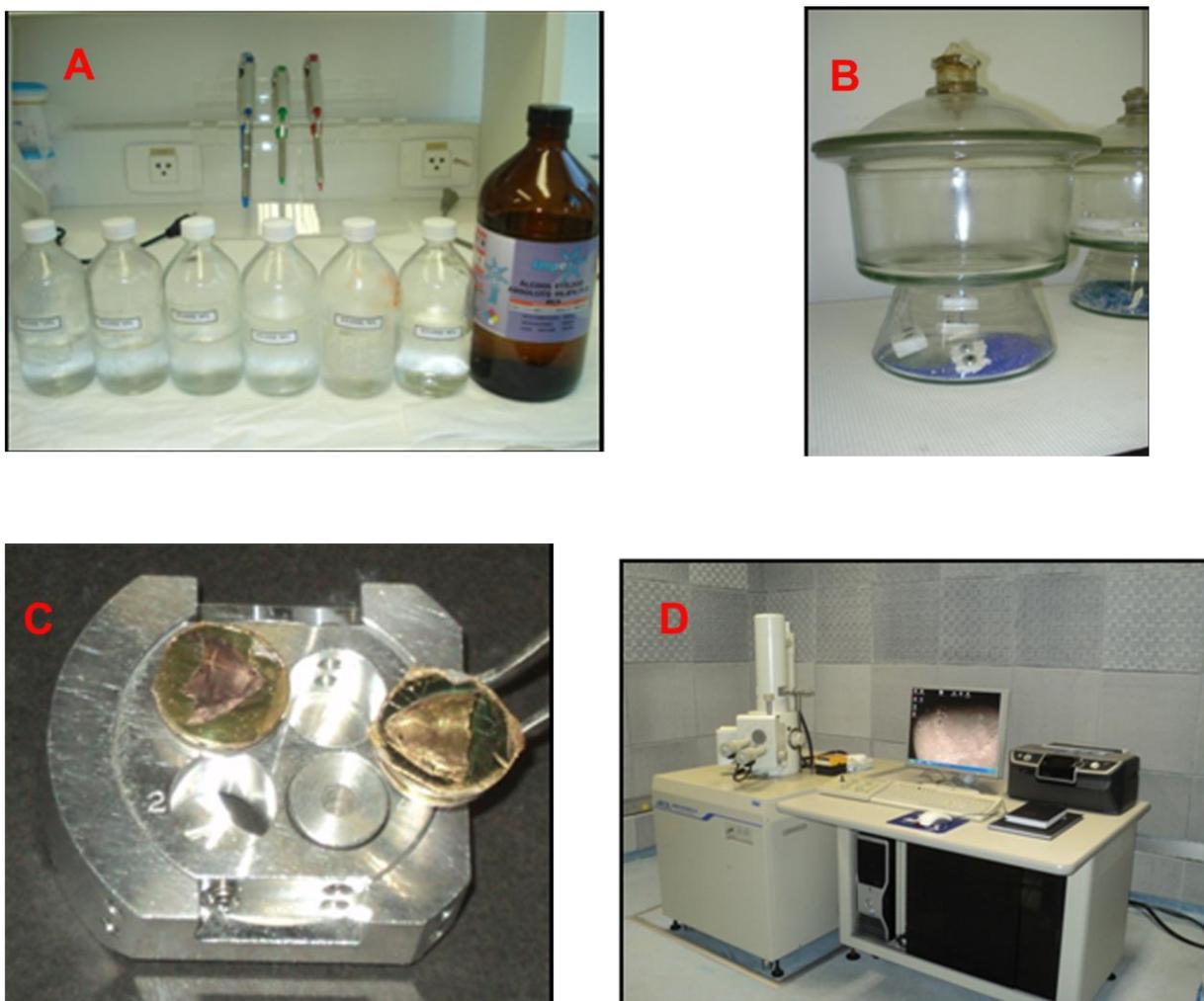


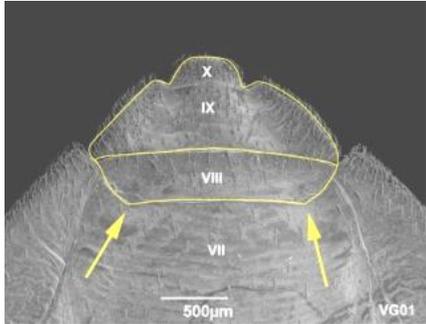
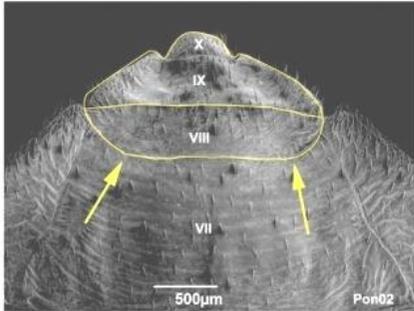
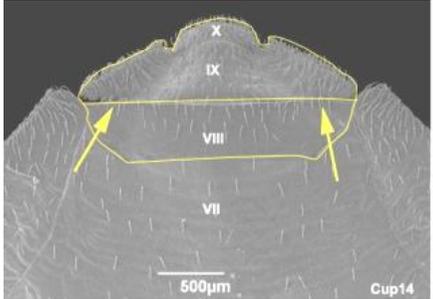
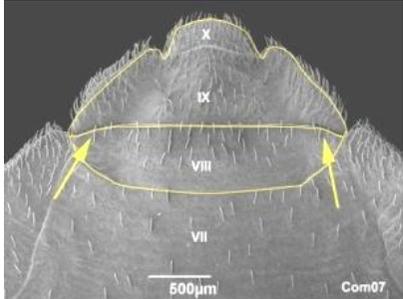
Figura 3: Procedimento para preparação das estruturas da genitália externa das fêmeas das populações de *Triatoma sordida* (Stål 1859); A – Passagem em série alcoólica da peça seccionada no VI segmento; B- Conservação em dessecador para posterior metalização; C- Montagem no suporte do aparelho de Microscopia Eletrônica de Varredura; D- Microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JSM 6390 LV, onde realizou-se a observação das estruturas. Fotos: S Teves

Em vista dorsal foram observados os seguintes parâmetros: linha do bordo anterior e posterior do VIII urotergito (Quadro 1); linha posterior do IX urotergito, a forma do ápice do bordo lateral do IX urotergito, em vista ventral e o aspecto morfológico do X urotergito (Quadro 2); vista ventral do posicionamento do Gc8 em relação à linha mediana e a presença de espinhos na região basal desta estrutura (Quadro 3).

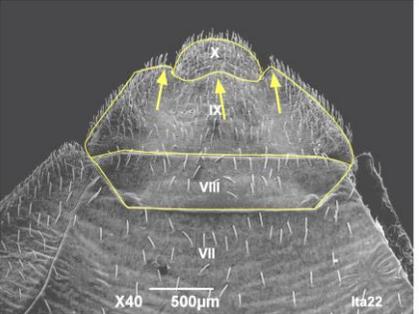
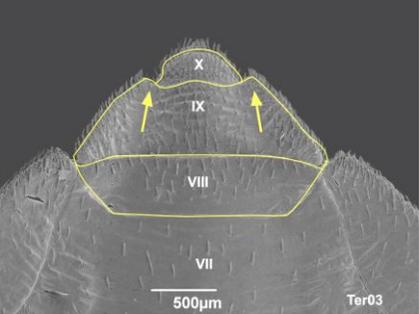
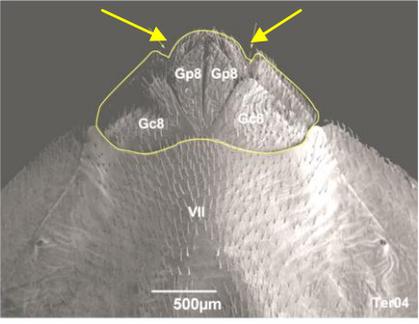
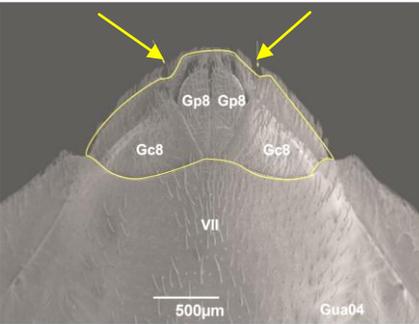
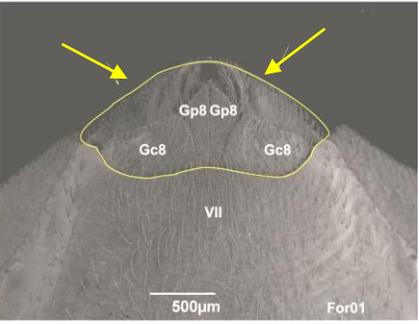
Devido ao número reduzido de espécimes fêmeas das populações de Guaraciama/MG, Douradina/MS e Lavandeira/TO, não foi realizado o estudo da vista dorsal das estruturas da genitália. Estas análises também não foram realizadas em espécimes da população de Santa Cruz/Bolívia pela ausência de espécimes fêmea.

A partir dos caracteres morfológicos observados nas micrografias eletrônica, elaborou-se matrizes geradas por estas informações de presença e/ou ausência de atributos morfológicos, esta foi avaliada através do programa NTSYS 2.0 (Exeter Software). Os coeficientes de similaridade foram calculados usando-se o coeficiente de Jaccard e o coeficiente de similaridade simples. Esta matriz de similaridade foi transformada em fenograma usando-se o algoritmo de UPGMA (Unweighted Pair – Group Method, Arithmetic Average).

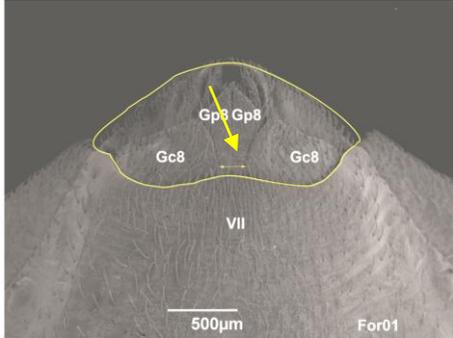
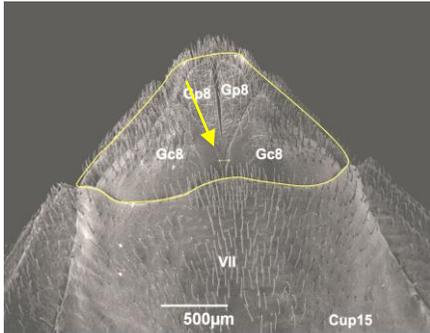
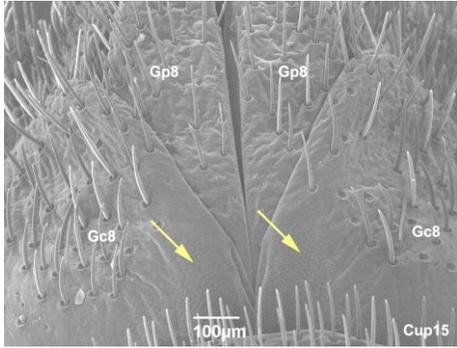
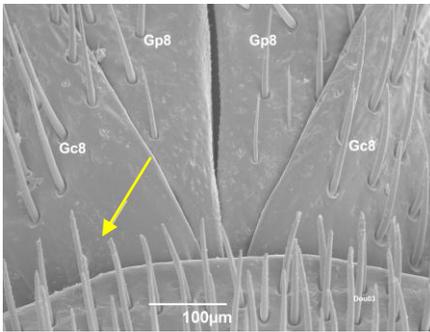
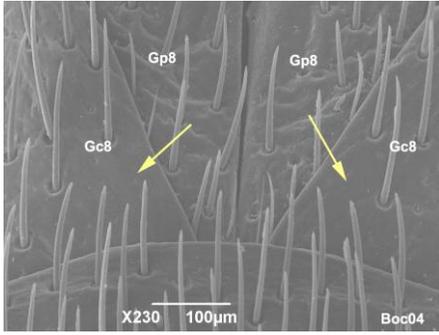
Quadro 1: Caracteres morfológicos das estruturas dos urotergitos das fêmeas das populações de *Triatoma sordida*, observados na micrografia eletrônica: VII= 7ºurotergito; VIII= 8ºurotergito; IX= 9ºUROTERGITO; X= tubo anal

<p>Linha do bordo anterior do VIII urotergito (Setas)</p>	<p>Angular</p> 	<p>Curvada</p> 
<p>Linha do bordo posterior do VIII urotergito (Setas)</p>	<p>Reta</p> 	<p>Curvada</p> 

Quadro 2: Micrografia eletrônica das estruturas dos urotergitos e uroesternitos das fêmeas das populações de *Triatoma sordida*. Setas indicam os caracteres utilizados na análise da linha do bordo posterior do IX e ápice do bordo lateral do IX urotergito. VII= 7ºurotergito; VIII= 8ºurotergito; IX= 9º urotergito; X= tubo anal; Gp8= gonopofíse do VIII segmento; Gc8= gonocoxito do VIII segmento.

<p>Linha do bordo posterior do IX urotergito</p>	<p>Lóbulos acentuados</p> 	<p>Lóbulos discretos</p> 	
<p>Ápice do bordo lateral do IX urotergito</p>	<p>Reentrâncias acentuadas</p> 	<p>Reentrâncias discretas</p> 	<p>Sem reentrâncias</p> 

Quadro 3: Micrografia eletrônica das estruturas dos urotergitos e uroesternitos das fêmeas das populações de *Triatoma sordida*. Setas indicam os caracteres utilizados na análise do posicionamento das placas do Gc8= gonocoxito do VIII segmento e na presença de espinhos na base deste. VIII= 8ºurotergito; Gp8= gonopofíse do VIII segmento;

<p>Posicionamento do Gc8 em relação à linha mediana</p>	<p>Afastados</p>  <p>500µm For01</p>	<p>Próximos</p>  <p>500µm Cup15</p>	
<p>Espinhos na região basal do Gc8</p>	<p>Área com muitos espinhos</p>  <p>100µm Cup15</p>	<p>Poucos espinhos</p>  <p>100µm Dep03</p>	<p>Sem espinhos</p>  <p>X230 100µm Boc04</p>

3.5.3 - MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

3.5.3.1 – DADOS MÉTRICOS

Para a aplicação da morfometria geométrica das asas foram analisados 191 espécimes de *T. sordida* (Tabela 2). Buscando uma homogeneidade na quantidade de indivíduos utilizou-se as asas das populações que apresentavam um quantitativo de machos e fêmeas maior que dois indivíduos. As asas foram extirpadas com ajuda de pinças, montadas em lâmina com álcool 70%, recoberta com lamínula e posteriormente fotografadas, juntamente com escala e identificação, utilizando-se máquina fotográfica digital Sony modelo DSC-070, acoplada ao microscópio estereoscópico da marca Leica modelo MZ125, com aumento de 8x (Figura 4).

Tabela 2: Populações de *Triatoma sordida* analisadas por morfometria geométrica de asas de acordo com localidade e sexo.

Localidade (Estado)	Código	Nº de Machos	Nº de Fêmeas	Total
Aurora do Tocantins(TO)	Aur	4	6	10
Bocaiuva (MG)	Boc	5	10	15
Combinado (TO)	Com	11	17	28
Aparecida do Taboado (MS)	Cup	10	9	19
Formosa (AR)	For	8	6	14
Itaobim (MG)	Ita	13	21	34
Paranaíba (MS)	Par	11	15	26
São Desidério (BA)	Sdes	4	7	11
Três Lagoas (MS)	Tla	8	8	16
Várzea Grande (MT)	VG	7	11	18
Total		81	110	191

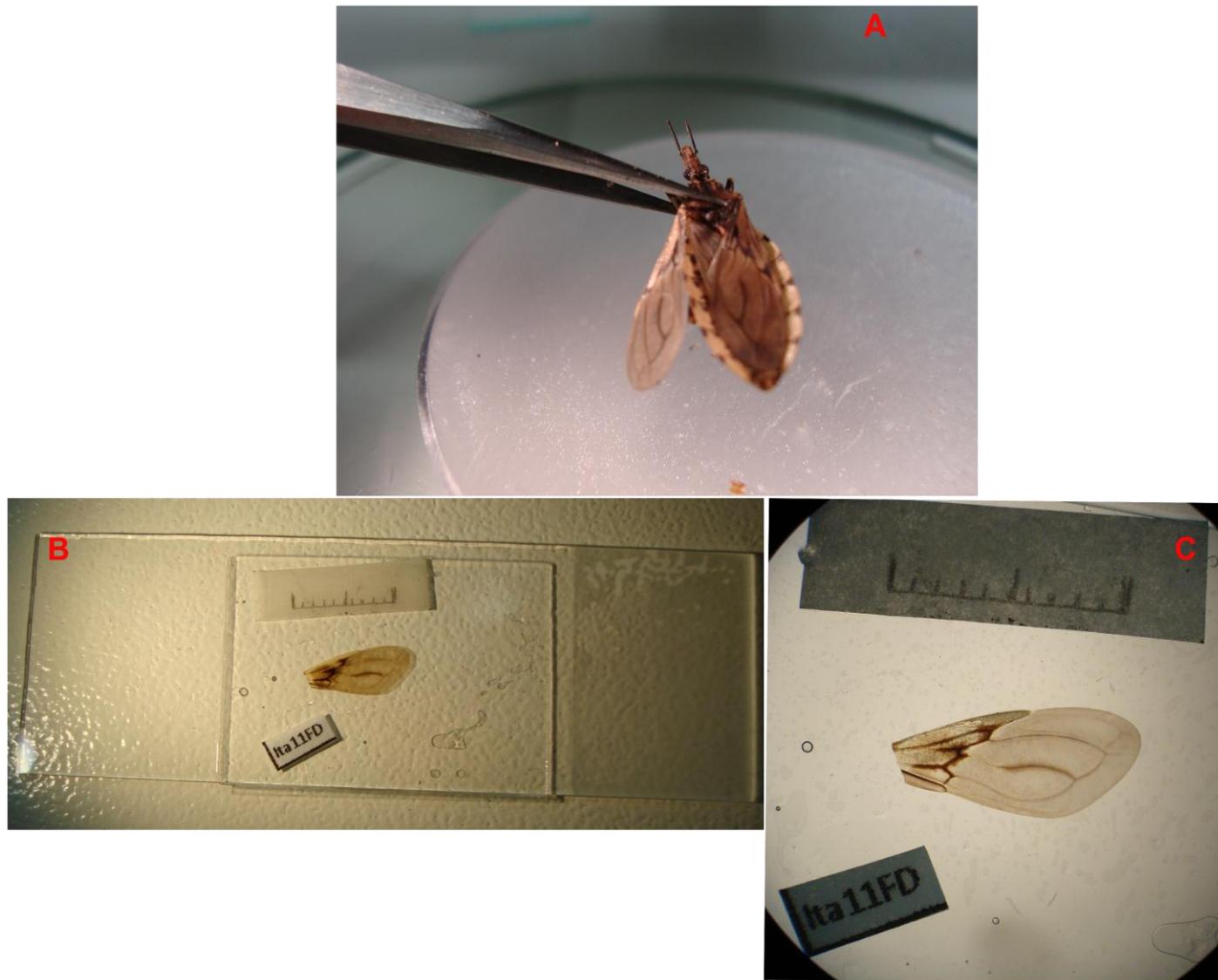


Figura 4: Tratamento da asa do exemplar de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) para a técnica de morfometria geométrica; A- Retirada da asa; B- Montagem entre lâmina e lamínula com escala e identificação; C- Fotografia em microscópio estereoscópico. Fotos: Catarina Macedo.

3.5.3.2 - COLETA DE DADOS

A coleta dos dados consiste na marcação dos Pontos Anatômicos de Referência (PAR), das asas digitalizadas, utilizando o programa livre COO, Versão 45c. Este módulo faz parte do pacote CLIC 50, software livre desenvolvido por Dujardin (2011) (“General Public License” <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>).

Em cada asa foram selecionados, em relação à homologia existente entre eles, 10 pontos anatômicos de referência (PAR 1-10) os quais correspondem ao tipo I, segundo os preceitos de Bookstein (1990): base da sutura do clavo (PAR 1); encontro da veia transversal cu-pcu com Pcu (PAR 2); encontro da veia transversal cu-pcu (PAR 3); encontro da veia transversal m-cu com a Cu (PAR 4); encontro da veia transversal m-cu com M (PAR 5); dobradura da veia M (PAR 6); encontro distal de M-R (PAR 7); interseção da veia R+Sc (PAR 8); extremidade da veia M (PAR 9); extremidade distal Cu (PAR 10). Os Par 1 - 8 se localizam no bordo da área coriácea do hemiélitro (Figura 5).

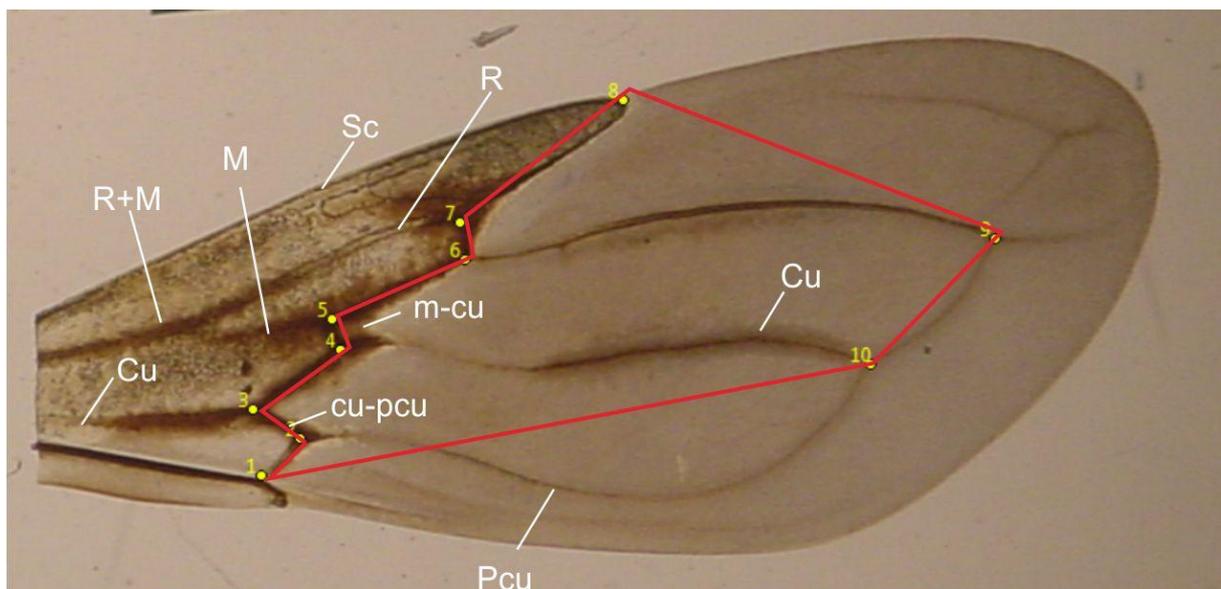


Figura 5: Fotografia da asa direita da fêmea de *Triatoma sordida* (Stål, 1859), mostrando a disposição dos Pontos Anatômicos de Referência (PAR 1-10) selecionados para análise das coordenadas das populações de triatomíneos. Foto: Catarina Macedo. Cu= Cubital; M= Média; Pcu= Posterior cubital; R= Radial; Sc= Subcostal; m-cu - Média cubital; cu-pcu – Cubital pós cubital;

As coordenadas obtidas da seleção de 10 PAR foram submetidas a análises numéricas para se calcular e comparar o tamanho isométrico e a conformação (através do algoritmo da análise generalizada de Procrustes – AGP) das populações em questão. Estas análises foram realizadas com auxílio do programa MOG versão 92, desenvolvido e atualizado por Dujardin (2010), também disponível no pacote CLICK versão 50.

3.5.3.3 – TESTES ESTATÍSTICOS

O tamanho centróide das fêmeas (F) e machos (M) de *T. sordida* originárias das distintas localidades, foi analisado utilizando-se análises univariadas não paramétricas de teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) corrigido pelo teste de Bonferroni. A comparação entre os sexos de cada localidade foi feita pelo teste não paramétrico de Wilcoxon ($P < 0,05$). Para as análises univariadas foi utilizado o programa estatístico JMP versão 10 livre para teste (<http://www.jmp.com/software/jmp10/>).

A conformação foi analisada utilizando-se as distâncias de Mahalanobis (*Partial Warps*) para conhecer a proximidade entre as populações de *T. sordida* e suas ecorregiões. A sua significância estatística foi computada pelo teste de permutação.

O resíduo alométrico entre as populações de *T. sordida* foi calculado pela análise multivariada (Análise Discriminante – AD) do Partial Warps (PW), que foi examinado pela regressão linear de dois Fatores Canônicos (CF1 e CF2), derivados da conformação e confrontado com a variação de tamanho.

3.5.4 – ANÁLISE DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES

3.5.4.1 – COLETA DE DADOS

Para a aplicação da análise de hidrocarbonetos cuticulares das diferentes populações de *T. sordida*, foram utilizados 96 espécimens (Tabelas 1 e 3). Devido ao alto grau de impurezas apresentado durante o processo de extração dos hidrocarbonetos, a amostra referente à população de Guaraciama/MG foi descartada da análise. Foram analisadas as asas anteriores (hemiélitros) e as posteriores (membranosas) com a técnica de hidrocarbonetos. Após a lavagem das asas anteriores em *n*-hexano estas foram também utilizadas para a morfometria geométrica.

A extração dos hidrocarbonetos da cutícula, seguiu a metodologia preconizada por Juarez *et. al.* (2000; 2002), onde primeiramente se realizou a lavagem individual das asas em água bi-destilada para a retirada de partículas solúveis e outras impurezas. Em seguida, as asas foram postas para secar sobre papel alumínio e posteriormente transferidas para frascos de vidro etiquetados com o código de cada amostra, contendo 2 ml de solvente não polar (*n*-hexano) onde foram mantidas imersas pelo período de 48 horas, para se obter solubilização dos lipídeos totais nesta solução. Passado este período, as asas foram novamente lavadas uma a uma com *n*-hexano aquecido e postas, novamente, para secar. Os extratos contendo os lipídeos totais foram concentrados através da redução do volume, sob o fluxo de nitrogênio e os frascos novamente lavados em *n*-hexano. O extrato de cada espécimen foi então passado através de mini colunas (10mm x 5 mm), contendo hexano e Biosil UMAS e eluído com 1 ml de hexano destilado, para a separação da fração de hidrocarbonetos dos demais compostos lipídicos. Finalmente o extrato foi concentrado ao volume de 2 µl para a injeção e análise em cromatógrafo de fase gasosa. As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo HP6890, com detector de ionização de chama, que foi operado em modo splitless a 310 °C, equipado com coluna capilar, apolar HP-5 (30m x 0,32 mm D. I., 0,25 µm, Hewlett- Packard). A temperatura do forno foi programada para subir em rampa de tempo total de 40 min a 50 °C durante 2 minutos, com elevação para 180°C a 20 °C/min e finalmente a 320 °C a 3°C/min nos 10 minutos finais (Figuras 6 e 7).

Tabela 3: Amostras das populações de *Triatoma sordida* analisadas segundo o perfil de hidrocarbonetos cuticulares das asas de acordo com localidade e sexo.

Localidade (Estado)	Código	Nº de Machos	Nº de Fêmeas	Total
Aurora do Tocantins (TO)	Aur	3	3	6
Bocaiuva (MG)	Boc	3	3	6
Combinado (TO)	Com	3	3	6
Aparecida do Taboado (MS)	Cup	3	3	6
Douradina (MS)	Dou	4	1	5
Formosa (AR)	For	3	3	6
Guaraciama (MG)*	Gua	4	1	5
Itaobim (MG)	Ita	3	3	6
Lavandeira (TO)	Lav	2	1	3
Paranaíba (MS)	Par	3	3	6
Ponte Alta do Bom Jesus (TO)	Pon	3	2	5
São Desidério (BA)	Sdes	3	3	6
São Valério da Natividade (TO)	Val	7	1	8
Santa Cruz (BO)	Stacruz	5	0	5
Terenos (MS)	Ter	1	4	5
Três Lagoas (MS)	Tla	3	3	6
Várzea Grande (MT)	VG	3	3	6
Total		56	40	96

*População descartada da análise devido contaminação das estruturas alares

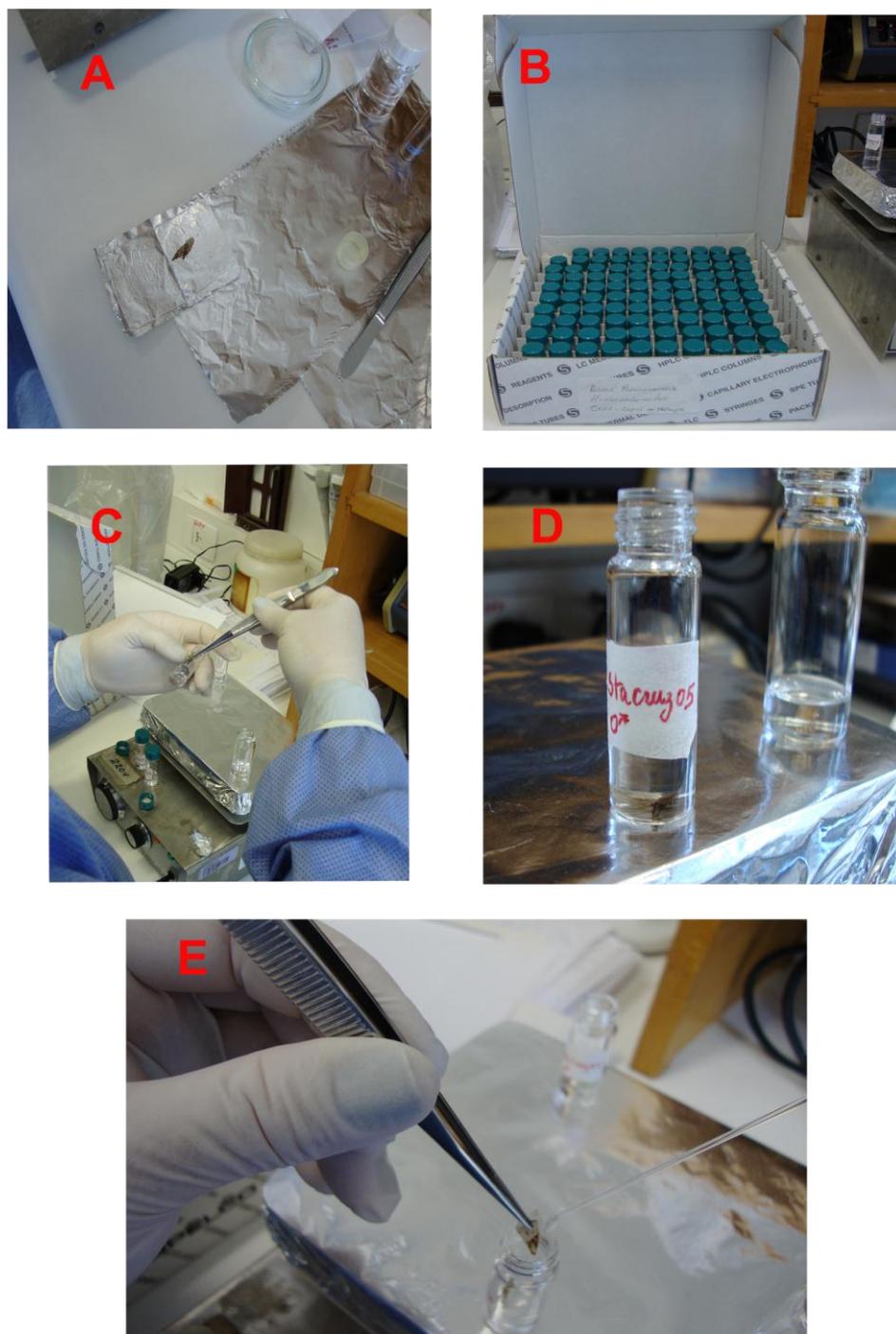


Figura 6: Sequência do processamento para início da extração da fração dos hidrocarbonetos cuticulares das asas de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); A - Asas acondicionadas em papel alumínio; B - Frascos (vials) contendo n-hexano, onde as asas ficam imersas no solvente por 24 horas; D- Otimização da ação do solvente através do aquecimento em placa dos vials etiquetados contendo as amostras. E- Retirada das asas dos vials. Fotos: Catarina Macedo.

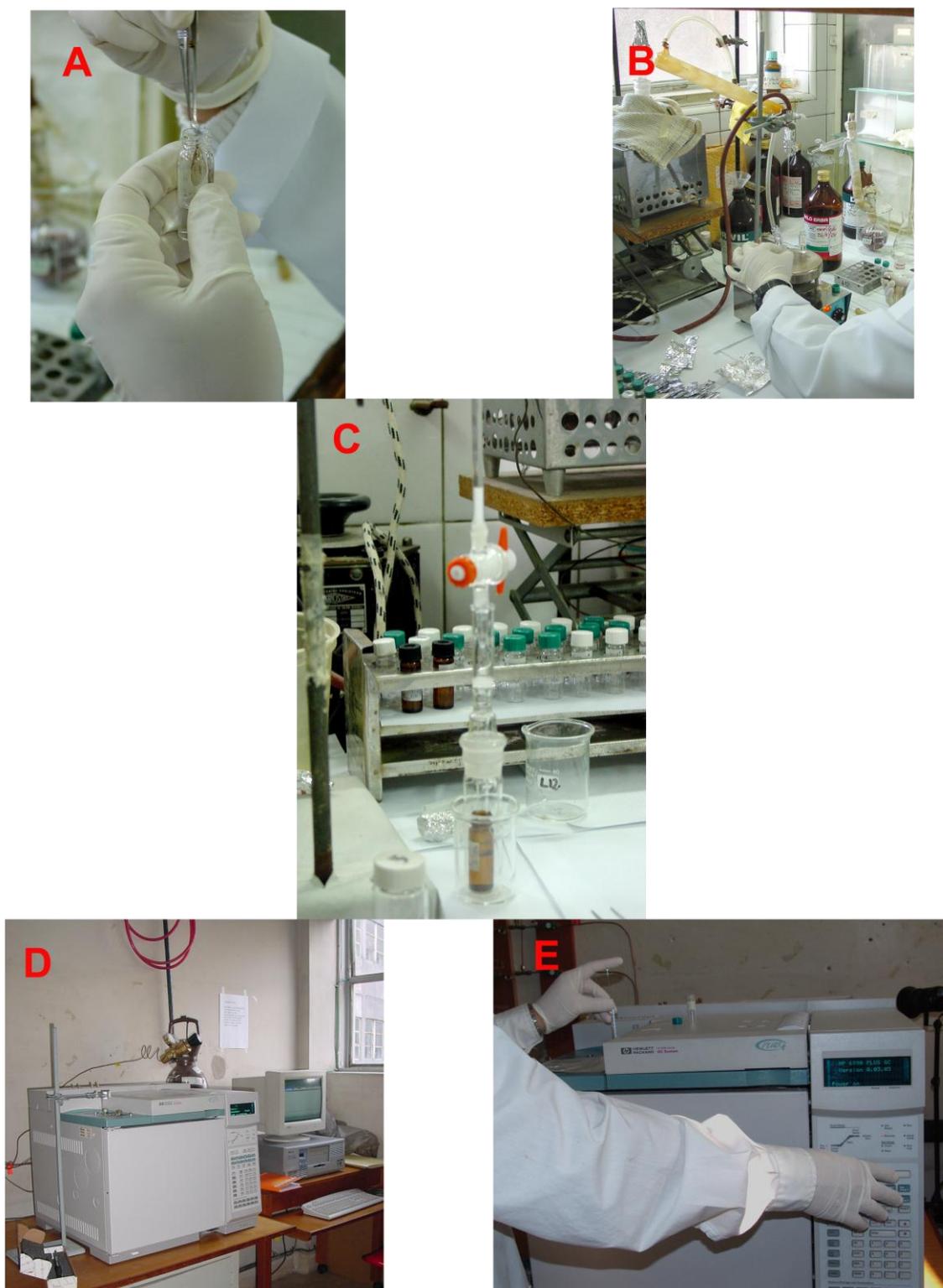


Figura 7: Sequência do processamento para extração da fração dos hidrocarbonetos cuticulares das asas de *Triatoma sordida* (Stål, 1859), A - Lavagem das asas; B - Redução do volume sob fluxo de Nitrogênio; C - Passagem da amostra por coluna não polar constituída por Sílica. D e E- Cromatógrafo de Fase Gasosa e aplicação da amostra no equipamento. Fotos: Catarina Macedo.

Antes de realizar a injeção das amostras o equipamento foi calibrado com injeções de solução de padrões de *n*-alcanos de 22 a 42 carbonos na cadeia. A partir da identificação dos tempos de retenção dos principais carbonos desta solução padrão foram calculados os índices de Kovats (KI), utilizando-se a seguinte fórmula:

$$KI = 100 * [Ca + (Cb - Ca)] * [(trX - tra) / (trb - tra)]$$

onde:

Ca: número de carbonos da solução padrão eluída anteriormente

Cb: número de carbonos da solução padrão eluída posteriormente

trX: tempo de retenção do hidrocarboneto (incógnita)

tra: tempo de retenção do padrão eluído anteriormente

trb: Tempo de retenção do padrão eluído posteriormente.

3.5.4.2 – TESTES ESTATÍSTICOS

Os dados quantitativos e qualitativos de cada amostra foram obtidos a partir dos cálculos da integração dos picos de retenção de cada hidrocarboneto, onde se efetuou a divisão de cada área sob seu pico sobre a área total. A integração foi realizada com auxílio do software HP Chem Station, e os dados gerados foram analisados, mediante análise estatística multivariada da variância, para avaliar a significância dos hidrocarbonetos utilizados como caracteres na análise taxonômica. Para analisar a variabilidade entre as populações aplicou-se a transformação de arco-seno aos valores das quantidades relativas dos hidrocarbonetos apresentados.

Os valores medianos destes caracteres foram comparados usando análises não paramétricas teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). As análises univariadas foram realizadas com o programa estatístico JMP versão 10 livre para teste (<http://www.jmp.com/software/jmp10/>).



4- RESULTADOS

4.1- ENTOMOLÓGICOS

O agrupamento das ecorregiões apresentou-se em três cladogramas: no 1º clado, de cor vermelha, se concentraram as populações referentes às localidades situadas no Mato Grosso e Mato Grosso do sul, as quais representam às ecorregiões do Cerrado – Cerradão – Pantanal, dominada tanto por matas de galerias como também por pastagens, representando neste trabalho as áreas de Cerrado úmido; no 2º clado, de cor azul, que representa o bioma do Gran Chaco, estão as localidades da Província de Sta Cruz/ Bolívia e a Província Patiño – Formosa/Argentina. Entretanto, neste clado observou-se a inserção da localidade de Douradina que se situa no Estado do Mato Grosso do Sul, zona de Cerrado úmido. No 3º clado, de cor verde, encontram-se reunidas as localidades inseridas na ecorregião do bioma Cerrado *stricto sensu*, situadas nos estados brasileiros da Bahia, Minas Gerais e Tocantins, que neste estudo representam o Bioma Cerrado seco.

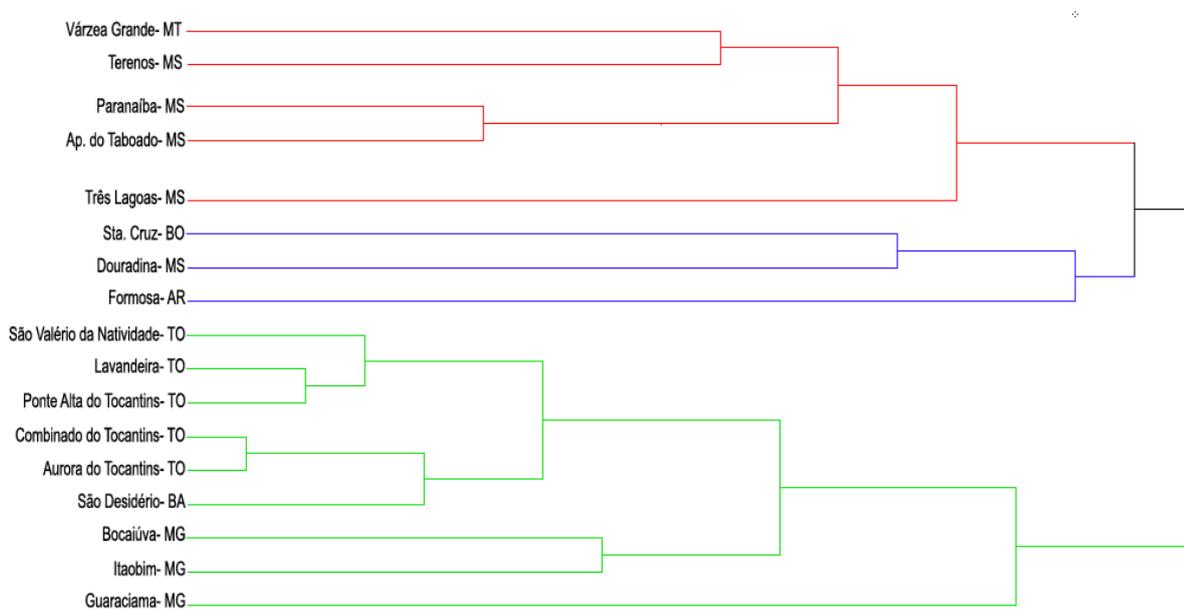


Figura 8: Dendrograma elaborado a partir das distâncias geográficas dos pontos de captura das populações analisadas de *Triatoma sordida* (Stål 1859); Clado Verde (Cerrado seco) – Referente as áreas que compartilham feições do ecossistema Cerrado/Caatinga (Cerrado *stricto sensu*); Clado Azul (Gran Chaco)- Referente as áreas que compartilham feições do ecossistema Cerrado/Gran chaco; Clado vermelho (Cerrado úmido) - Referente as áreas que compartilham feições do ecossistema Cerrado/ Cerradão/ Pantanal.

4.2- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE MACHOS POR MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

Três estruturas apresentaram discretas variações: o falosoma (Ph), o processo do endosoma (PrEn) e o suporte do falosoma (SPh).

Através destas análises pode-se evidenciar a homogeneidade existente entre os espécimens da mesma população. Entretanto, em nível populacional foram observadas discretas diferenças na forma do falosoma (Ph):

- Falosoma com aspecto retangular, alongado, com projeção apical, observado em 24% das populações, estando presente naquelas provenientes de Combinado/TO (Com), Guaraciama/MG (Gua), São Desidério/BA (Sdes), Sta Cruz/BO (Figura 9A).

- Falosoma com aspecto ovóide, mais largo que longo e pequeno, com projeção apical, foi comum a 24% das populações. Sendo observado nas populações de Aurora do Tocantins/TO (Aur), Paranaíba/MS (Par), São Valério da Natividade/TO (Val) e Três Lagoas/MS (Tla) (Figura 9B).

- Falosoma com o aspecto ovóide, mais longo que largo, foi o aspecto predominante dentre as 17 populações analisadas, observado em nove destas (52%), a saber: Aparecida do Taboado/MS (Cup), Bocaiúva/MG (Boc), Douradina/MS (Dou), Formosa/ARG (For), Itaobim/MG (Ita), Lavandeira/TO (Lav), Ponte Alta do Bom Jesus/TO (Pon), Terenos/MS (Ter), Várzea Grande/MT (VG) (Figura 9C).

O processo do endosoma observado nas populações de *T. sordida* apresentou três aspectos distintos:

- Em 18% das populações o processo do endossoma apresentou aspecto, aliforme, curto, com o ápice completamente recoberto de dentículos. Foram estas as populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup), Itaobim/MG (Ita) e Lavandeira/TO (Lav) (Figura 10A).

- O aspecto aliforme, longo e largo, também com o ápice completamente recoberto de dentículos foi observado em 5 populações (35%): Bocaiúva/MG (Boc), Douradina/MS (Dou), Guaraciama/MG (Gua), Formosa/ARG (For), São Valério da Natividade/TO (Val), Várzea Grande/MT (VG) (Figura 10B).

- Entretanto o aspecto aliforme, longo e fino com ápice e bordo inferior recoberto de espinhos, foi predominante, sendo observado em 47% das populações: Aurora do Tocantins/TO (Aur), Combinado/TO (Com), Paranaíba/MS (Par), Ponte Alta do Bom Jesus/TO (Pon), São Desidério/BA (Sdes), Sta Cruz/BO, Terenos/MS (Ter), Três Lagoas/MS (Tla) (Figura 10C).

Em relação à estrutura do suporte do falosoma, somente duas populações de *T. sordida* oriundas do estado do Tocantins, Aurora do Tocantins/TO (Aur) e Lavandeira/TO (Lav) e uma de São Desidério/BA (Sdes) apresentaram este soldado em sua base e livre na porção apical do braço; nas demais populações, observou-se que esta estrutura apresentava tanto a base como o ápice soldados (Figura 11). As variações dos perfis observados para o falosoma (Ph), o processo do endosoma (PrEn) e do suporte do falosoma (SPh) apresentaram discreta associação em relação as diferentes ecorregiões (Figura 11 A).

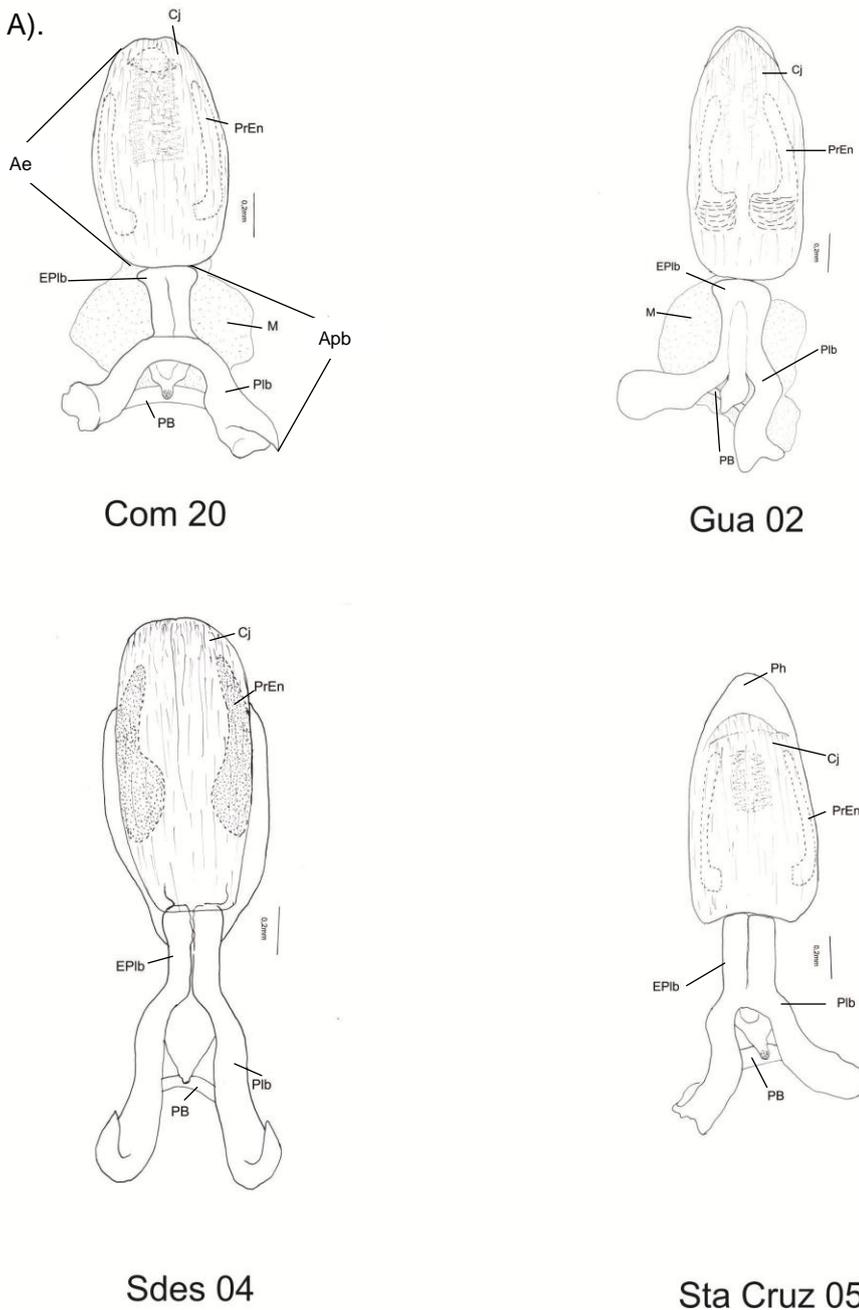
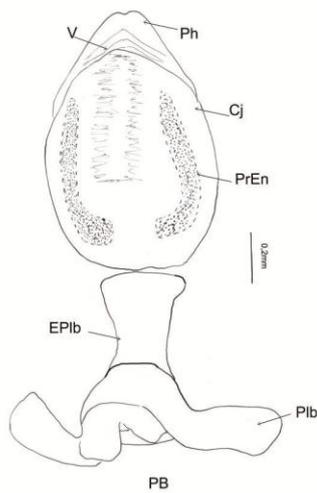
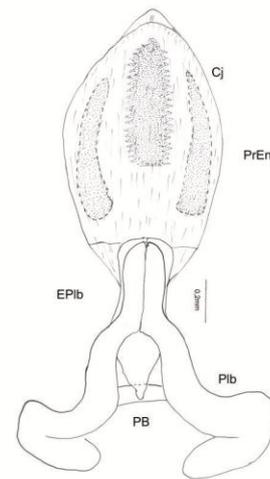


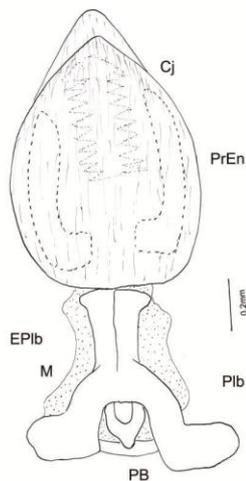
Figura 9A - Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Falosoma, vista dorsal, apresentando aspecto retangular, alongado, com projeção apical, observado em Combinado/TO (Com); Guaraciama/MG (Gua); São Desidério/BA (Sdes); Sta Cruz/BO (Stacruz). Valor da escala 0,2mm. Ae- Edeago; Apb – Aparelho articular basal; Cj – Conjuntiva; EPIb - Extensão Mediana da Placa Basal; M – Membrana; Ph - Falosoma; PIb - Placa basal; PrEn - Processo do Endosoma.



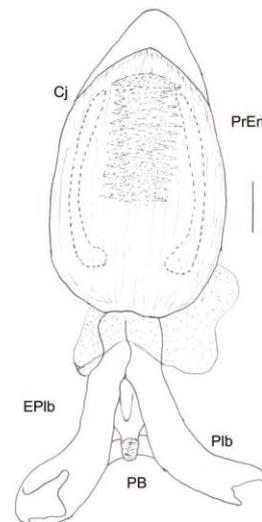
Aur1



Par 25



Val07



Tla 11

Figura 9B - Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Fallosoma, vista dorsal, apresentando aspecto ovoide, mais largo que longo e pequeno, com projeção apical. Observado nas populações de Aurora do Tocantins/TO (Aur); Paranaíba/MS (Par); São Valério de Natividade/TO (Val); Três Lagoas/MS (Tla). Valor da escala 0,2mm. Ae- Edeago; Apb – Aparelho articular basal; Cj – Conjuntiva; EPIb - Extensão Mediana da Placa Basal; M – Membrana; Ph - Fallosoma; Plb - Placa basal; PrEn - Processo do Endosoma.

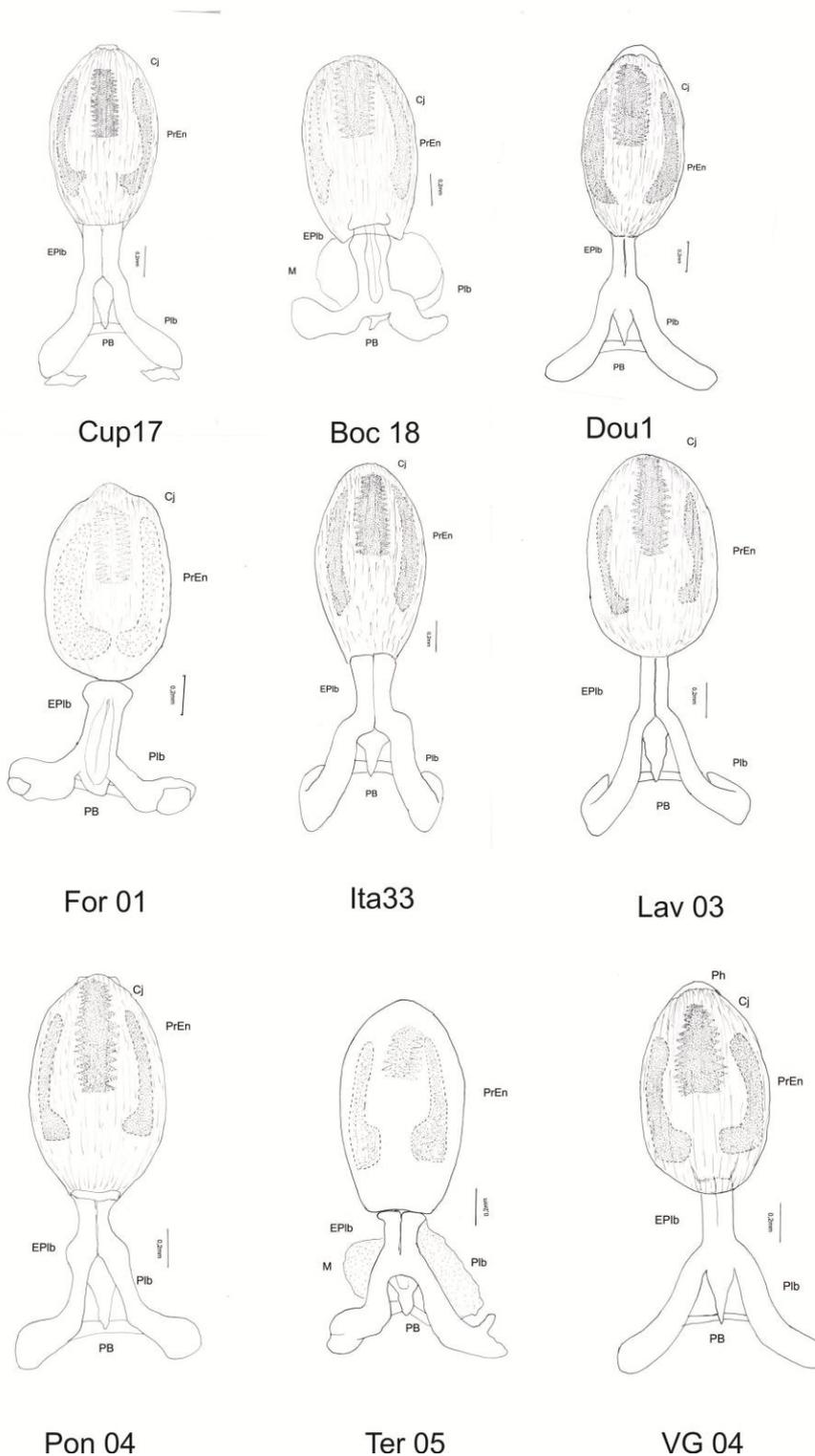
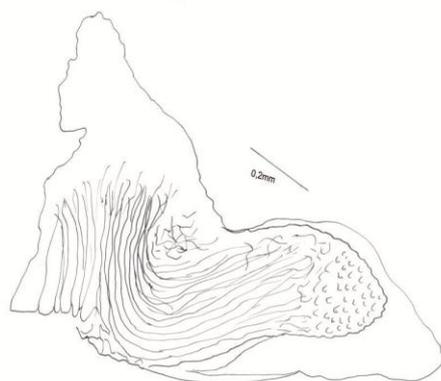
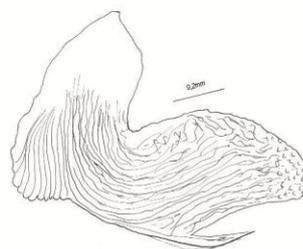


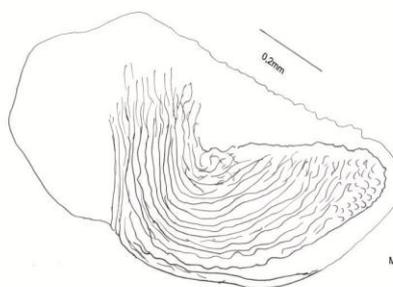
Figura 9C - Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Falosoma, vista dorsal, apresentando aspecto ovóide, mais longo que largo. Observado nas populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup); Bocaiúva/MG (Boc); Douradina/MS (Dou); Formosa/ARG (For); Itaobim/MG (Ita); Lavandeira/TO (Lav); Ponte Alta do Bom Jesus/TO (Pon); Terenos/MS (Ter); Várzea Grande/MT (VG). Valor da escala 0,2mm. Ae- Edeago; Apb – Aparelho articular basal; Cj – Conjuntiva; EPIb - Extensão Mediana da Placa Basal; M – Membrana; Ph - Falosoma; Plb - Placa basal; PrEn - Processo do Endosoma.



Cup17

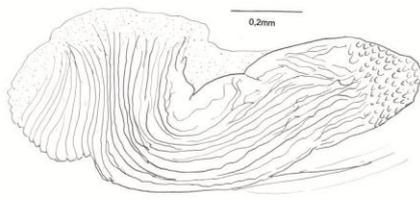


Ita33

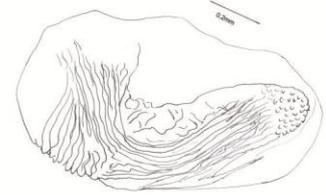


Lav 03

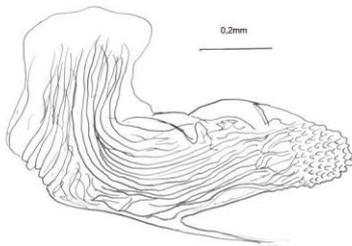
Figura 10A: Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Processo do Endosoma aliforme, curto e com o ápice completamente recoberto de denticulos. Observado nas populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup); Itaobim/MG (Ita); Lavandeira/TO (Lav). Valor da escala 0,2mm.



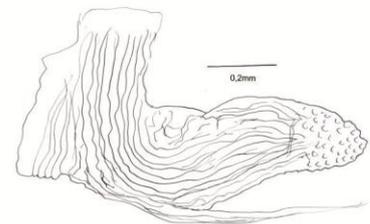
Boc 18



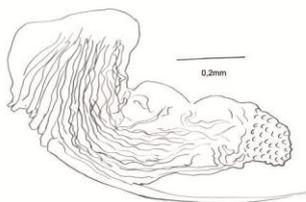
Dou 01



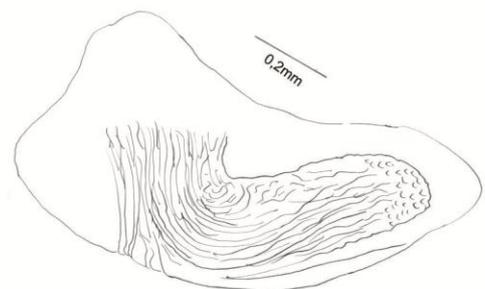
Gua 02



For 01

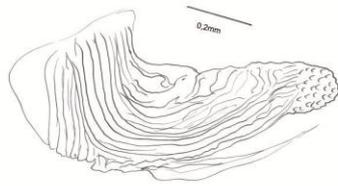


Val07

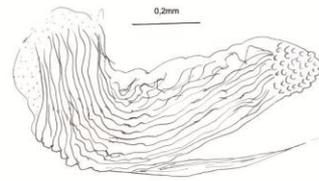


VG 04

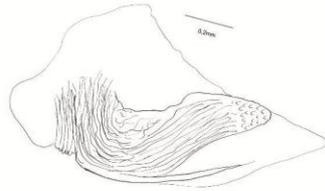
Figura 10B: Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Processo do Endosoma aliforme, longo e largo com o ápice completamente recoberto de denticulos. Observado nas populações de Bocaiúva/MG (Boc); Douradina/MS (Dou); Guaraciama/MG (Gua); Formosa/ARG (For); São Valério da Natividade (Val) e Várzea Grande/MS (VG). Valor da escala 0,2mm.



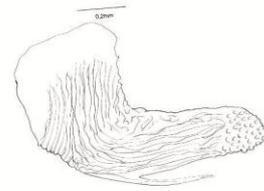
Aur1



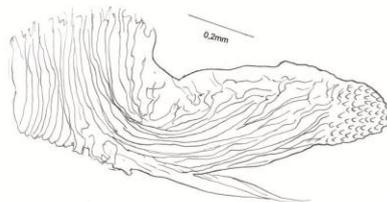
Com 20



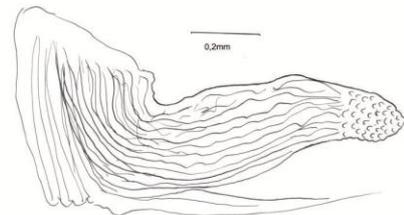
Par 25



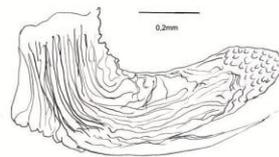
Pon 04



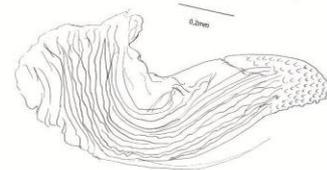
Sdes 04



Sta Cruz 05



Ter 05



Tla 11

Figura 10C: Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Processo do Endosoma aliforme, longo e afilado com o ápice e bordo inferior completamente recoberto de dentículos. Observado nas populações de: Aurora do Tocantins/TO (Aur); Combinado/TO (Com); Paranaíba/MS (Par); Ponte Alta do Bom Jesus (Pon); São Desidério/BA (Sdes); Santa Cruz/BO (Stacruz); Terenos/MS (Ter); Três Lagoas/MS (Tla). Valor da escala 0,2mm.



Figura 11: Populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) - Suporte do falosoma soldado em sua base e livre na porção apical do braço. Observado nas populações de Aurora do Tocantins/TO (Aur); Lavandeira/TO (Lav); São Desidério/BA (Sdes). Valor da escala 0,2mm.

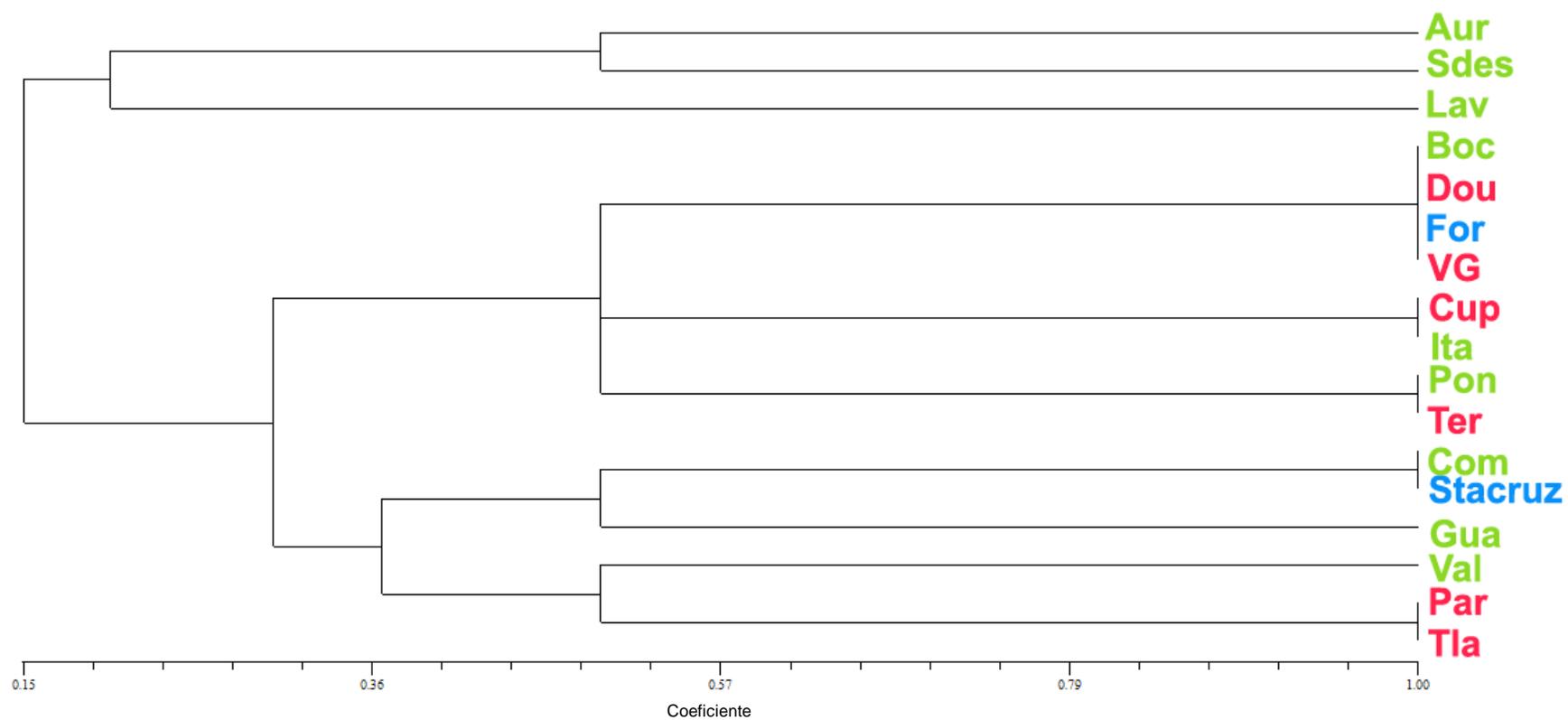


Figura 11A: Árvore UPGMA a partir dos coeficientes de similaridade dos perfis dos caracteres observados nas estruturas externas da genitália: falosoma, processo do endosoma, suporte do endosoma dos machos de *Triatoma sordida* (Stål, 1859). Verde - populações provenientes da ecorregião do cerrado *stricto sensu* (seco); vermelho do cerrado úmido; azul do Gran chaco.

4.3- MORFOLOGIA DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As análises realizadas com base nas 45 fêmeas das populações de *T. sordida* (Tabela 1), evidenciaram discretas diferenças no padrão morfológico, tanto em vista dorsal (VII, VIII, IX e X urotergitos) quanto em vista ventral, nas estruturas da genitália externa.

4-3.1- VISTA DORSAL

São discretas as diferenças observadas no bordo da linha que separa o VII do VIII urotergito. Nos indivíduos de 10 populações (For; VG; Boc; Ita; Cup; Par; Tla; Ter; Aur; Com) esta linha forma um ângulo bem marcado em relação a margem distal do VII urotergito (Figuras 12 e 13). Nas populações oriundas de São Desidério/BA (Sdes), Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon) e São Valério da Natividade/TO (Val) se observa a suavização desta angulação (Figura 14).

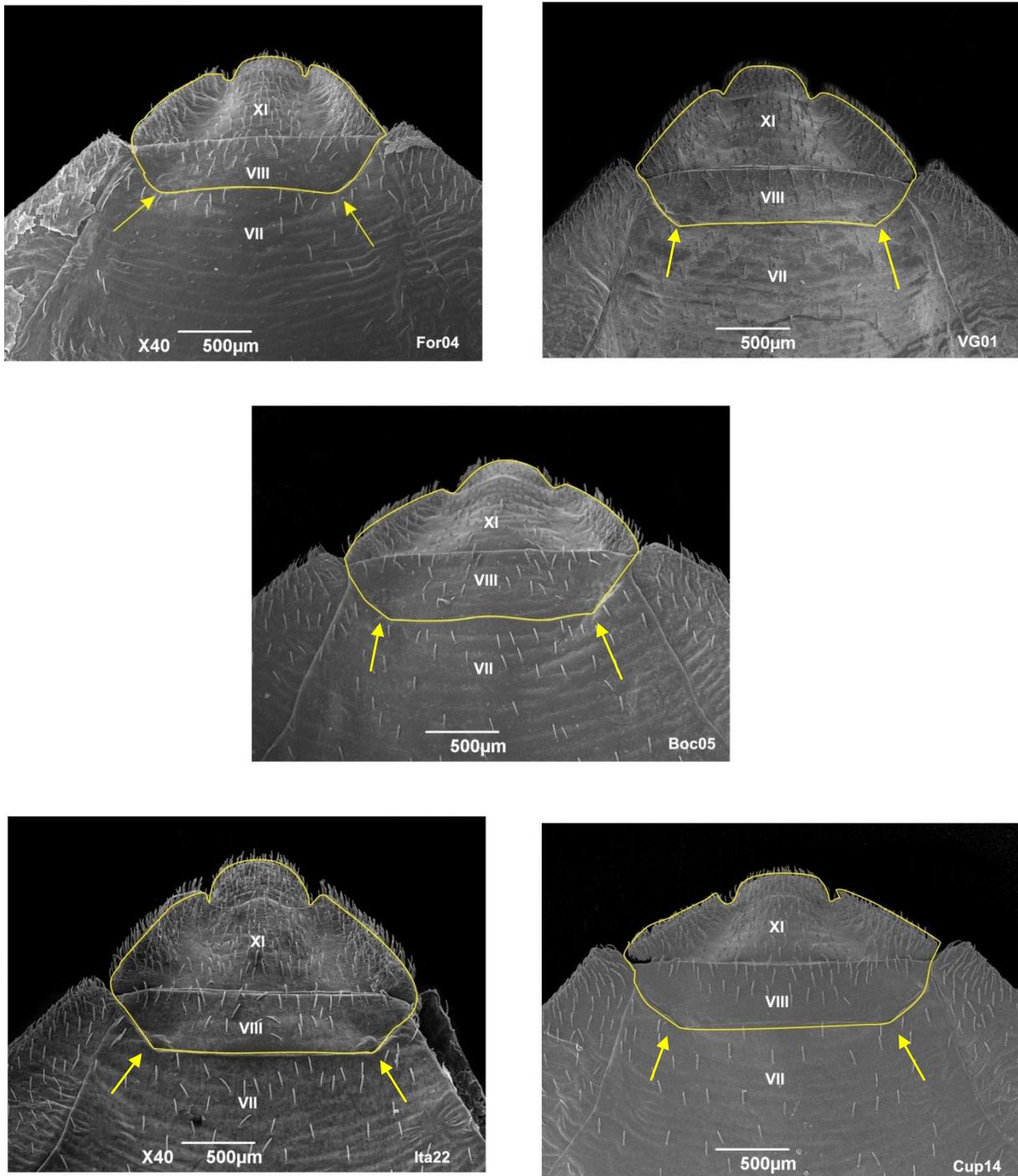


Figura 12: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista Dorsal – Visualização dos ângulos laterais bem marcados em relação a margem do bordo distal do VII urotergito (Seta) nas populações procedentes de Formosa/ARG (For); Várzea Grande/MT (VG); Bocaiúva/MG (Boc); Itaobim/MG (Ita); Aparecida do Taboado/MS (Cup).

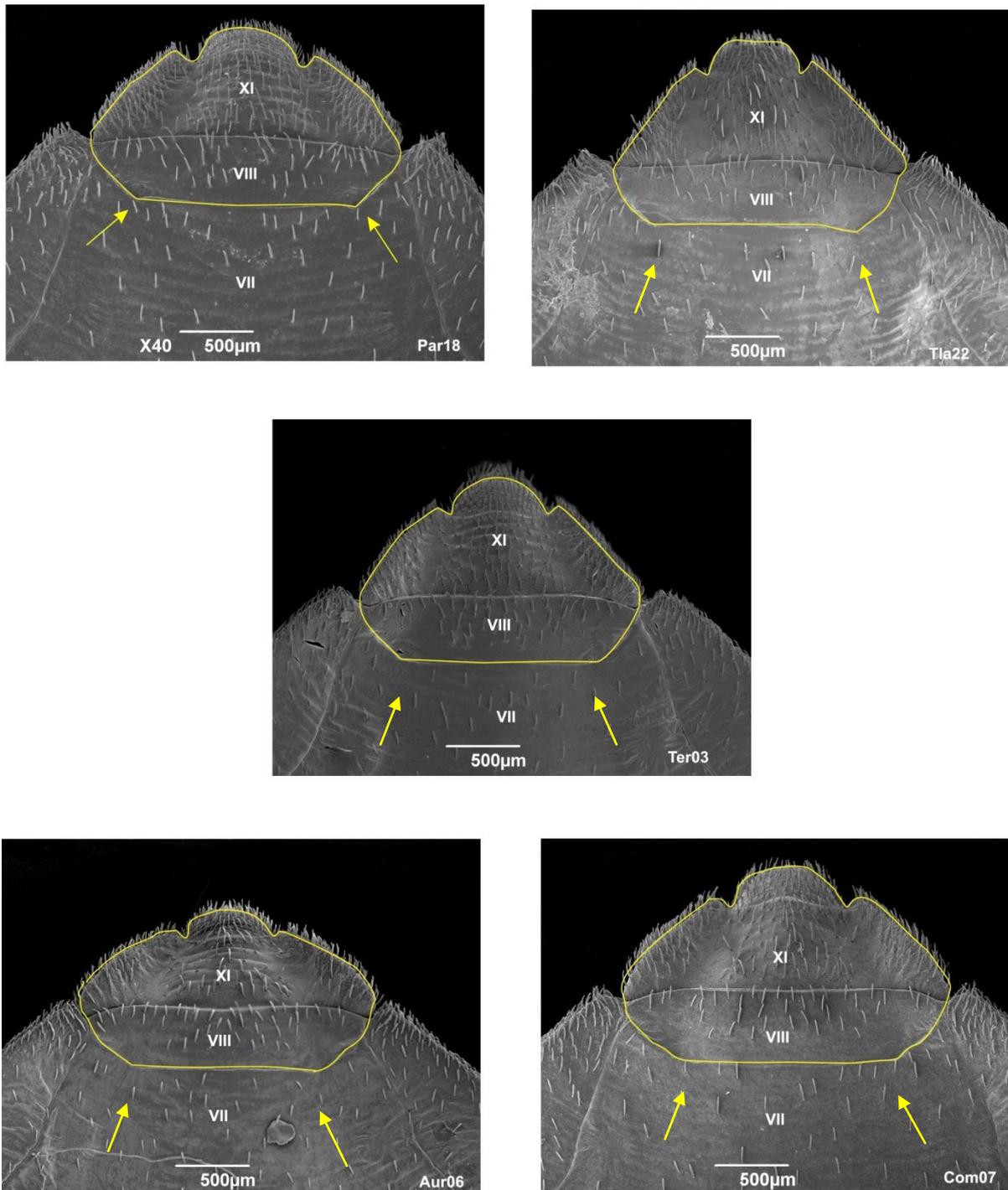


Figura 13: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – Visualização dos ângulos laterais bem marcados em relação a margem do bordo distal do VII urotergito (Seta) nas populações de Aurora do Tocantins/TO (Aur); Combinado/TO (Com); Paranaíba/MS (Par); Terenos/MS (Ter); Três Lagoas/MS (Tla).

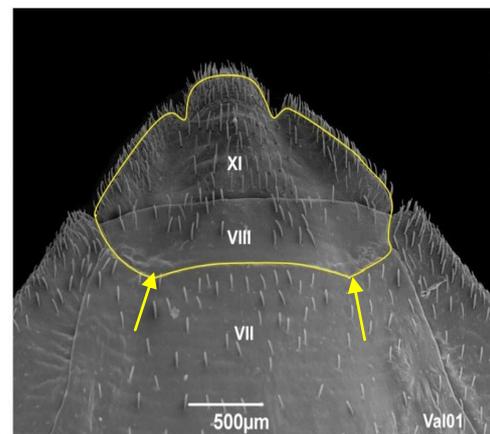
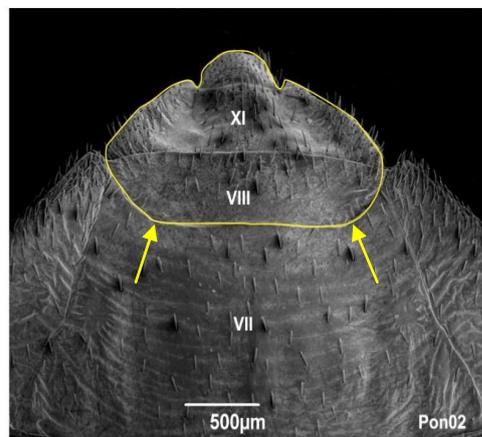
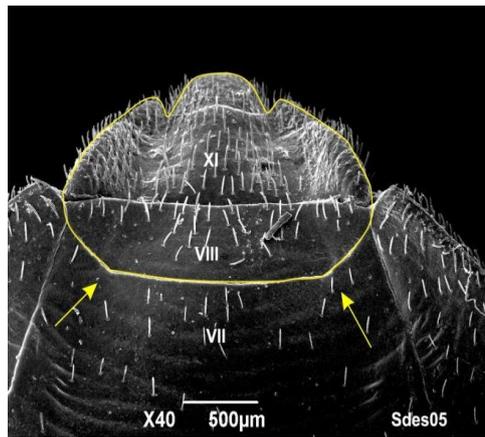


Figura 14: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – Visualização dos ângulos laterais pouco acentuados em relação a margem do bordo distal do VII urotergito (Seta) nas populações de São Desidério/BA (Sdes); Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon); São Valério da Natividade/TO (Val).

Com relação a linha posterior do IX urotergito verificou-se que esta apresenta três aspectos:

- 1+1 lóbulos laterais e 1 conspícuo na região mediana - aspecto observado nas populações de Várzea Grande/MT (VG), Itaobim/MG (Ita), Três Lagoas/MS (Tla) e São Valério da Natividade/TO (Val) (Figura 15);

- 1+1 lóbulos laterais e 1 na região mediana com discreta elevação. - aspecto observado nas populações de Formosa/ARG (For), São Desidério/BA (Sdes), Bocaiúva/MG (Boc), Aparecida Taboado/MS (Cup), Paranaíba/MS (Par), Terenos/MS (Ter), e Combinado/TO (Com), (Figura 16);

- 1+1 lóbulos laterais e ausente na região mediana - aspecto observado somente nas populações do estado do Tocantins (Aurora do Tocantins - Aur e Ponte Alta do Tocantins - Pon) (Figura 17).

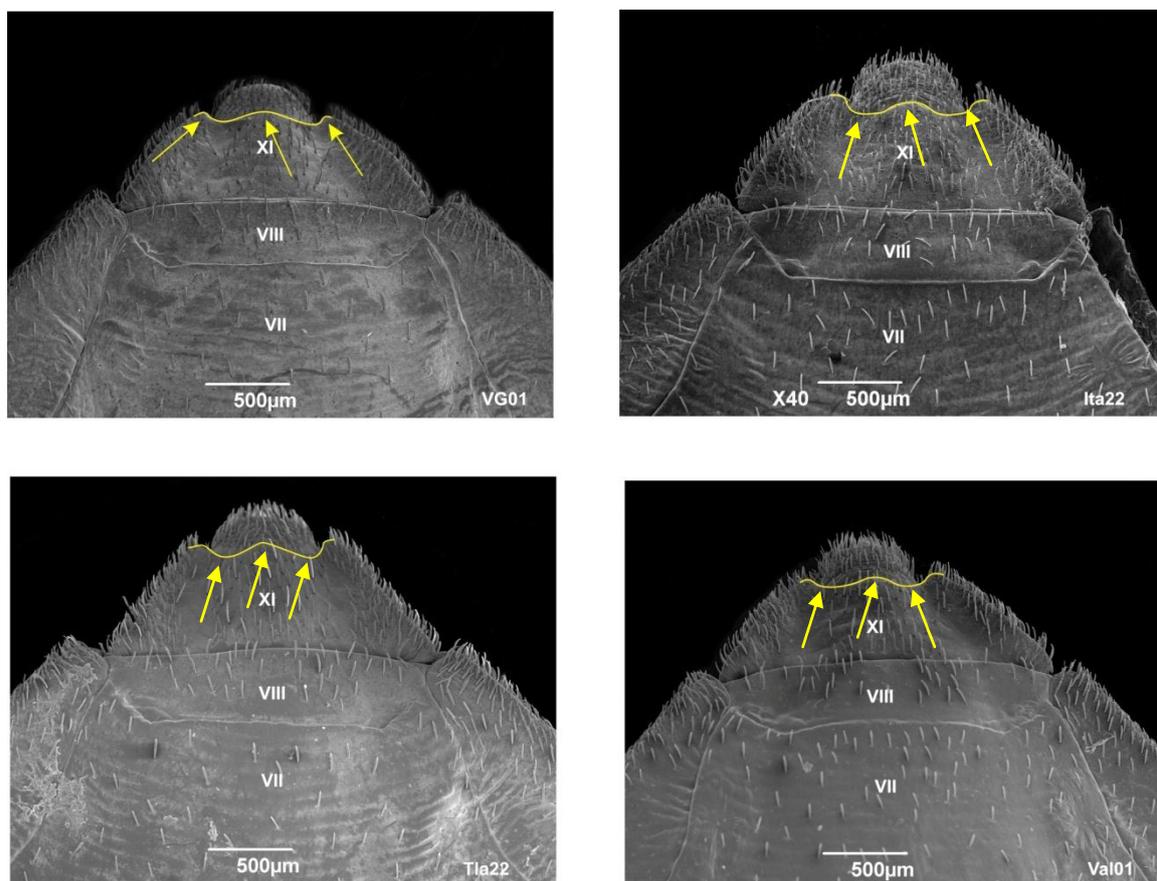


Figura 15: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – Aspecto do bordo distal do IX urotergito trilobado (seta) nas populações de Várzea Grande/MT (VG); Itaobim/MG (Ita); Três Lagoas/MS (Tla); São Valério da Natividade/TO (Val).

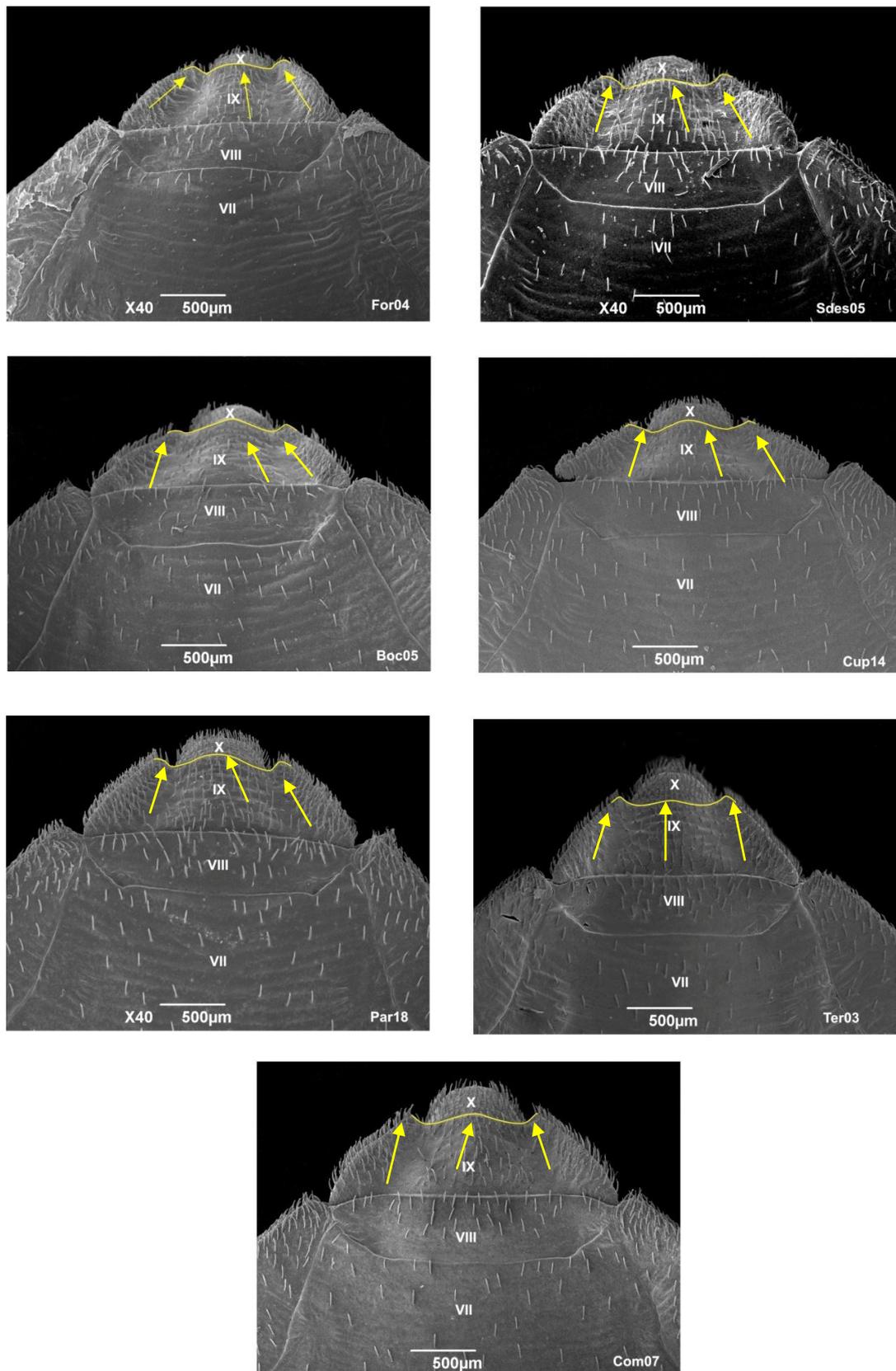


Figura 16: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – Aspecto do bordo distal do IX urotergito levemente trilobado (seta) nas populações de Formosa/ARG (For); São Desidério/BA (Sdes); Bocaiúva/MG (Boc); Aparecida do Taboado/MS (Cup); Paranaíba/MS (Par); Terenos/MS (Ter); Combinado/TO (Com).

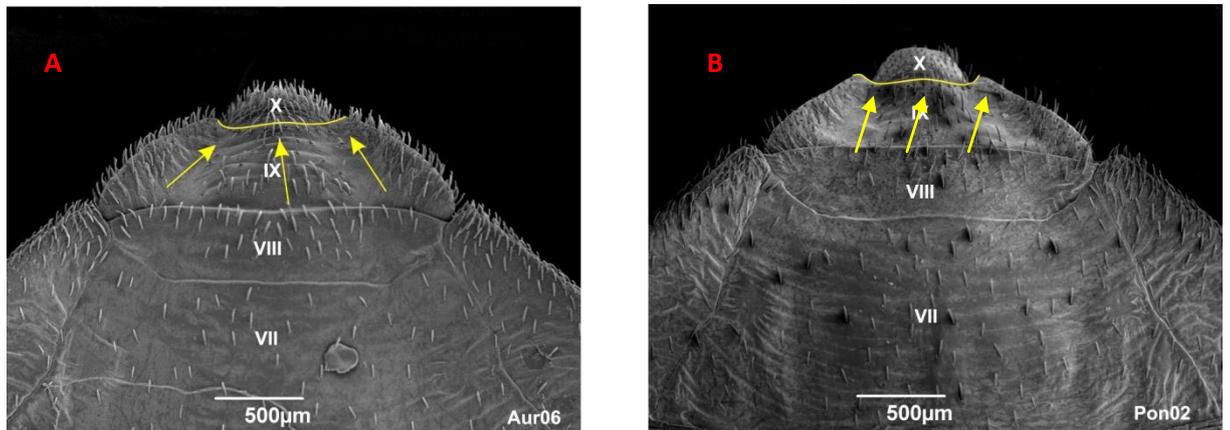


Figura 17: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – Aspecto do bordo distal do IX Urotergito sem lóbulo na região mediana (seta) nas populações de Aurora do Tocantins/TO (Aur); Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon).

O aspecto morfológico do X urotergito apresentou discretas variações. Nas populações de Itaobim (Ita), Terenos (Ter) e Ponte Alta do Tocantins (Pon) apresentaram este tergito com a forma semicircular (Figura 18 A, B, C) e nas demais populações este apresentavam a forma de uma campânula (Figura 18D).

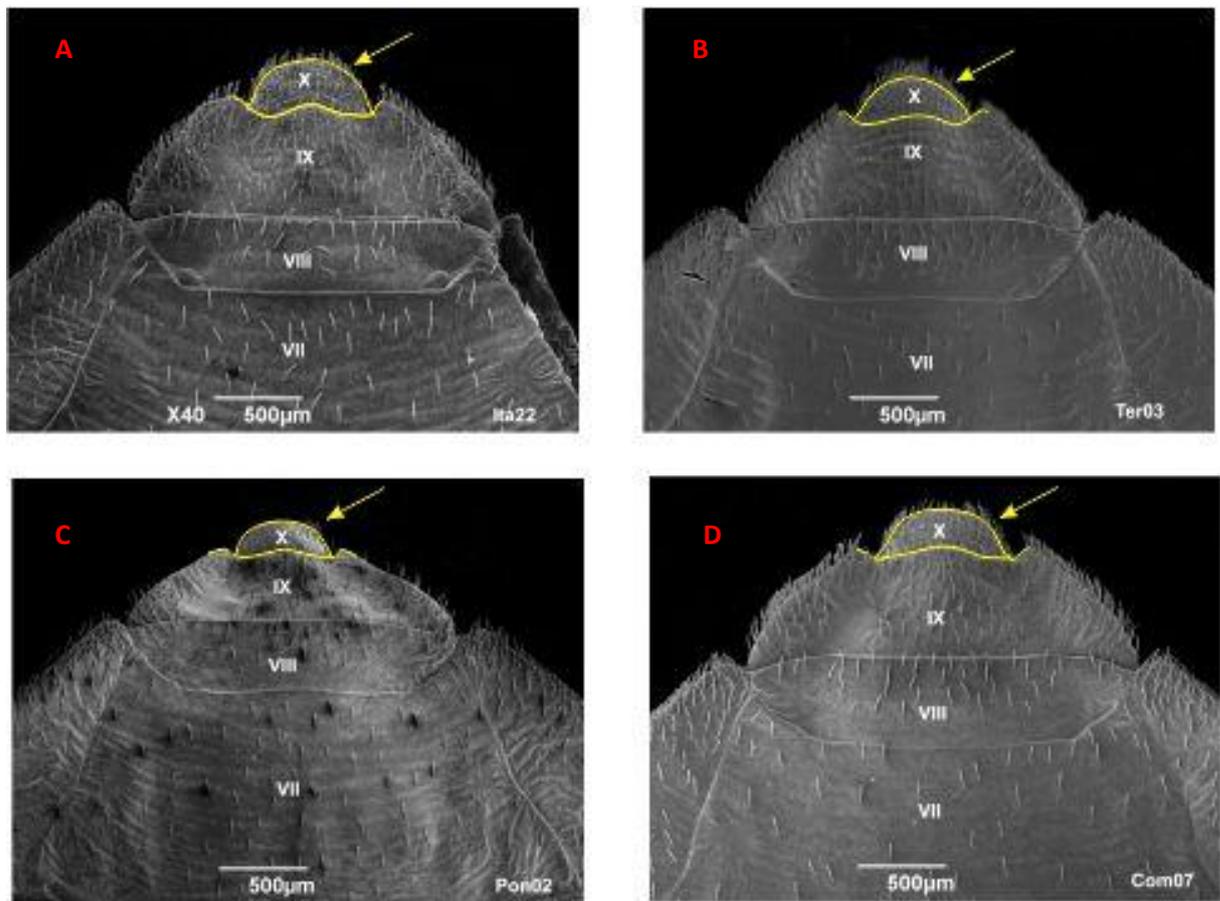


Figura 18: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista dorsal – A, B, C - Aspecto da forma semicircular do X urotergito (seta) nas populações de Itaobim/MG (Ita); Terenos/MS; Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon); D – Aspecto da forma em campânula do X urotergito nas demais populações.

4.3.2- VISTA VENTRAL

Na vista ventral as populações de Bocaiúva/MG, Guaraciama/MG e Paranaíba/MS apresentam elevação proeminente na região mediana da linha do bordo posterior do VII uroesternito. Nas demais populações esta região apresenta-se com discreta elevação (Figura 19).

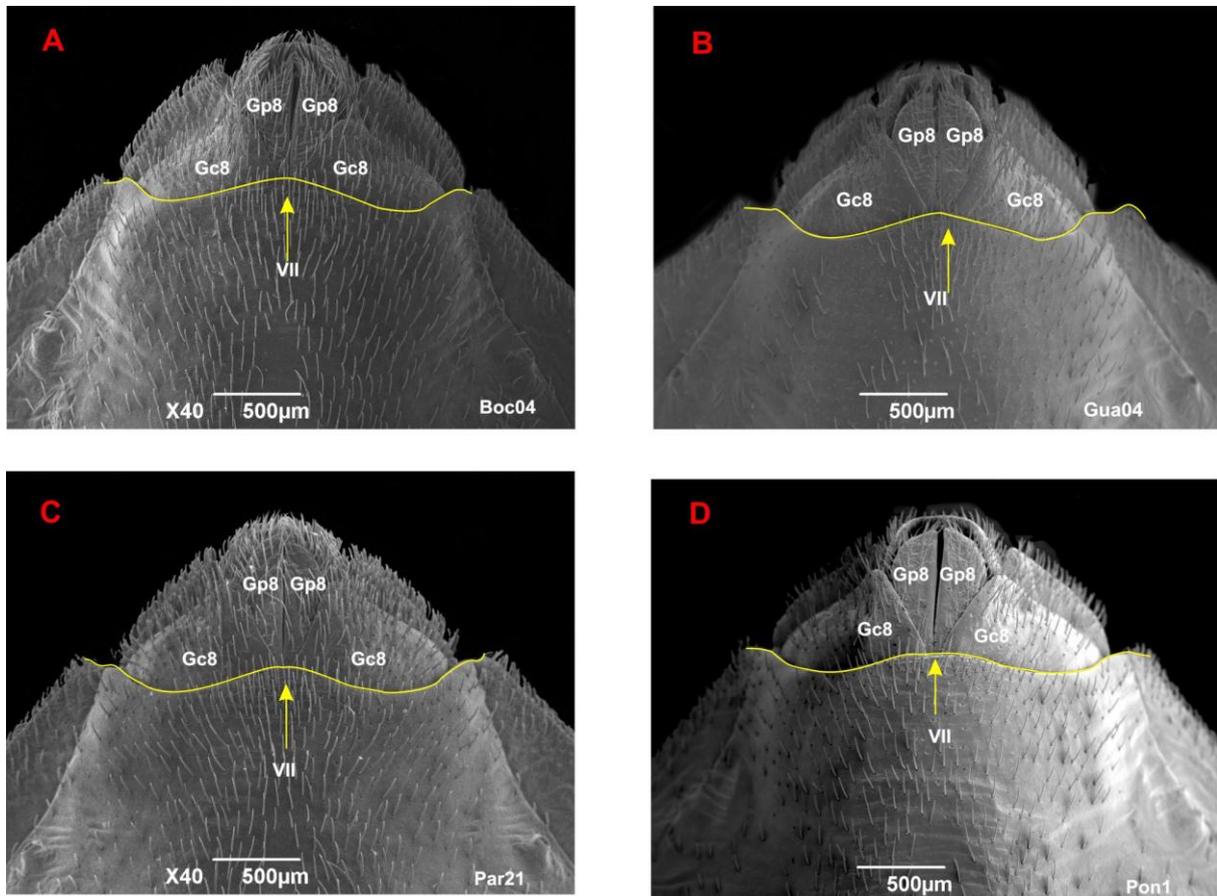


Figura 19: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral – (A, B e C), elevação proeminente na porção mediana do bordo posterior do VII uroesternito nas populações de Bocaiúva/MG (Boc); Guaraciama/MG (Gua); Par- Paranaíba/MS; D- Elevação discreta na porção mediana do bordo posterior do VII uroesternito (seta) nas demais populações.

As reentrâncias laterais conspícuas observadas no ápice do bordo lateral do IX urotergito, visualizado em vista ventral, apresentam diferentes aspectos. Assim, pode-se reunir as populações em três grupos a saber;

- Reentrâncias acentuadas - aspecto observado nas populações de Bocaiúva/MG (Boc), Combinado/TO (Com), Douradina/MS (Dou), São Valério da Natividade/TO (Val), Terenos/MS (Ter), Várzea Grande/MS (VG) (Figura 20);

- Reentrâncias suaves – observadas nas populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup), Aurora do Tocantins/TO, (Aur), Guaraciama/MG (Gua), Itaobim/MG (Ita), Lavandeira/TO (Lav), Paranaíba/MS (Par), Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon), São Desidério/BA (Sdes) (Figura 21).

- Sem reentrâncias – observado nas populações de Formosa/ARG (For) e de Três Lagoas/MS (Tla) (Figura 22).

As placas do gonocoxito 8 (Gc8) são triangulares podendo estar afastados ou próximos entre si. Nas populações de Formosa/ARG- (For), Guaraciama/MG (Gua), Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon), Lavandeira/TO (Lav), Paranaíba/MS (Par), Itaobim/MG (Ita), Bocaiúva/MG (Boc), Douradina/MS (Dou), São Desidério/BA (Sdes), São Valério da Natividade/TO (Val), Várzea Grande/MT (VG) e Terenos/MS (Ter) encontram-se afastados (Figura 23A). Enquanto que nas populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup), Aurora do Tocantins/TO (Aur), Combinado/TO (Com), e Três Lagoas/MS (Tla) estas estruturas estão próximas (Figura 23 B).

Nas regiões mediana e interna das gonapófises 8 (Gp8) e basal do gonocoxito 8 (Gc8) das populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup); Aurora do Tocantins/TO (Aur) e Três Lagoas/MS (Tla) visualisa-se a presença de numerosos espinhos curtos de ápice unifurcado, bifurcado e alguns trifurcados (Figura 24). Esta mesma área do tegumento da região basal do Gc8 apresentou-se recoberta por espinhos, com as mesmas características, nos espécimes de Guaraciama/MG (Gua), Itaobim/MG (Ita), Combinado/TO (Com), Douradina/MS (Dou), Várzea Grande/MT (VG) e Terenos/MS (Ter), porém a extensão é menor. Por outro lado, não foram encontrados espinhos em região correspondente do Gc8 nas populações de Bocaiúva/MG (Boc), São Desidério/BA (Sdes), São Valério da Natividade/TO (Val), Lavandeira/TO (Lav), Paranaíba/MS (Par), Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon) e Formosa/ARG- (For).

Os espécimes da população de Formosa/ARG (For), procedentes do Gran chaco formaram um grupo distinto das populações procedentes do cerrado seco e do cerrado úmido (Figura 24A).

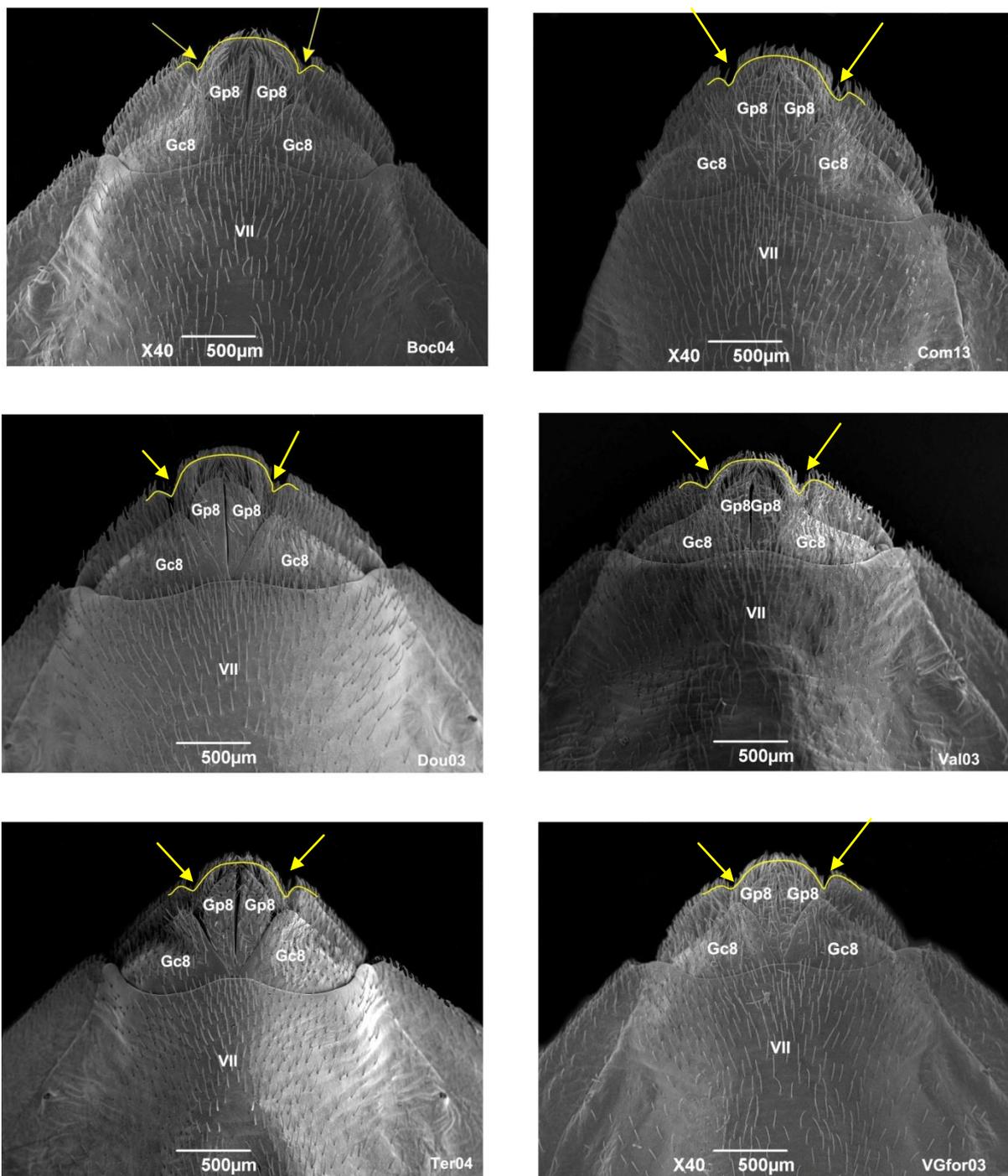


Figura 20: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral - reentrâncias acentuadas na porção distal do IX urotergitos (Seta) nas populações de Bocaiúva/MG (Boc); Combinado/TO (Com); Douradina/MS (Dou); São Valério/TO (Val); Terenos/MS (Ter); Várzea Grande/MT (VG).

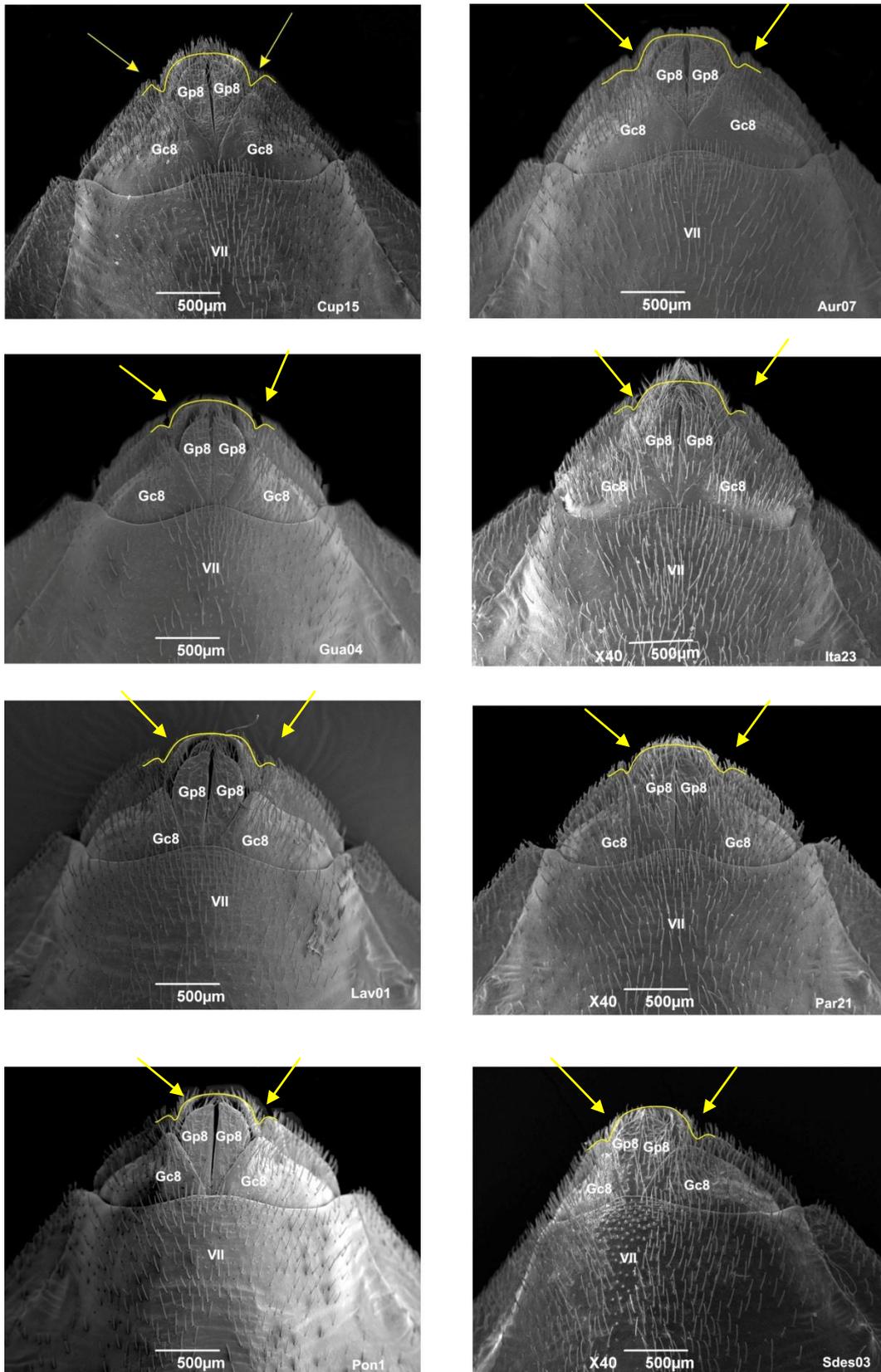


Figura 21: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral – reentrâncias suaves na porção distal do IX urotergitos (Seta) nas populações de Aparecida do Taboado/MS (Cup); Aurora/TO (Aur); Itaobim/MG (Ita); Lavandeira/TO (Lav); Paranaíba/MS (Par); Ponte Alta do Tocantins/TO (Pon); São Desidério/BA (Sdes).

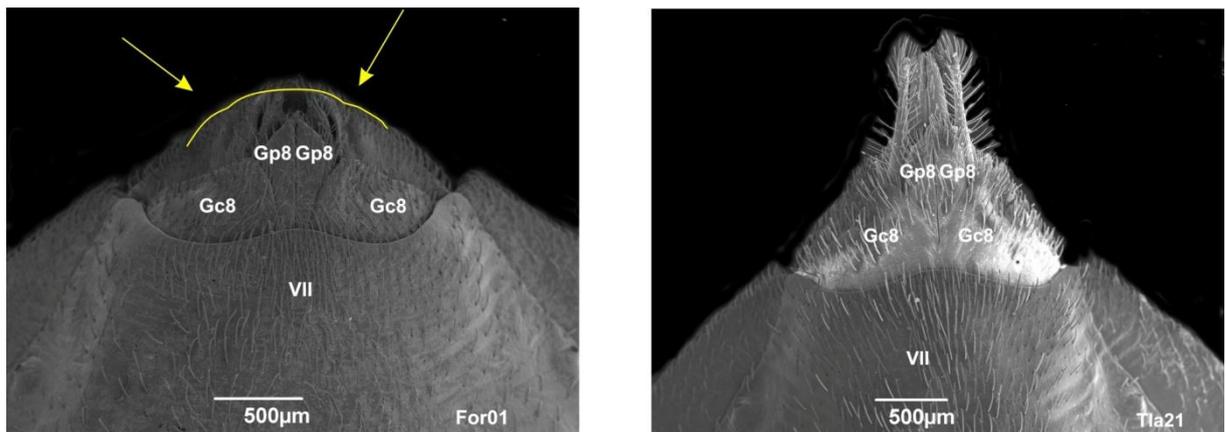


Figura 22: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral – sem reentrâncias na porção distal do IX urotergite (Seta) nas populações de; Formosa/ARG (For); Três Lagoas/MS (Tla).

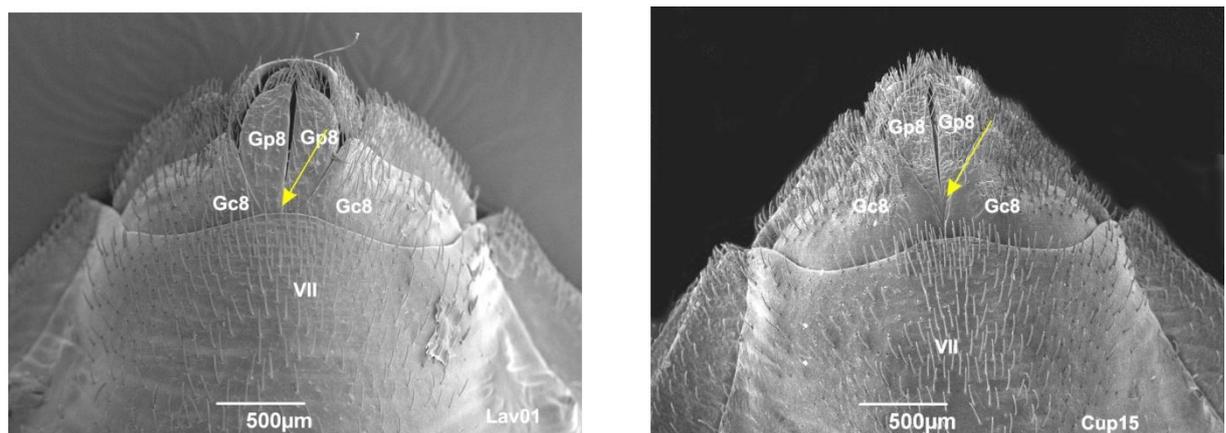


Figura 23: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral – A- gonocoxitos Gc8 afastados. B- gonocoxitos Gc8 próximos (Seta).

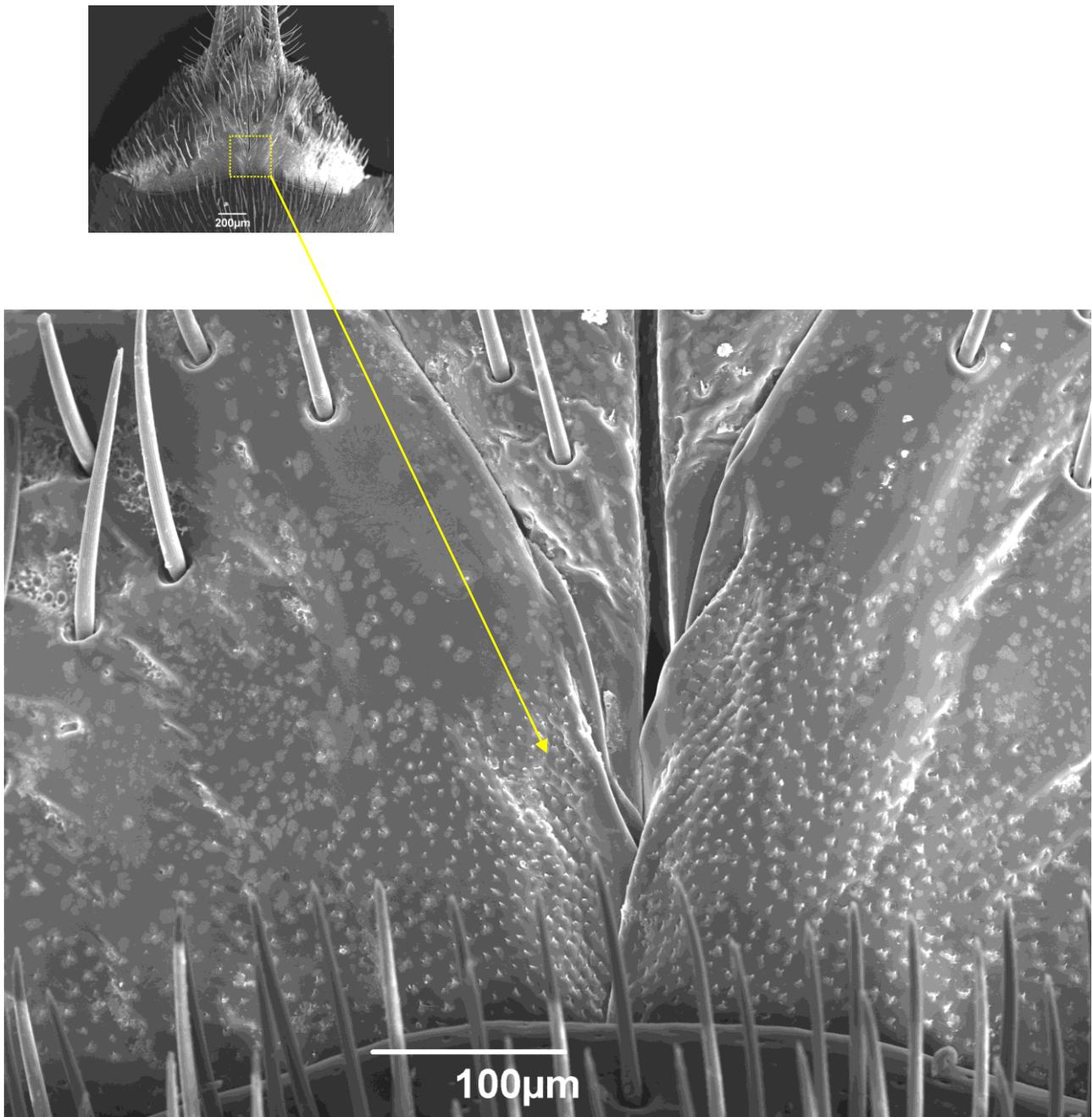


Figura 24: Micrografia eletrônica da porção final do abdômen de fêmeas de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859); Vista ventral – região basal do gonocoxito 8 com a presença de inúmeros espinhos, unifurcados, bifurcados e trifurcados (Seta).

4.4- MORFOMETRIA GEOMETRICA DAS ESTRUTURAS DAS ASAS

4.4.1- ANÁLISE DO TAMANHO

O teste de Kruskal-Wallis mostrou diferenças significativas entre as 10 populações (Tabelas 1 e 2) de *T. sordida* analisadas ($X^2= 123,09$, $GL= 19$ $p<0,0001$). Em todos os casos as asas das fêmeas foram maiores que as dos machos; porém o teste de Wilcoxon mostrou que as diferenças foram significativas para as populações brasileiras de Aurora do Tocantins/TO (Aur) ($X^2= 6,5455$, $GL= 1$ $p<0,0105$); Bocaiúva/MG (Boc) ($X^2= 2,1600$; $GL= 1$ $p<0,1416$); Itaobim/MG (Ita) ($X^2= 9,1808$; $GL= 1$ $p<0,0024$); Paranaíba/MS (Par) ($X^2= 9,1808$; $GL= 1$ $p<0,0024$); Três Lagoas/MS (Tla) ($X^2= 8,0404$; $GL= 1$ $p<0,0046$) e a população de Formosa, Argentina (For) ($X^2= 4,2667$; $GL= 1$ $p<0,0389$). Nas restantes populações (Bocaiúva, Combinado, Vargem Grande e São Desidério) não houve diferenças significativas para o tamanho centróide das asas de fêmeas e machos (Figura 25).

4.4.2- ANÁLISE DA CONFORMAÇÃO

O mapa fatorial elaborado a partir de uma análise canônica, mostrou uma separação entre as populações de *T. sordida* originárias do Cerrado seco (polígonos em cor verde) e as provenientes do Cerrado úmido (polígonos em cor vermelha). A população de Formosa (Argentina) encontra-se mais próxima ao grupo constituído pelas populações do Cerrado seco (Figura 26). A população de Paranaíba/MS (Par), procedente do Cerrado úmido pode ser incluída no grupo do Cerrado seco.

Os valores de reclassificação dos indivíduos de *T. sordida*, foram considerados em geral de excelentes a moderados (100-50%), sendo excelentes (100%) para as populações de São Desidério/ M, Formosa/ F; altos (80-70%) para a maioria das populações: Três Lagoas/ F, Vargem Grande/ M, São Desidério/ F, Vargem Grande/ F, Combinado/ M, Bocaiúva/ M, Aparecida do Taboado/ F, Formosa/ M, Três Lagoas/ M, Aurora do Tocantins/ M, Paranaíba/ M, Aparecida do Taboado/ M e moderados (50-66%) para as populações de Itaobim/ F, Paranaíba/ F, Combinado/ F, Itaobim/ M, Bocaiúva/ F, Aurora do Tocantins/ F (Tabela 4).

A árvore UPGMA construída a partir das distâncias de Mahalanobis mostra um grupo constituído pelas populações de Três Lagoas (Tla) e Vargem Grande (VG) pertencente ao Cerrado úmido; outro constituído pela população de Formosa (For) proveniente da ecorregião do Gran Chaco argentino; e outro pelas restantes populações brasileiras que incluem a maioria das populações do Cerrado seco e duas do Cerrado úmido (Aparecida Taboado/MS (Cup) e Paranaíba/MS (Par), que são municípios contíguos (Figura 27).

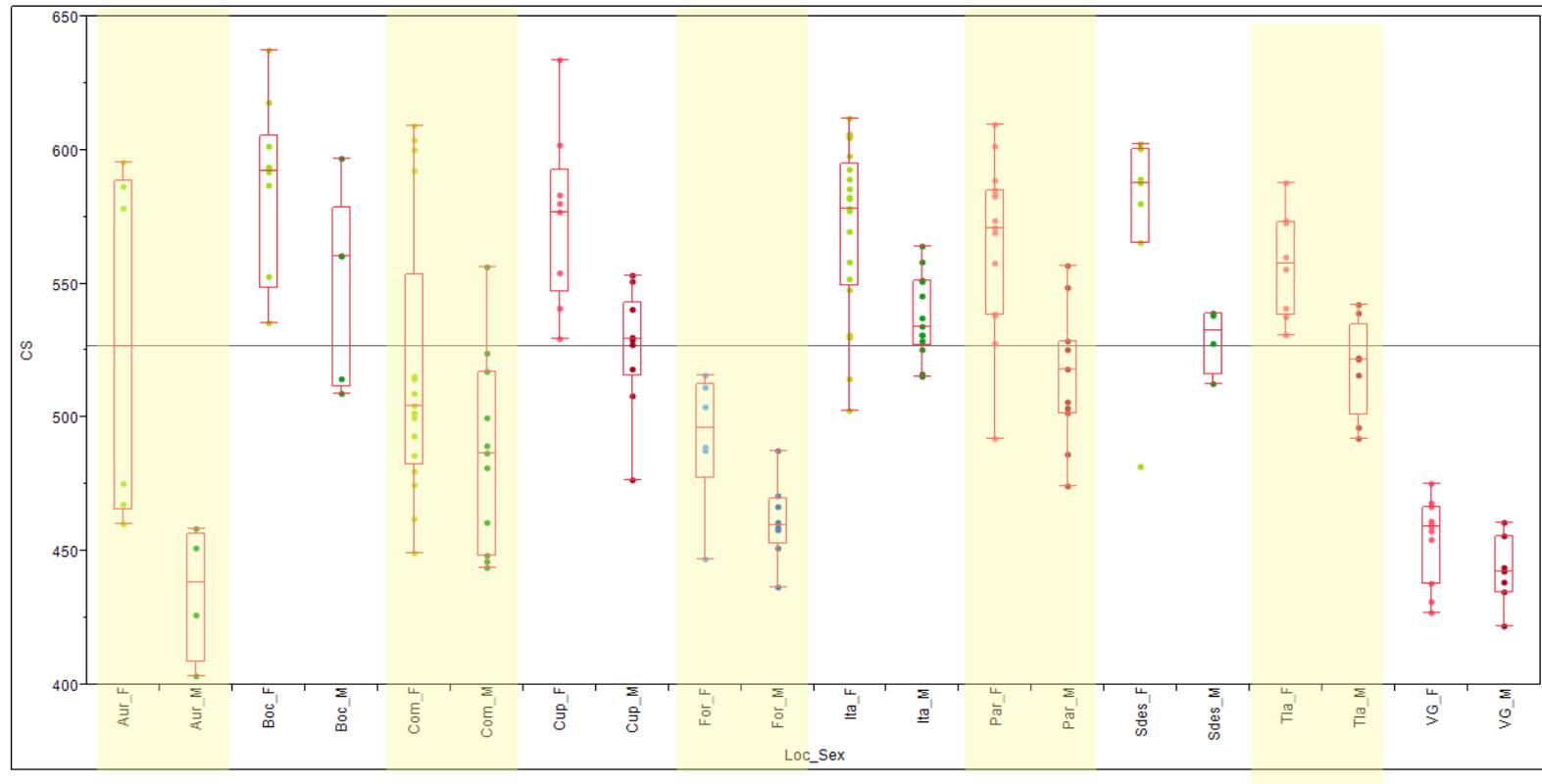


Figura 25: Tamanho centróide das asas de fêmeas (F) e machos (M) de *Triatoma sordida* originárias das localidades brasileiras de Aparecida do Taboado/MS (Cup), Aurora do Tocantins/TO (Aur), Bocaiúva/MG (Boc), Combinado/TO (Com), Itaobim/MG (Ita), Paranaíba/MS (Par), São Desidério/BA (Sdes), Três Lagoas/MS (Tla) e Várzea Grande/MT (VG) e Formosa (For) da Argentina. As caixas mostram os valores médios em cada grupo, a linha central separa o quartis 25 e 75 e as linhas extremas 10 e 90. A linha central denota a grande média e os pontos nos centros das caixas a distribuição dos indivíduos. Vermelho claro, verde claro e azul claro correspondem as Fêmeas; vermelho escuro, verde escuro e azul escuro correspondem aos Machos.

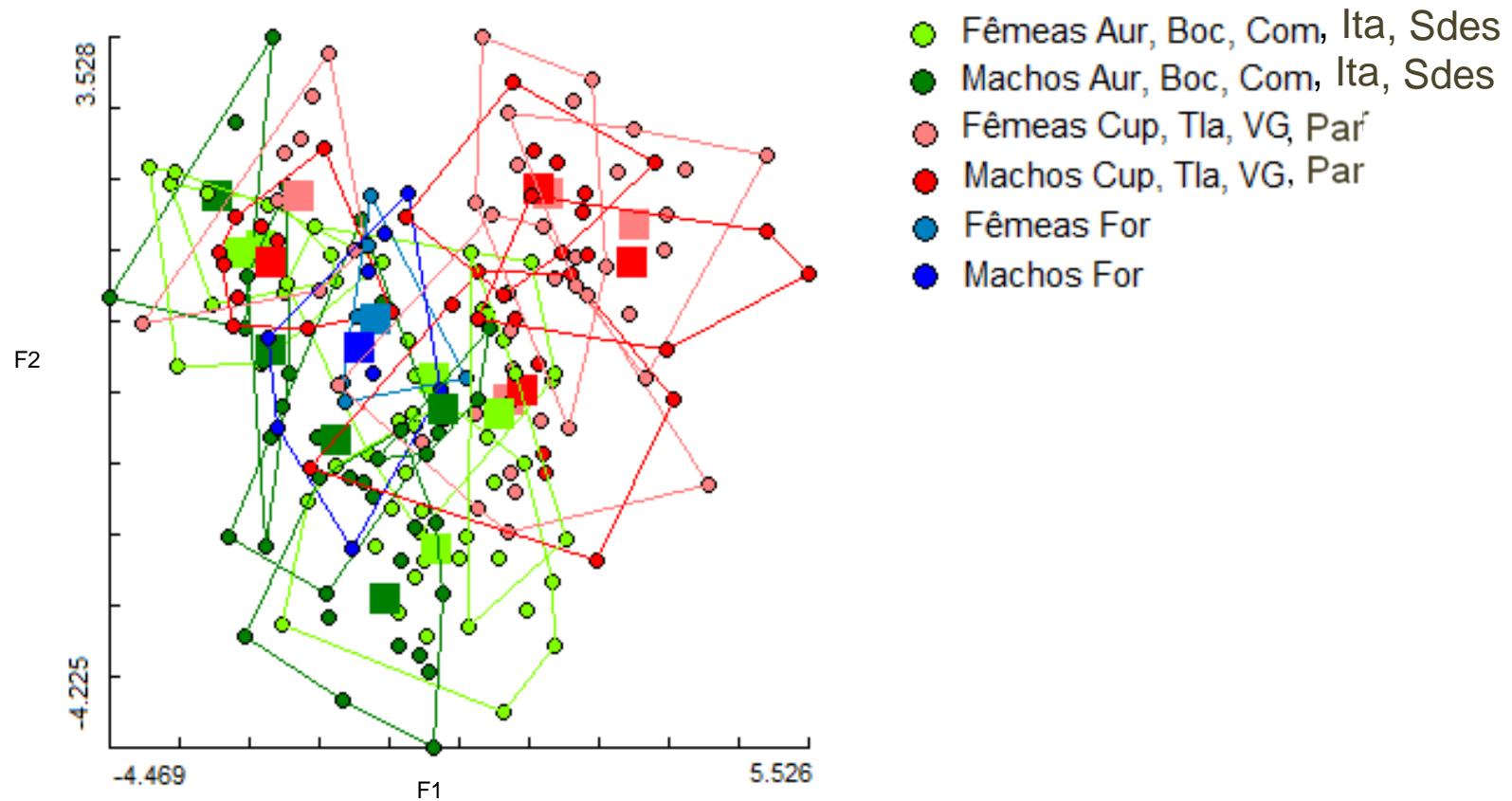


Figura 26: Mapa fatorial baseado em dois fatores (F1 e F2) discriminantes da variação da conformação das asas de populações de *Triatoma sordida*, mostrando em verde (F: verde claro; M: macho escuro) as populações das localidades de: Aurora do Tocantins/TO (Aur), Combinado/TO (Com); Bocaiúva/MG (Boc), Itaobim/MG (Ita) e São Desidério/BA (Sdes); provenientes das ecorregiões do cerrado seco. Em vermelho (F: vermelho claro; M: macho escuro), as populações das ecorregiões do cerrado úmido; Aparecida do Taboado/MS (Cup); Paranaíba/MS (Par); Três Lagoas/MS (Tla) e Várzea Grande/MT (VG). Em azul (F: azul claro; M: azul escuro), a população de Formosa da Argentina (For) proveniente do Gran chaco.

Tabela 4: Porcentagem de reclassificação dos indivíduos de *Triatoma sordida* segundo localidade de origem de sexo

Localidade de origem/ sexo	Nº indivíduos reclassificados/ Nº total	%
São Desidério/ M	4/4	100
Formosa/ F	6/6	100
Três Lagoas/ F	7/8	87
Vargem Grande/ M	6/7	85
São Desidério/ F	6/7	85
Vargem Grande/ F	9/11	81
Combinado/ M	9/11	81
Bocaúvia/ M	4/5	80
Aparecida do Taboado/ F	7/9	77
Formosa/ M	6/8	75
Três Lagoas/ M	6/8	75
Aurora do Tocantins/ M	3/4	75
Paranaíba/ M	8/11	72
Aparecida/ M	7/10	70
Itaobim/ F	14/21	66
Paranaíba/ F	10/15	66
Combinado/ F	11/17	64
Itaobim/ M	8/13	61
Bocaúvia/ F	6/10	60
Aurora do Tocantins/ F	3/6	50

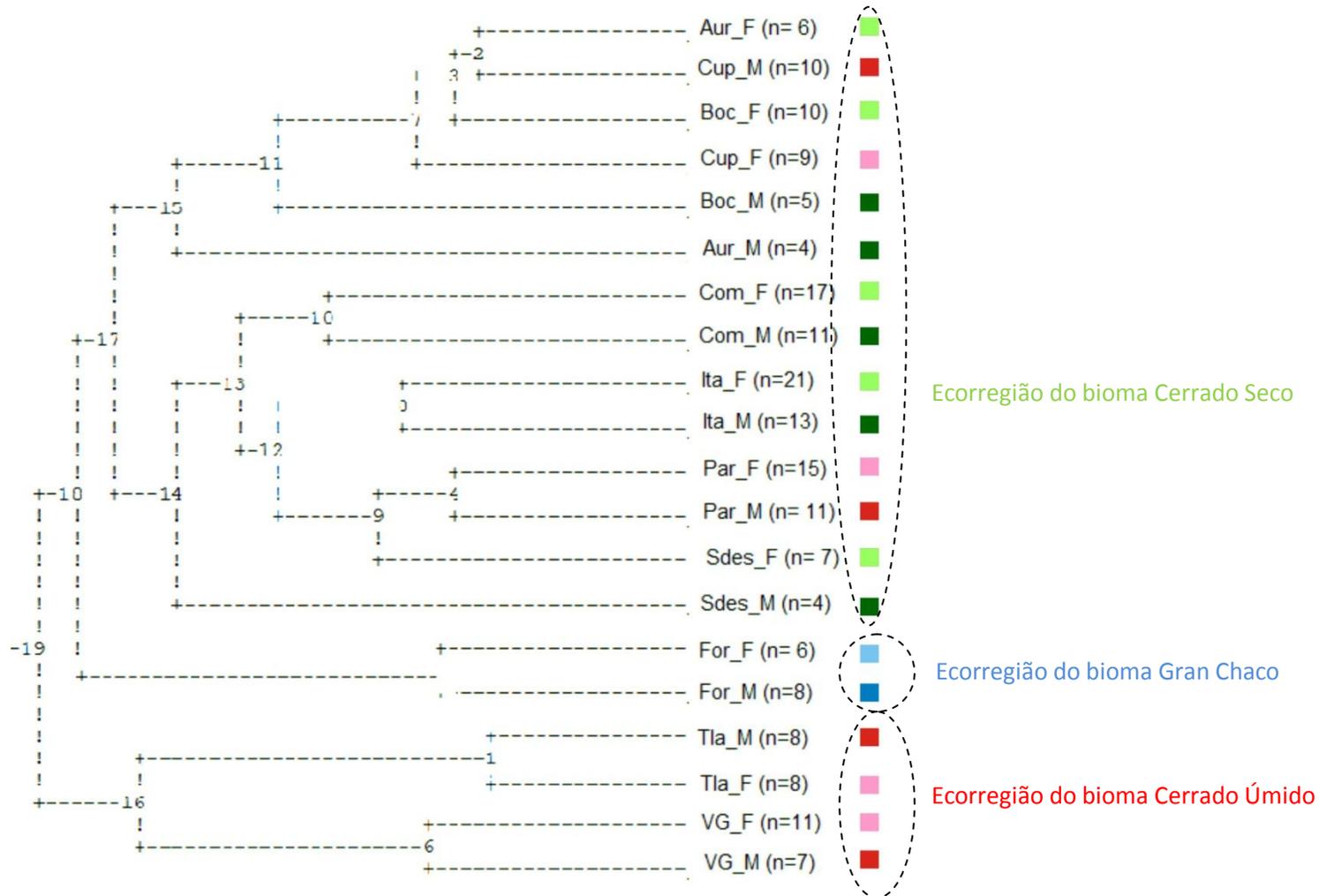


Figura 27: Árvore UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis mostrando em verde (F verde claro e M verde escuro), o grupo das populações de *T. sordida* proveniente da ecorregião do Cerrado *stricto sensu* (seco); Em vermelho (F vermelho claro e M vermelho escuro), populações do Cerrado úmido; Em azul (F azul claro e M azul escuro) as do Gran Chaco. As variáveis canônicas mostram que há uma discreta separação da conformação das asas entre os grupos das diferentes ecorregiões.

Para avaliar a relação das diferentes ecorregiões sobre as populações de fêmeas, uma nova análise da conformação das asas foi realizada com as fêmeas de cada população, agrupada segundo sua ecorregião. O mapa fatorial derivado de uma análise discriminante revelou que há uma segregação entre as populações do cerrado seco, úmido e Gran chaco, corroborando os resultados obtidos anteriormente (Figura 28).

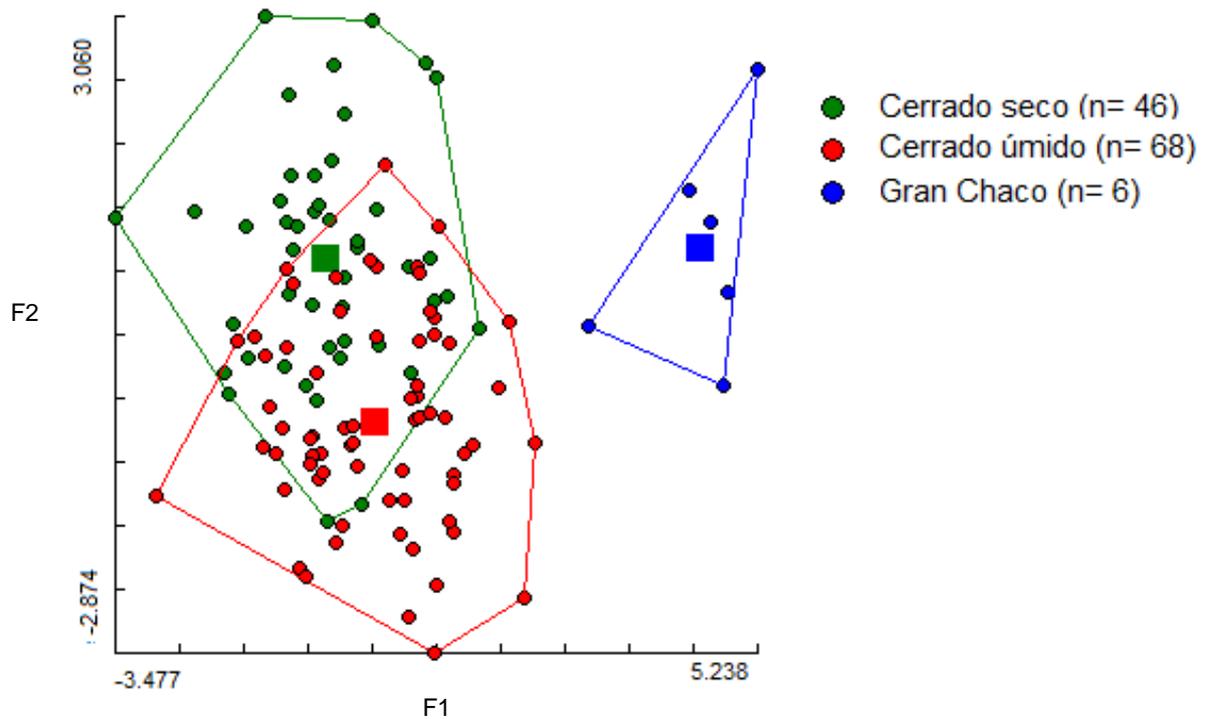


Figura 28: Mapa fatorial elaborado a partir das distâncias de Mahalanobis mostrando populações de *Triatoma sordida* provenientes da ecorregião do Cerrado seco (verde); Cerrado úmido (vermelho) e Gran Chaco (azul).

Já o dendograma UPGMA derivado das distâncias de Mahalanobis mostrou que as populações do Cerrado seco e úmido encontram-se próximas entre si, entretanto, observa-se a nítida segregação da população do Gran Chaco Argentino (Figura 29). Os valores de reclassificação foram excelentes (100%) para a população do Gran Chaco e altos (78-79%) para o Cerrado seco e úmido respectivamente.

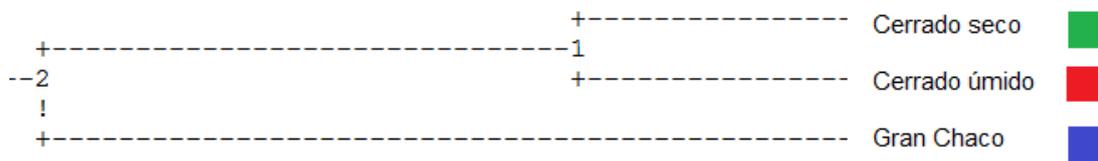


Figura 29: Árvore UPGMA a partir das distâncias de Mahalanobis mostrando, em verde, um grupo com as populações de *Triatoma sordida* proveniente do Cerrado seco; em vermelho, do Cerrado úmido e em azul do Gran Chaco.

4.5- ANÁLISE DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES

O padrão de hidrocarbonetos cuticulares foi avaliado nas 16 populações, onde se analisaram de 3 a 6 indivíduos por população perfazendo um total de 91 exemplares de *T. sordida* (Tabela 1). Um total de 65 picos foram marcados e considerados para análise. A título de ilustração, na Figura 30, estão exemplificados os cromatogramas das populações de *T. sordida* representantes das três ecorregiões com a identificação dos picos cromatográficos contendo hidrocarbonetos, realizados pela técnica da cromatografia gasosa acoplada a espectrometro de massa (CGC/ MS).

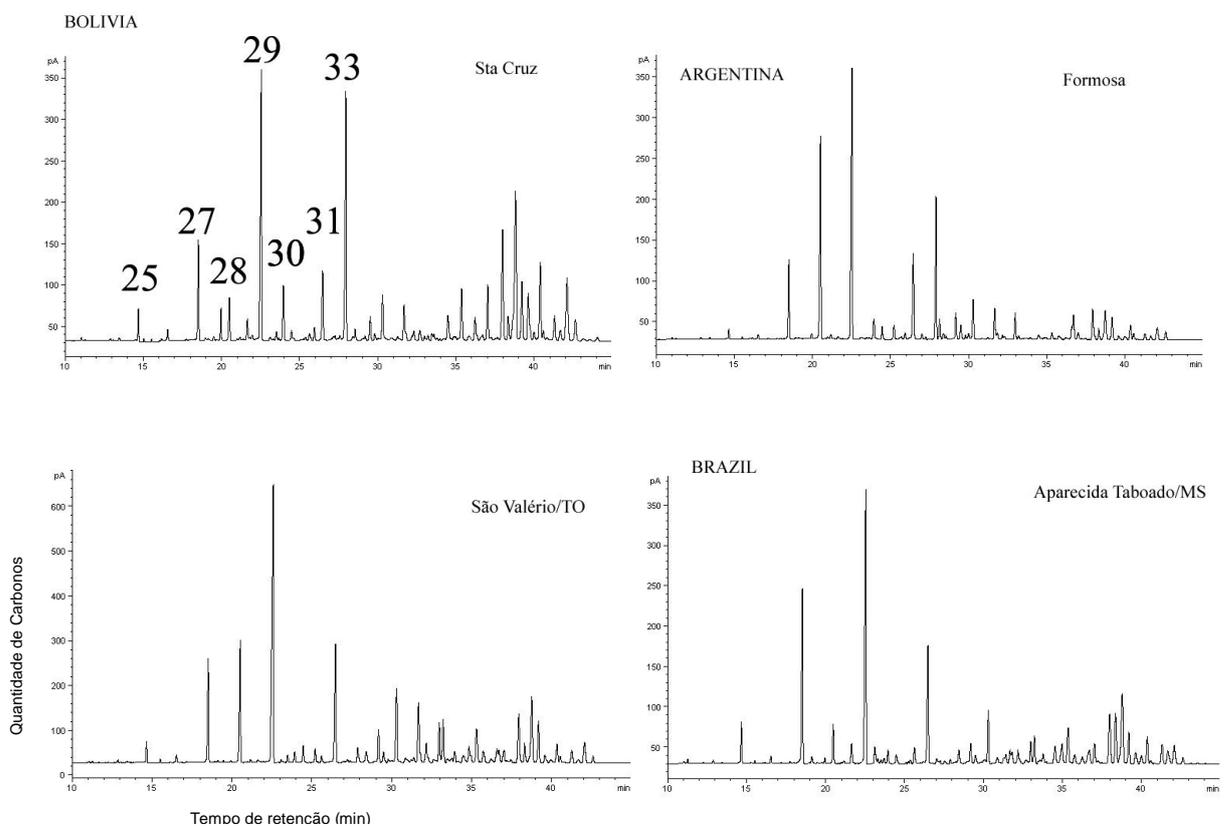


Figura 30: Representação dos cromatogramas obtidos pela análise dos hidrocarbonetos cuticulares das asas de exemplares de populações de *Triatoma sordida* representantes de três ecorregiões: Gran Chaco (Santa Cruz e Formosa), Cerrado Seco (São Valério), Cerrado Úmido (Aparecida do Taboado). Os números são equivalentes à quantidade de carbonos que formam os compostos e o tempo de retenção dos compostos em minutos.

As espécies de maneira geral apresentam variações nas ramificações do radical Metil. Na Tabela 5 encontram-se listados os hidrocarbonetos determinados pelo CGC/MS, com o seu respectivo índice de Kovats (KI) que mais contribuirá para análise quimiotaxônomica dos exemplares de *T. sordida*.

Tabela 5: Hidrocarbonetos cuticulares de populações de *Triatoma sordida*, identificados através de CGC/MS.

KI	HC
2300	n-C23
2500	n-C25
2700	n-C27
2772	3-metil C27
2900	n-C29
2976	3-metil C29
3158	11,21-dimetil C31
3176	3-metil C31
3350	11,15-dimetil C33
3359	11,21-dimetil C33
3375	3-metil C33
3379	11,15,21-trimetil C33
3474	12,16,22-trimetil C34
3601	3,15-dimetil C35
3612	3,7-dimetil C35
3654	3,7,11,15-tetrametil C35
3780	13,17,23-trimetil C37
3968	13,17,23-trimetil C39

A análise de clado (CA) possibilitou estabelecer a comparação, calcular o grau de similaridade entre amostras e elaborar uma árvore baseada no método de agrupamento UPGMA (Figura 31). Esta análise revela que há uma segregação das populações de *T. sordida* provenientes de Sta Cruz/BO e de Formosa/ARG, as quais representam a ecorregião do Gran Chaco e formam o primeiro clado. No segundo clado ficaram agrupadas a maioria das espécies oriundas das zonas características do Cerrado seco que é considerado Cerrado *stricto sensu*. O terceiro clado foi constituído pela maioria dos espécimes que representam a área do Cerrado mais úmido.

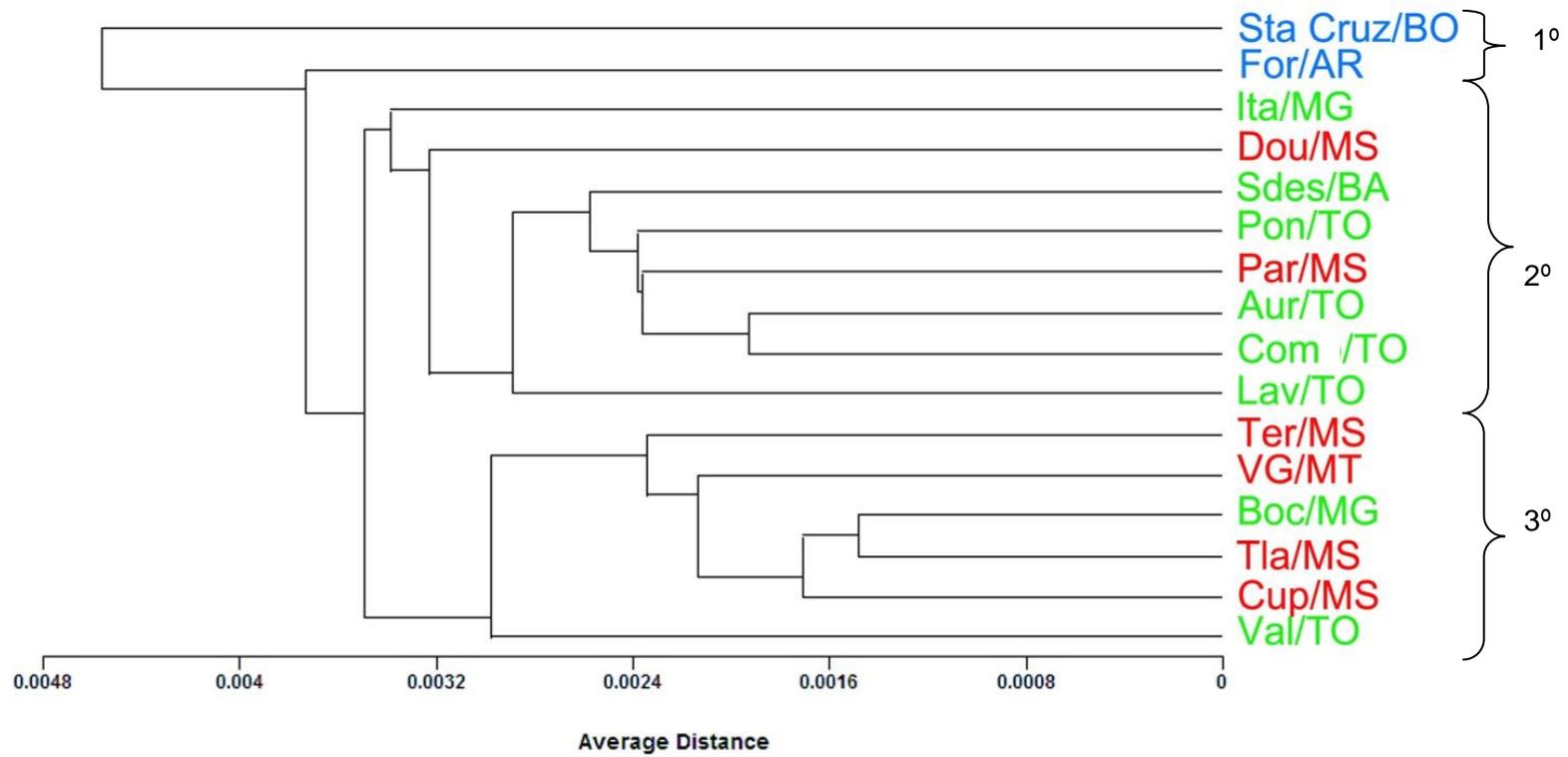


Figura 31: Árvore UPGMA elaborada a partir das distâncias de Mahalanobis calculadas entre as populações de *Triatoma sordida*. Clado 1- na cor azul, populações do Gran Chaco (Sta Cruz/BO e Formosa/ARG); Clado 2- Na cor verde, populações do Cerrado seco; Clado 3- em vermelho, populações de *T. sordida* provenientes de zonas compreendidas nas áreas do Cerrado úmido.

4.6- ANÁLISE DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi*

A análise do conteúdo intestinal dos insetos tanto pelo exame parasitológico das fezes quanto pela técnica do multiplex - PCR não evidenciaram a presença de indivíduos infectados (Tabela 6).

Tabela 6: Análise por multiplex-PCR do conteúdo intestinal de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1959).

Localidade (Estado)	Código	Nº de machos	Nº de fêmeas	Total	Infeção por <i>T cruzi</i>
Aurora do Tocantins/TO	Aur	3	3	6	Negativo
Bocaiúva (MG)	Boc	8	4	12	Negativo
Combinado/TO	Com	3	3	6	Negativo
Ap. do Taboado/MS	Cup	4	5	9	Negativo
Douradina/MS	Dou	2	2	4	Negativo
Formosa/(ARG	For	8	5	13	Negativo
Guaraciama/MG	Gua	4	1	5	Negativo
Itaobim /MG	Ita	6	9	15	Negativo
Lavandeira/TO	Lav	1	0	1	Negativo
Paranaíba /MS	Par	8	14	22	Negativo
Santa Cruz /BO	StaCruz	5	0	5	Negativo
São Desidério /BA	Sdes	3	3	6	Negativo
São Valério da Natividade/TO	Val	1	7	8	Negativo
Terenos/MS	Ter	1	4	5	Negativo
Três Lagoas/MS	Tla	4	4	8	Negativo
Várzea Grande/MT	VG	5	6	11	Negativo
Total		16	58	136	



5- DISCUSSÃO

CONSIDERAÇÕES GERAIS

As áreas de procedência dos triatomíneos estão inseridas no ecossistema de Cerrado, que apresenta faixas transicionais com diversas feições paisagísticas e do Gran Chaco. A vegetação natural das áreas das populações analisadas concentra-se em porções, onde diversas fitofisionomias alternam-se na paisagem, com amostras de áreas com o domínio do Cerrado Arbóreo Denso (Cerradão), que se constitui de uma formação composta por vegetação hidrófila nas áreas pantanosas, com denso estrato de árvores de porte médio, matas ciliares, isto é, nas margens dos rios; áreas de domínio Gran chaco, que se constitui de matas secas com madeira dura como o quebracho; áreas com pastagens (Cerrado ralo e cerrado *stricto sensu*) e matas xerófilas (Caatinga – Cerrado). Entretanto, as feições paisagísticas naturais deste bioma, com o crescente desenvolvimento das atividades agropastoris estão dando lugar a pastagens plantadas e atividades agrícolas para a produção de grãos e algodão (Diotauti, 2007).

Nos dias de hoje, frente ao franco processo de globalização se faz necessária a maior compreensão dos mecanismos de adaptação e de endemicidade de muitos insetos relacionados com a transmissão de doenças, em especial daquelas que afetam as faixas mais pobres das populações, para que hipóteses consistentes que reünam a integração de diferentes setores da sociedade possam desenvolver ações preditivas de controle sobre possíveis locais de transmissão, o vetor e sua ecologia (Forattini *et al.*, 1973; Diotaiuti *et al.*, 1998; Pires *et al.*, 1998; Peterson, 2006). As condições ambientais atuam como fatores determinantes para a distribuição geográfica, densidade espaço-temporal dos agentes patógenos, vetores e hospedeiros. Assim, a dinâmica fitogeográfica no espaço e no tempo e a repercussão desta no quadro distributivo da fauna e da entomofauna é extremamente complexa devido as constantes descaracterizações dos ambientes naturais, com a retirada da cobertura vegetal silvestre; fato que se constitui em um dos principais fatores de infestação e reinfestação de triatomíneos nas moradias com condições de abrigar populações destes insetos vetores (Forattini, 1980).

O avanço das atividades agrícolas, o desmatamento desmedido, as queimadas para expansão das atividades pecuárias vem reduzindo as áreas de domínio do bioma Cerrado que cobriam a extensão de 1,8 milhões de Km², alterando o padrão de distribuição da fauna e flora (Machado *et al.*, 2008; Silva, 2011) Harris *et al.*, (2006) ressaltam que a supressão da

vegetação nativa verificada no corredor Gran Chaco - Cerrado- Caatinga, em especial na Bacia do Alto Paraguai, pode comprometer seriamente a biodiversidade na região onde se verifica que a maioria das áreas faz parte da rota migratória de diferentes espécies de pássaros.

As alterações ambientais passam a ter importância em nível epidemiológico para a doença de Chagas, na medida que a área de distribuição geográfica de algumas espécies de triatomíneos está diretamente relacionada a um determinado tipo de bioma. Entretanto, existem espécies associadas a diferentes ecorregiões, ou seja, ecléticas, como é o caso de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) e *Triatoma sordida* (Gurgel-Gonçalves *et al.*, 2012). No presente estudo, as populações de *T. sordida* analisadas estão associadas as zonas do Gran Chaco e do Cerrado em suas diferentes fitofisionomias.

Goubière *et al.*, (2012) abordam a interrelação existente entre as diferentes espécies de triatomíneos, onde se detecta a competição por ocupação de territórios, como ocorreu e ainda ocorre entre *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *P. megistus*, *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 e *T. sordida* em diferentes partes da América do Sul. Esta abordagem aliada ao processo de erradicação impetrado contra o vetor principal no domicílio, *T. infestans*, pode ser a explicação para a ocorrência das altas densidades de espécies de triatomíneos de importância secundária como é o caso de *T. sordida* que segue com o “status” de espécie mais capturada no Brasil (Oliveira & Silva, 2007; Gurgel - Gonçalves *et al.*, 2010; Obara *et al.*, 2011).

Espécies de triatomíneos como *T. sordida*, tem suas populações classificadas como indivíduos de ampla valência ecológica, e ampla capacidade de dispersão, com características ubíquistas, que apresentam satisfatória adaptação aos ambientes em situação de entropia, com comprovada tendência invasivas, aliada a forte capacidade em fundar colônias tanto em ecótopos silvestres como em ecótopos artificiais em um gradiente de ocorrência que atingem desde áreas frias e secas do Gran Chaco até áreas mais quentes e úmidas do corredor Pantanal-Cerrado-Caatinga (Corrêa & Ferreira, 1959, Forattini, 1973; Diotaiuti *et al.*, 1995; Diotaiuti *et al.*, 1998; Noireau *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 2005; Oliveira & Silva, 2007).

Em 1993, Prado & Gibbs chamavam a atenção para as expansões das florestas semicíduas e decíduas, como sendo hoje zonas remanescentes de uma floresta contínua que cobria grande parte da América do Sul e consideravam o Cerrado como um corredor entre a Caatinga e o Chaco, sendo rota migratória para muitas espécies da fauna e flora durante o pleistoceno. Machado *et al.* (2008) apontam que somente nesta ampla ecorregião

do Cerrado se encontram supercentros de biodiversidade distribuídos em 8 centros. Destes, seis coincidem com a área de distribuição de *T. sordida*, sendo que dois abrangem São Paulo e sul de Minas Gerais, três o Planalto Central e um o Pantanal.

Gurgel-Gonçalves *et al.*, (2012) afirmaram que a distribuição geográfica de algumas espécies se correlaciona fortemente a um bioma em particular. Entretanto esta não é a realidade que foi observada para a espécie *T. sordida* que apresenta ampla valência ecológica que a torna capaz de distribuir-se além do bioma de Cerrado, alcançando os biomas de Mata Atlântica, de Caatinga e Pantanal. Segundo Silva (2011), numa população de distribuição muito ampla, subpopulações podem surgir em decorrência das adaptações locais, com o estabelecimento gradual e contínuo de barreiras reprodutivas que podem ser direta ou indiretamente direcionadas pela seleção natural.

Como as adaptações locais são susceptíveis de envolver divergências de alguns genes entre as populações e estas divergências irão se revelar ao longo do tempo (Hewitt, 2011), a ocorrência de *T. sordida* em diferentes ecótopos, e até mesmo em áreas de superposição com três espécies afins, torna-se problemática tanto para o conhecimento da real distribuição geográfica, quanto para o diagnóstico específico (Gorla *et al.*, 1993; Diotaiuti *et al.*, 1993). O mesmo é verdadeiro para o conhecimento da competência vetorial do *taxon*, uma vez que as espécies de triatomíneos apresentam diferentes padrões biológicos comportamentais .

Considerando-se que a faixa territorial brasileira tradicionalmente identificada como de transmissão vetorial da doença, inclui grandes áreas das regiões Centro-Oeste, Sul, Sudeste e Nordeste, e parte da Região Norte (Drumond & Marcopito 2006), a maioria de distribuição de *T. sordida*, torna-se necessário para impetrar ações de controle a correta identificação taxonômica dos insetos, o conhecimento da competência vetorial e a investigação da presença ou ausência do parasito.

5.1- INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi*

O histórico da competência vetorial de *T. sordida* oscila sua importância epidemiológica no âmbito da saúde pública; os registros apontam que nos últimos 40 anos esta espécie tem sido comumente encontrada infectada por *T. cruzi* (Barretto 1971, 1976; Forattini 1973, 1980; Carcavallo *et al.*, 1988; Dias 1988; Schofield 1994; Noireau *et al.*, 1997

e 1998). Porém as taxas de infecção são mais reduzidas nas unidades domiciliares pelo seu hábito predominantemente ornitofílico (Diotaiuti *et al.*, 1993; Guarneri *et al.*, 2000). Segundo Gurgel- Gonçalves *et al* (2010) *T. sordida*, no Brasil, ainda vem mantendo o status da espécie mais capturada no ambiente de peridomicílio e segue apresentando baixo risco de transmissão do agente etiológico da doença de Chagas. Entretanto, para Vianna (2011) o padrão de infestação pelo *T. sordida*, ao que tudo indica, adquire feições particulares que devem ser avaliadas, pois há o registro de ocorrência da doença de Chagas, como os casos registrados em Macaúbas, na Bahia, onde ninfas desta espécie presentes no intra e peridomicílio apresentaram 50% de infecção por *T. cruzi* (Dias *et al.*, 2008) e o caso agudo de infecção no Estado do Tocantins, descrito por Diotaiuti *et al.*, (2009).

Corroborando os dados da literatura, no presente trabalho não foi detectada a infecção por *T. cruzi* nos espécimes analisados tanto pelo exame parasitológico das fezes dos triatomíneos quanto pela análise da técnica de Multiplex-PCR do conteúdo intestinal dos insetos neste trabalho, apesar de ter sido examinado uma amostra representativa.

5.2- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE MACHOS POR MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

Para Meglitsch (1954), é característico nas espécies a presença de peculiaridades morfológicas, fisiológicas e ecológicas, que são a expressão genotípica da configuração hereditária única em consonância com os fatores ambientais.

A análise morfológica comparativa das estruturas fálicas tem se mostrado um elemento importante na caracterização e separação das espécies de triatomíneos (Carcavallo *et al.* 2001), e tem sido amplamente utilizada por vários autores como base na separação, revalidação e descrição de novas espécies, como exemplo pode-se citar: Gorla *et al.*, (1993), fazendo uso desta técnica na comparação detalhada entre *T. guasayana*, *T. garciabesi* e *T. sordida*, que compunham o complexo *sordida*, evidenciaram diferenças consideráveis no processo do endosoma e no falosoma de *T. sordida* e *T. guasayana*, conseguindo assim separar os três *taxa*.

Lent *et al.*, (1993) com base em estruturas da genitália descreveram *Rhodnius stali*; Jurberg (1995), demonstrou que a tribo Triatomini apresentava homogeneidade dentre seis das dez estruturas analisadas e Jurberg *et al.*, (1998) revalidaram o *taxon T. garciabesi*. Assim, muitas espécies de triatomíneos podem ser identificadas com base em sua morfologia externa.

No presente trabalho evidenciou-se a homogeneidade existente entre os espécimens da mesma população, porém a análise interpopulacional apresentou diferenças na forma do falosoma (Ph). O formato ovóide, mais longo que largo, predominou nos indivíduos das três ecorregiões sendo o mais frequente dentro das populações analisadas. O aspecto retangular foi comum aos indivíduos das populações localizadas nas áreas do bioma de Cerrado seco e do Gran Chaco. Outras diferenças foram observadas no processo do endosoma e no suporte do falosoma, mas não apresentaram estruturação quanto às ecorregiões.

Embora as estruturas da genitália externa do macho sejam de importância para a determinação de diferentes populações como observado por Lopes (2001) no estudo de espécies do complexo *sordida*, no presente estudo as variações dos perfis observadas não representam indícios de isolamento reprodutivo entre as populações das três ecorregiões.

5.3- MORFOLOGIA DAS ESTRUTURAS DA GENITÁLIA EXTERNA DE FÊMEAS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Antes da década de 60, as estruturas da genitália das fêmeas também eram consideradas como elemento nos estudos de morfologia. Entretanto Lent & Wygodzinsky (1979) descartam o uso destas estruturas por considerar pouco elucidativas à contribuição dos caracteres taxonômicos. Em 2010, Rosa *et al.*, retomam os estudos da morfologia da genitália externa das fêmeas utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos três gêneros de importância médica (*Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*), onde verificaram que os caracteres observados, tanto na vista dorsal quanto na ventral, apresentam diferenças que são elucidativas para separar as espécies. Rosa *et al.*, (2010) e Teves-Neves (2012) aplicaram a MEV, como ferramenta eficiente na diferenciação em nível de espécie confirmando a riqueza de detalhes que esta técnica apresenta.

Pelo fato de *T. sordida* apresentar ampla distribuição geográfica, buscou-se verificar quais caracteres apresentariam variações dentre as populações utilizando esta técnica (MEV). Deste modo, verificou-se que as variações dos caracteres observadas dorsalmente foram menos consistentes para estruturação das populações por ecorregiões do que aquelas observadas em vista ventral, onde as populações puderam ser estruturadas em cinco clados por ecorregião.

Assim, no presente estudo a análise por MEV das estruturas da genitália das fêmeas foram mais elucidativas do que as do machos por MO na estruturação das populações por ecorregiões.

5.4- MORFOMETRIA GEOMETRICA DAS ESTRUTURAS DAS ASAS

Falconer (1981) propunha que o caráter métrico seria o primeiro a mudar ao decorrer da evolução, expressando-se rapidamente em resposta aos fatores ecológicos locais entre as populações que passam por separações. Dujardin *et al.* (1997a; 1999), complementam que a capacidade de desenvolver respostas rápidas nas mudanças morfológicas no processo de adaptação à novos habitats expressam caracteres mais sensíveis que um caráter molecular como a variação protéica. Corroborando este comentário, Monteiro *et al.* (2009) não observaram diferenças genéticas ao utilizar isoenzimas como marcador molecular para analisar populações de *T. sordida* provenientes de zonas de transição entre cerrado, caatinga e áreas de floresta no norte do Estado de Minas Gerais.

Desta forma, nos estudos de entomologia médica, a utilização da morfometria geométrica vem se tornando cada vez mais importante, não somente pelo baixo custo apresentado para seu desenvolvimento, mas por possibilitar a observação de mudanças de conformação não detectáveis por outras metodologias (Dujardin *et al.*, 2008). Esta técnica tem permitido dirimir dúvidas quanto ao *status* taxonômicos em Triatominae (Matias *et al.*, 2001; Villegas *et al.*, 2002; Gumiel *et al.*, 2003; Gurgel-Gonçalves, 2010; Carbajal de la Fuente, 2007; Carbajal de la Fuente *et al.*, 2011 e Marquez *et al.*, 2011) e também avaliar a tendência de separação das populações de triatomíneos dentro de suas zonas de distribuição geográfica (Gumiel, 2008).

Lopes *et al.*, (2008) analisando exemplares de *T. sordida* procedentes de três estados Tocantins, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, observaram que as análises morfométricas classificaram satisfatoriamente as variações apresentadas no tamanho das asas e na conformação. A população procedente de Minas Gerais apresentaram significativas diferenças tanto no tamanho das asas como na conformação, não observando dimorfismo sexual entre as populações.

Vianna (2011), em seus estudos avaliou populações de *T. sordida* provenientes de seis localidades do município de Mato Verde, norte de Minas Gerais e não detectou a presença de dimorfismo entre machos e fêmeas das populações analisadas.

Diferente dos resultados obtidos por Lopes *et al.*, (2008) e Vianna (2011), no presente estudo, a análise do tamanho das asas das populações de *T. sordida* permitiu observar que das 10 populações analisadas pelo teste não paramétrico de Wilcoxon, seis apresentaram diferenças significativas, entre fêmeas e machos, confirmando a existência do dimorfismo sexual. Neste caso as populações de fêmeas procedentes de Bocaiúva/MG e Aparecida do Taboado/MS apresentaram os maiores tamanhos de asas.

Esta plasticidade fenotípica relacionada ao tamanho das estruturas das asas, chama atenção quando se observa os resultados apresentados por Obara *et al.* (2011) onde foram registrados níveis de resistência incipiente a deltametrina em populações de *T. sordida* oriundas de Bocaiúva/MG e nas populações procedentes de Aparecida do Taboado a probabilidade de evolução de resistência.

As variáveis de conformação das asas das populações apresentaram valores significativos que permitiram a segregação das populações por ecorregiões. Gurgel-Gonçalves *et al.*, (2011) também observou uma possível discriminação geográfica nas populações de *T. sordida* por eles analisadas.

Segundo Dujardin *et al.*, (2009), ambientes extremos podem desestabilizar a expressão do fenótipo em triatomíneos levando-os a expressar essa variação na morfologia. Entretanto as variações observadas nas populações foram na conformação, portanto de nível genético.

5.5- ANÁLISE HIDROCARBONETOS CUTICULARES

Hidrocarbonetos cuticulares apresentam composição espécie- específica e seu fenótipo de ausência, presença e/ou relativa abundância de componentes refletem variações genéticas de biosíntese de enzimas (Juarez *et al.*, 1985; Juarez *et al.*, 1993; Calderón-Fernandez *et al.*, 2005). Em triatomíneos, o perfil do padrão de hidrocarbonetos cuticulares contribuiu para diferenciar os três principais gêneros, *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* (Juárez *et al.*, 2000) e tem sido usado como caracter quimiotaxonômico para analisar a variação intra-específica em *T. dimidiata* e *T. infestans*, dois vetores de importância primária

na transmissão do agente etiológico da doença de Chagas (Calderón-Fernandez *et al*, 2011).

Várias evidências sugerem que o perfil dos hidrocarbonetos cuticulares de triatomíneos não são influenciados por fatores ambientais, nem por alimento, sendo eles determinados geneticamente (Juárez & Calderón-Fernandez, 2007; Calderón-Fernandez *et al.*, 2011). Desta maneira, a utilização dos hidrocarbonetos para inferir sobre as complexas interações que ocorrem entre fenótipo, genótipo no ambiente pode fornecer excelentes resultados.

Segundo Etges & Jackson (2001), a diferenciação de hidrocarbonetos pode evoluir no início de especiação e a observação de consistentes diferenças na distribuição geográfica para as espécies de *Drosophila mojavensis*, levou estes autores à sugerirem que o fenótipo de hidrocarbonetos pode diferenciar espécies antes de divergência adaptativa.

As análises realizadas por MEV, morfometria geométrica e hidrocarbonetos cuticulares evidenciam que as populações de *T. sordida* procedentes da ecorregião do Gran Chaco apresentam-se estruturadas, sendo que a conformação e o perfil de hidrocarbonetos contribuíram de forma determinante para esta associação. Entretanto, como se observa nas populações procedentes do Cerrado, um discreto solapamento dos perfis analisados, acredita-se que haja um intenso fluxo gênico entre as populações que pode ser fomentado pela existência de rotas de aves migratórias que sobrepõem as zonas de distribuição de *T. sordida*. Desta forma, para se verificar se nas ecorregiões estudadas está havendo o efeito da divergência adaptativa nas populações influenciado pela variações da conformação, do perfil dos hidrocarbonetos cuticulares e das estruturas da genitália externa das fêmeas se faz necessário a comparação com outras técnicas.



6- CONCLUSÕES

- O estudo da morfologia por Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura, demonstrou que as populações analisadas seguem o mesmo padrão morfológico, com discretas diferenças, comprovando a característica panmítica da espécie.

- A microscopia ótica (MO) da genitália dos machos evidenciou variações nas estruturas do Falosoma, do Suporte do Endossoma e do Processo do Endossoma. Entretanto, tais parâmetros não oferecem aporte para que se possa promover uma estruturação das espécies pelas diferentes ecorregiões.

- A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da genitália das fêmeas, pela maior riqueza de detalhes, sugere variações que possibilitaram a estruturação das populações de *T. sordida* pelas diferentes ecorregiões, sendo esta mais evidente na população procedente do Gran Chaco.

- A Morfometria Geométrica (MG) das asas de *T. sordida* evidenciou variações significativas, relacionadas ao tamanho e a conformação, porém a conformação da asa possibilitou a segregação das populações nas três ecorregiões.

- Os perfis de hidrocarbonetos cuticulares permitiram a segregação das populações em três grupos: um bem definidos contituido pelas populações do Gran-Chaco, e dois outros onde se observa a permeação de populações procedentes de Cerrado seco e Cerrado úmido.

- Os resultados obtidos sustentam que as feições fitogeográficas influenciam na variação fenotípica e genética das populações de *T. sordida* e que a zona de dispersão desta espécie é a partir de áreas do Cerrado úmido.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ÁVILA-PIRES, F.D. *Princípios de Ecologia Médica*. Florianópolis: UFSC, 2000. 328p.
- AZEVEDO, L.R. *Desenvolvimento de um ensaio molecular de PCR multiplex para a avaliação de infecção natural de Triatomíneos por Trypanosoma cruzi*. 2011. 38p. Monografia (Bacharel em Biomedicina) - Universidade Federal do Estado Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- BAHRNDORFF, S.; HOLMSTRUP, M.; PETERSEN, H.; LOESCHCKE, V. Geographic variation for climatic stress resistance traits in the springtail *Orchesella cincta*. *Journal of Insect Physiology*, v. 52, p. 951-959, 2006.
- BAR, M.E.; OSCHEROV, E.B.; DAMBORSKY, M.P. Presencia de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) en ecótopos urbanos de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Revista de Saúde Pública*, v. 27, n. 2, p.117-122, 1993.
- BAR, M.E.; OSCHEROV, E.B.; AVALOS, G.; DAMBORSKY, M.P.; ALVAREZ, B.M. Infección natural de *Triatoma sordida* por *Trypanosoma cruzi* em ecótopos silvestres de la Provincia de Corrientes, Argentina. In: *5ª Jornada de Biología*, 1996. *Resúmenes, Asunción: Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción*, 1996. p 32.
- BAR, M.E.; DAMBORSKY, M.P.; ALVAREZ, B.M.; OSCHEROV, E.B.; MAZZA, S.M. Triatomíneos silvestres detectados en nidos de aves de algunos departamentos de la Provincia de Corrientes, Argentina. *Revista da Sociedade Entomológica Argentina*, v. 58, n. 3-4, p. 43-50, 1999.
- BAR, M.E.; WISNIVESKY-COLLI, C. *Triatoma sordida* (Stål 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in palms of northeastern Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 7, p. 895-899, 2001.
- BARRETTO, M.P. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestre do *Trypanosoma cruzi*. XLV: Inquérito Preliminar sobre Triatomíneos silvestres no sul do Estado de Mato Grosso, Brasil (Hemiptera: Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 31, n. 2, p. 225-233, 1971.

- BARRETTO, M.P. Possible role of wild mammals and triatomines in the transmission of *Trypanosoma cruzi* to man. In: *New approaches in American Trypanosomiasis Research*, Scientific Publication no 318, Pan-American Health Organization, Washington; p.307-316, 1976.
- BERN, C.; MONTGOMERY, S.P. An Estimate of the Burden of Chagas Disease in the United States. *Clinical Infectious Disease*, v. 49, 2009.
- BOOKSTEIN, F.L. Introduction to methods for landmark data. In: ROHLF, F.J., BOOKSTEIN, F.L. (Eds). *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. The University of Michigan (Museum of Zoology), Special Publication 2, Ann Arbor, Michigan Press; 1990, p. 215-225.
- BORGES, E.C.; DUJARDIN, J.P.; SCHOFIELD, C.J.; ROMANHA, A.J.; DIOTAIUTI, L. Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará State, Northeastern Brazil. *Acta Tropica*, v. 93, n.1, p.119-26, 2005.
- BRITTO, C.; CARDOSO, M.A.; WINCKER, P.; MOREL, M. A simple protocol for physical cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood samples and its use in polymerase chain reaction (PCR) – Based diagnosis of chronic Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 1, p.171-172, 1993.
- CALDERÓN-FERNANDEZ, G.M.; JUAREZ, M.P.; MONROY, M.C.; MENES, M.; BUSTAMANTE, D.M.; MIJAILOVSKY, S. Intraespecific variability in *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Guatemala base on chemical and morphometric analyses. *Journal of Medical Entomology*, v. 42, n.1, p.29-35, 2004.
- CALDERÓN-FERNANDEZ, G.; JUAREZ, M.P.; RAMSEY, J.; SALAZAR SCHETTINO, P.M.; MONROY, M.C.; ORDOÑEZ, R.; CABRERA, M. Cuticular hydrocarbon variability among *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Mexico and Guatemala. *Journal of Medical Entomology*, v. 42, n. 5, p.780-788, 2005.
- CALDERÓN-FERNANDEZ, G.M.; GIROTTI, J.R.; JUÁREZ, M.P. Cuticular Hydrocarbons of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae): Intraspecific Variation and Chemotaxonomy. *Journal of Medical Entomology*, v. 48, n. 2, p. 262-271, 2011.
- CARBAJAL DE LA FUENTE, A.L. *Eco-genética comparativa das espécies afins Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 e *Triatoma wygodzinskyi* Lent, 1951

(Hemiptera: Triatominae). 2007. 188 f. Tese (Doutorado em Ciências em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2007.

- CARBAJAL DE LA FUENTE, A.L.; JARAMILLO, N.; BARATA, J.M.; NOIREAU, F.; DIOTAIUTI, L. Misidentification of two brazilian triatomines, *Triatoma arthuneivai* and *Triatoma wygodzinskyi*, revealed by geometric morphometrics. *Medical and Veterinary Entomology*, v.25, n. 2, p.178-183, 2011.
- CARCAVALLO, R.U.; CANALE, D.; MARTINEZ, A. Habitats de Triatomíneos argentinos y zonas ecológicas donde prevalecen. *Chagas*, Buenos Aires, v. 5, p. 8-17, 1988.
- CARCAVALLO, R.U.; CURTO DE CASAS, S.I.; SHERLOCK, I.A.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; MENA SEGURA, C.A. 1999. Geographical distribution and altitudinal dispersion. Distribuição geográfica e dispersão altitudinal. In: CARCAVALLO, R.U.; GALÍNDEZ-GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. (Orgs) *Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas/Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas*. Editora Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 3, p. 747-752.
- CARCAVALLO, R.U.; JURBERG, J.; LENT, H.; NOIREAU, F.; GALVÃO, C. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. *Entomologia y Vectores*, v. 7, supl.1, p. 1-99, 2000.
- CARCAVALLO, R.U.; JURBERG, J.; LENT, H.; GALVÃO, C.; STEINDEL, M.; PINTO, C.J.C. Nova espécie do Complexo *oliverai* (Nova denominação para o Complexo *matogrossensis*) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n.1, p. 71-79, 2001.
- CASTRO, A.A.J.F. Comparação florística de espécies do cerrado. *Silvicultura*, São Paulo, v.15, n. 58, p. 16-18, 1994.
- CEBALLOS, L.A.; CARDINAL, M.V.; VAZQUEZ-PROKOPEC, G.M.; LAURICELLA, M.A. OROZCO, M.M.; CORTINAS, R.; SCHIJMAN, A.G.; LEVIN, M.J.; KITRON, U.; GÜRTLER, R.E. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. *Acta Tropica*, v. 98, n. 3, p. 286-296, 2006.
- CORRÊA, R.R.; FERREIRA, A.O. Distribuição geográfica, habitats e infecção de *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae) no Estado de São Pulo. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 207-213, 1959.

- COSTA, J. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): Estudos morfológicos, Biológicos e isoenzimáticos sobre diferentes padrões cromáticos. 1997. 97p. Tese (Doutorado em Ciências em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro. 1997.
- COSTA, J.; PETERSON, A.T.; BEARD, C.B. Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, the most important vector in northeastern Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 67, p. 516-520. 2002.
- COURA, J.R. Tripanosomose, Doença de Chagas. *Ciência e Cultura*, v. 55, p. 30-33, 2003.
- DAMBORSKY, M.P.; BAR, M.E.; OSCHEROV, E.B. Detección de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domésticos y extradomésticos. Corrientes, Argentina. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 4, p. 843-849, 2001.
- DIAS, J.C.P. Controle de vetores da doença de Chagas no Brasil e risco de reinvasão domiciliar por vetores secundários. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.83, supl 1, p. 387-391, 1988.
- DIAS, J.C.P. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, supl 1: S13-S22. 2007.
- DIAS, J.P.; BASTOS, C.; ARAÚJO, E.; MASCARENHAS, A.; NETTO, E.M.; GRASSI, F.; SILVA, M.; TATTO, E.; MENDONÇA, J.; ARAÚJO, R.F.; SHIKANAI-YASUDA, M.A.; ARAS, R. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 41, n.3, p. 296-300, 2008.
- DIOTAIUTI, L.; LOIOLA, C.F.; FALCÃO, P.L.; DIAS, J.C.P. The ecology of *Triatoma sordida* in natural environments in two different regions of the state of Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v.35, n.3, p. 237-245, 1993.
- DIOTAIUTI, L.; PEREIRA, A.S.; LOIOLA, C.F.; FERNANDES, A.J.; SCHOFIELD, C.J.; DUJARDIN, J.P.; DIAS, J.C.P.; CHIARI, E.A. A colonização intradomiciliar por triatomíneos altera a história natural do *Trypanosoma cruzi*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 27, supl. II, p. 105-107, 1994.
- DIOTAIUTI, L.; RIBEIRO DE PAULA, O.; FALCÃO, P.L.; DIAS, J.C.P. Avaliação do programa de controle vetorial da doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil, com

referência especial ao *Triatoma sordida*. *Boletim de La Oficina Sanitaria Panamericana*, v.118, p. 211-219, 1995.

DIOTAIUTI, L.; AZEREDO, B.V.M.; BUSEK, S.C.U.; FERNANDES, A.J. Controle do *Triatoma sordida* no peridomicílio rural do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil. *Pan American Health Organization*, v. 3, p. 21-24, 1998.

DIOTAIUTI, L.; FARIA FILHO, O.; CARNEIRO, F.C.F.; DIAS, J.C.P.; PIRES, H.H.R.; SCHOFIELD, C.J. Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis*. *Cadernos de Saúde Pública*, v.16, p. 7-14, 2000.

DIOTAIUTI, L. Triatomíneos. In: TEIXEIRA, A. (Org.). *Doença de Chagas e evolução*. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2007, p. 205-231. 2007.

DIOTAIUTI, L.; BEZERRA, C.M.; FERRAZ, M.L.; GOMES, A. Transmissão do *Trypanosoma cruzi* por espécies secundárias In: *25ª Reunião Annual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas/ 13ª Reunião Annual de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses*, v. 42,n. 2., 2009, Uberaba. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, p. 81-82.

DRUMOND, J.A.G.; MARCOPITO, L.F. Migração interna e a distribuição da mortalidade por doença de Chagas, Brasil, 1981/1998. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.22, n.10, p. 2131-2140, 2006.

DUJARDIN, J.P.; BERMUDEZ, H.; CASINI, C.; SCHOFIELD, C.J. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, p. 544-551, 1997a.

DUJARDIN, J.P.; BERMÚDEZ, H.; SCHOFIELD, C.J. The use of morphometrics in entomological surveillance of silvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica*, v. 66, p.145-153, 1997b.

DUJARDIN, J.P.; FORGUES, G.; TORRES, M.; MARTINEZ, E.; CÓRDOBA, C.; GIANELLA, A. Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolívia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.92, p. 219-228, 1998.

DUJARDIN, J.P.; STEINDEL, M.; CHAVEZ, T.; MACHANE, M.; SCHOFIELD, C.J. Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 94, n.4, p. 565-569, 1999.

DUJARDIN, J.P. Morphometrics applied to medical entomology. *Infection, genetics and evolution*, v. 8, p. 875-890, 2008.

- DUJARDIN, J.P.; COSTA, J.; BUSTAMANTE, D.; JARAMILLO, N.; CATALÁ, S. Deciphering morphology in Triatominae: the evolutionary signals. *Acta Tropica*, v. 110, n. 2-3, p.101-11, 2009.
- DUJARDIN, J.P. MOG. Versão 92, abr 2010. Institut de Recherches pour Le Developpement (IRD, France). Disponível em <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>. Acesso em: 2010.
- DUJARDIN, J.P.; KABA, D.; HENRY, A.B. The exchangeability of shape. *BMC Research Notes*, v. 3, p 266, 2010b.
- DUJARDIN, J.P. COO. Versão 41, jul 2011. Institut de Recherches pour Le Developpement (IRD, France). Disponível em <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics>. Acesso em: 2011
- ETGES, W,J,; JACKSON, L.L. Epicuticular hydrocarbon variation in *Drosophila mojavensis* cluster species. *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, p.2125-2149, 2001.
- EVA, H.D.; DE MIRANDA, E.E.; DI BELLA, C.M.; GOND, V.; HUBER, O.; SGRENZAROLI, M.; JONES, S.; COUTINHO, A.; DORADO, A.; GUIMARÃES, M.; ELVIDGE, C.; ACHARD, F.; BELWARD, A.S.; BARTHOLOMÉ, E.; BARALDI, A.; DE GRANDI, G.; VOGT, P.; FRITZ, S.; HARTLEY, A. *A vegetation map of south America*. EUR 20159 EN, European Commission, Luxembourg, 2002.
- FALCONER, D.S. *Introduction to quantitative genetics*. Longman, London and New-York, 1981. 300p.
- FORATTINI, O.P.; FERREIRA, O.A.; ROCHA E SILVA, E.O.; RABELLO, E.X.; SANTOS, J.L.F. 1971. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana: II - Distribuição e dispersão local de triatomíneos em ecótopos naturais e artificiais. *Revista de Saúde Pública*, v. 5, n. 2, p. 163-191, 1971.
- FORATTINI, O.P.; FERREIRA, O.A.; SOUZA, J.M.P.; RABELLO, E.X.; ROCHA E SILVA, E.O.; RODRIGUES, F.W. Medida da infestação domiciliar por *Triatoma sordida*. *Revista de Saúde Pública*, v. 7, p. 241-250, 1973.
- FORATTINI, O.P.; FERREIRA, O.A.; ROCHA E SILVA, E.O. DA; RABELLO, E.X. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. XIV. Persistência e potencial de domiciliação de populações triatomínicas silvestres em região de intensa atividade agropecuária. *Revista de Saúde Pública*, v. 13, p. 123-146, 1979.
- FORATTINI, O.P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 16, p. 265–299, 1980.

- GALVÃO, C.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R.U.; SEGURA, C.A.M.; GIRÓN, I.G.; CASAS, S.I.C. Distribuição Geográfica e Dispersão Alti-latitudeal de Alguns Gêneros e Espécies da Tribo Triatomini Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93, n.1, p. 33-37, 1998.
- GASPE, M.S.; SCHACHTER-BROIDE, J., GUREVITZ, J.M.; KITRON, U., GÜRTLER, R.E.; DUJARDIN, J.P. Microgeographic spatial structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations using wing geometric morphometry in the Argentine Chaco. *Journal of Medical Entomology*, v. 49, n. 3, p. 504-514, 2012.
- GORLA, D.E.; JURBERG, J.; CATALÁ, S.S.; SCHOFIELD, C.J. Systematics of *Triatoma guasayana* and *T. patagonica* (Hemiptera, Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 3, p. 379-385, 1993.
- GOURBIÈRE, S.; DORN, P.; TRIPET, F.; DUMONTEIL, E. Genetics and evolution of triatominae: from phylogeny to vector control. *Heredity*, v. 108, p.190-202, 2012.
- GUARNERI, A.P.; PEREIRA, M.H.; DIOTAIUTI, L. Influence of the Blood Meal Source on the Development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera, Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 37, n. 3, p. 373-379, 2000.
- GUMIEL, M.; CATALÁ, S.; NOIREAU, F.; ROJAS DE ARIAS, A.; GARCÍA, A.; DUJARDIN, J.P. Wing geometry in *Triatoma infestans* (Klug) and *T. melanosoma* Martínez, Olmedo & Carcavallo (Hemiptera: Reduviidae). *Systematic Entomology*, v. 28, p. 173-179, 2003.
- GUMIEL, M.. *Estudos morfométricos de Triatoma vitticeps (Stål, 1859) Coletados nos intradomicílio nos estados do Espírito Santo e do Rio de Janeiro*. 2008. P.36. Monografia (Especialização em Entomologia Médica do Instituto Oswaldo Cruz), FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2008.
- GURGEL-GONÇALVES, R.; PEREIRA, F.C.A; LIMA, I.P.; CALVALCANTE, R.R. Distribuição geográfica, infestação domiciliar e infecção natural de triatomíneos (Hemiptera:Reduviidae) no Estado do Piauí, Brasil, 2008. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 1, n. 4, p. 57-64, 2010.
- GURGEL-GONÇALVES, R.; FERREIRA, J.B.C.; ROSA, A.F.; BAR, M.E.; GALVÃO, C. Geometric morphometrics and ecological niche modelling for delimitation of near-sibling triatominae species. *Medical Veterinary Entomology*, v. 25, p. 84-93, 2011

- GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C.; COSTA, J.; PETERSON, A.T. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *Journal of Tropical Medicine*, v. 2012, p. 1-15, 2012.
- HARRIS, M.B.; ARCÂNGELO, C.; PINTO, E.C.T; CAMARGO, G.; RAMOS NETO, M.B. SILVA, S.M. Estimativa da perda de cobertura vegetal original na Bacia do Alto Paraguai e Pantanal brasileiro: ameaças e perspectivas. *Natureza & Conservação*, v. 4, n. 2, p. 50-66, 2006.
- HEWITT, G.M. Quaternary phylogeography: The roots of hybrid zones. *Genetica*, v. 139, p. 617-638, 2011.
- IBARRA-CARDEÑA, C.N.; SÁNCHEZ-CORDERO, V.; PETERSON, A.T.; RAMSEY, J.M. Ecology of North American Triatomine. *Acta Tropica*, v.110, p. 178-186, 2009.
- JARAMILLO, N.; CASTILLO. D.; WOLFF, M.E. Geometric morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 5, p.667-673, 2002.
- JARAMILLO, N. La variabilidad morfológica y la morfometría geométrica. In: *Morfología y Morfometría Aplicadas a la Taxonomía de los vectores de la Enfermedad de Chagas* (Vallejo & Carranza ed). Curso Taller internacional. Universidad de Tolima. Ibagué, Colombia, 2004.135 p.
- JUÁREZ, M.P.; BRENNER, R.R. The epicuticular lipids of *Triatoma infestans*, II. Hydrocarbon dynamics. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 82 B, p. 793–803, 1985.
- JUAREZ, M.P.; BRENNER, R.R. Biochemistry of the evolution cycle of *Triatoma infestans* IX. Cuticular hydrocarbon composition compared to other triatomíneos. *Acta Physiologica Latinoamericana*, v. 36, p. 1986 47-53.
- JUÁREZ, M.P.; BLOMQUIST, G.J. Cuticular hydrocarbons of *Triatoma infestans* and *Triatoma mazzottii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.106 B, p. 667-674, 1993.
- JUAREZ, M.P.; FERNANDEZ, R.; SCHOFIELD, C.J.; DUJARDIN, J.P. Intergeneric comparasion of epicuticular hydrocarbons in triatominae. *Revista de Parasitología*, v. 60, p. 121-127, 2000.

- JUAREZ, M.P.; CARLSON, D.A., SALAZAR-SCHETTINO, P.M.; MIJAILOVSKY, S.; ROJAS, G. Cuticular hydrocarbons of Chagas disease vectors in Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n.6, p. 819-827, 2002.
- JUÁREZ, M.P.; CALDERÓN-FERNANDEZ, G. Cuticular hydrocarbons of triatomines. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 147, p. 711-730, 2007. doi:10.1016/j.cbpa.2006.08.031.
- JURBERG, J. 1995. Uma abordagem filogenética entre os Triatomíneos baseada nas estruturas fálicas (Hemiptera, Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 90, (supl. 1), p. 59, 1995.
- JURBERG, J.; GALVÃO, C.; LENT, H.; MONTEIRO, F.A.; LOPES, C.M.; PANZERA, F.; PEREZ, R. Revalidação de *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Martinez, Cichero, Prosen & Ronderos, 1967 (Hemiptera: Reduviidae). *Entomologia y Vectores*, v. 5, p. 107–122, 1998.
- KOVATS, E. Gás chromatographic comparison of organic substances in the retentions index system. *Advances in Chromatography*, v. 1, p. 229-247, 1965.
- LEDRU, M.P. Late Quaternary History and Evolution of the Cerrados as Revealed by Palynological Records. In: OLIVEIRA, P.S.; MARQUIS, R. J. The Cerrados of Brazil Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna, 2002. P.
- LEHMANN, P.; ORDOÑEZ, R.; OJEDA-BARANDA, R; DE LIRA, J.M.; HIDALGO-SOSA, L.; MONROY, C.; RAMSEY, J.M. Morphometric analysis of *Triatoma dimidiata* populations (Reduviidae: Triatominae) from Mexico and Northern Guatemala. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 5, p. 477-482, 2005.
- LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 163, n. 3, p. 123-520, 1979.
- LENT, H.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. *Rhodnius stali* n. sp. afim de *Rhodnius pictipes* Stål, 1872 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, p. 605-614, 1993.
- LOPES, C.M.; *Estudo do “complexo Triatoma sordida” (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) através de marcadores genéticos, morfometria e morfologia*. 2001. 71 f. Tese (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Rio de Janeiro. 2001.

- LOPES, C.M.; NOIREAU, F.; SANTOS-MALLET, J.R. Morfometria geométrica aplicada ao estudo das populações brasileiras de *Triatoma sordida* (Stål,1859) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). III Fórum de Pós-Graduação da UFRRJ. 2008.
- LOZA-MURGUIA, M.; NOIREAU, F. Vectorial capacity of *Triatoma guasayana* (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) compared with two other species of epidemic importance. *Neotropical Entomology*, v. 39, n. 5, p. 799-809, 2010.
- LUCENA, D.T. Ecologia dos triatomíneos do Brasil. *Revista Brasileira de Malariologia*, v. 11, n.4, p. 577-635, 1959.
- MACHADO, R.B.; AGUIAR, L.M.S.; CASTRO, A.A.J.F.; NOGUEIRA, C.C.; NETO, M.B.R. Caracterização da fauna e flora do cerrado. In: *Faleiro FG, Farias Neto AL. Savanas: Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Planaltina, Brasília: Embrapa Cerrados*, 2008. p. 285-300.
- MÁRQUEZ, E.; JARAMILLO, N.; GÓMEZ-PALACIO, A.; DUJARDIN, J.P. Morphometric and molecular differentiation of a *Rhodnius robustus*-like form from *R. robustus* Larousse, 1927 and *R. prolixus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). *Acta Tropica* doi: 10.1016/j.actatropica. 2011.06.009.
- MATIAS, A., DE LA RIVA, J.X.; TORREZ, M.; DUJARDIN, J.P. *Rhodnius robustus* in Bolivia identified by its wings. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n.7, p. 947-950, 2001.
- MEGLITSCH, P.A. "On the nature of the species". *Systematic Zoology*, v. 3, p. 49-55, 1954.
- MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N.; MITTERMEIER, C. G. *Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions*. Mexico: CEMEX and Conservation International. 1999.
- MONTEIRO, F.A.; JURBERG, J.; LAZOSKI, C. Very Low Levels of Genetic Variation in Natural Peridomestic Populations of the Chagas Disease Vector *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) in Southeastern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 81, n. 2, p. 223-227, 2009.
- MORRONE, J.J. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology*, v. 51, p.467-494, 2006.
- NOIREAU, F.; BOSSENO, M.F.; CARRASCO, R.; TELLERIA, J.; VARGAS, F.; CAMACHO, C.; YAKSIC, N.; BRENIÈRE, S.F. Sylvatic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia.

Trends towards domesticity and possible infection with *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 32, p. 594-598, 1995.

NOIREAU, F.; BRENIÈRE, S.F.; CARDOZO, L.; BOSSENO, M.F.; VARGAS, F.; PEREDO, C.; MEDINACELLI, M. Current spread of *Triatoma infestans* at the expense of *Triatoma sordida* in Bolivia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p. 271-272, 1996.

NOIREAU, F.; BRENIÈRE, S.F.; ORDEÑEZ, J.; CARDOZO, L.; MOROCHI, W.; GUTIERREZ, T.; BOSSENO, M.F.; GARCIA, S.; VARGAS, F.; YAKSIC, N.; DUJARDIN, J.P.; PEREDO, C.; WISNIVESKY-COLLI, C. Low probability of transmission of *Trypanosoma cruzi* to man by domestic *Triatoma sordida* in Santa Cruz Department, Bolivia. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 9, p. 653-656, 1997.

NOIREAU, F.; GUTIERREZ, T.; ZEGARRA, M.; FLORES, R.; BRENIÈRE, S.F.; CARDOZO, L.; DUJARDIN, J.P. Cryptic speciation in *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) from the Bolivian Chaco. *Tropical medicine & international health*, v. 3, p. 364-372, 1998.

NOIREAU, F.; FLORES, R.; VARGAS, F. Trapping sylvatic Triatominae (Reduviidae) in hollow trees. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 93, p.13-14, 1999.

OBARA, M.T.; OTRERA, V.C.G.; GONÇALVES, R.G.; SANTOS, J.P.; SANTALUCIA, M.; ROSA, J.A.; ALMEIDA, P.S.; BARATA, J.M.S. Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Triatoma sordida* (Stål, 1859) (Hemiptera: Reduviidae) ao inseticida deltametrina, na região Centro-Oeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 2, p. 206-212, 2011.

OLIVEIRA, A.W.S.; SILVA, I.G. Distribuição geográfica e indicadores entomológicos de triatomíneos sinantrópicos capturados no Estado de Goiás. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.40, n.2, p. 204-208, 2007.

PELLI, A.; SILVA, M.A.; SARMENTO, F.R.; MARTINS, E.; MATA, S.A.; DOMINGUES, M.A.; RAMIREZ, L.E. Parâmetros populacionais para *Triatoma sordida* (Stål, 1859), o vetor mais frequente da doença de Chagas no Triângulo Mineiro (Heteroptera, Triatominae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 1, p. 25-28, 2007.

- PEREIRA, J.; DUJARDIN, J.P.; SALVATELLA, R.; TIBAYRENC, M. Enzymatic variability and phylogenic relatedness among *Triatoma infestans*, *T. platensis*, *T. delpontei* and *T. rubrovaria*. *Heredity*, v. 77, p. 47-54, 1996.
- PETERSON, A.T.; SÁNCHEZ-CORDERO, V.; BEARD, C.B.; RAMSEY, J.M. Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas disease, México. *Emerging infectious diseases*, v.8, p. 662-667, 2002.
- PETERSON, A.T. Ecologic niche modeling and spatial patterns of disease transmission. *Emerging infectious diseases*, v. 12, n. 12, p. 1822-1826, 2006.
- PIRES, H.H.; BARBOSA, S.; MARGONARI, C.; JURBERG, J.; DIOTAIUTI, L. 1998. Variations of the external male genitalia in three populations of *Triatoma infestans* (Klug, 1834). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93, n. 4, p. 479-483, 1998.
- PRADO, D.E.; GIBBS, P.E. *Patterns of species distribution in the dry seasonal forests of South America*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 80, n. 4, p. 902-927, 1993.
- RASSI, A.JR.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J.A. Chagas disease. *Lancet*. v 375, p. 1388-1402, 2010.
- RODRIGUERO, M.; GORLA, D.E. Latitudinal gradient of species richness in the New World Triatominae (Reduviidae). *Global Ecology and Biogeography* (F102: 1.7), v.13, n.1, p. 75-84, 2004.
- ROJAS DE ARIAS, A.; GUILLEN, I.; INCHAUSTI, A.; SAMUDIO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Prevalence of Chagas disease in Ayoreo communities of the Paraguayan Chaco. *Tropical Medicine and Parasitology*, v. 44, p. 285-288, 1993.
- ROSA, J.A.; MENDONÇA, V.J.; ROCHA, C.S.; GARDIM, S.; CILENSE, M. Characterization of the external female genitalia of six species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) by scanning electron microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.105, n. 3, p. 286-292, 2010.
- SCHACHTER-BROIDE, J.; DUJARDIN, J.P.; KITRON, U.; GÜRTLER, R.E. Spatial structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) populations from northwestern Argentina using wing geometric morphometry. *Journal of Medical Entomology*, v. 41, n.4, p. 643-649, 2005.
- SCHACHTER-BROIDE, J., GÜRTLER, R.E.; KITRON, U.; DUJARDIN, J.P. Temporal variations of wing size and shape of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae)

- populations from northwestern Argentina using geometric morphometry. *Journal of Medical Entomology*, v. 46, n. 5, p. 994-1000, 2009.
- SCHMUNIS, G.A.; YADON, Z.E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Tropica*, v. 115, n. 1, p. 14–21, 2010.
- SCHOFIELD, C.J.. *Triatominae: Biology and Control*. Eurocommunica Publications Ed., West Sussex, U.K., 1994. p. 80.
- SILVA, M.L. A Dinâmica de expansão e retração de cerrados e catingas no período quaternário: Uma análise segundo a perspectiva da Teoria de Refúgios e Redutos Florestais. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 1, p. 57-73, 2011.
- SILVA, R.A.; SCANDAR, S.A.S.; PAULIQUÉVIS-JÚNIOR, C.; SAMPAIO, S.M.P.; RODRIGUES, V.L.C.C. Ampliação de raio de pesquisa de triatomíneos na atividade de atendimento às notificações em áreas de *Triatoma sordida* (Stål, 1859). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n. 4, p.339-343, 2005.
- SILVEIRA, A.C. Situação do controle da transmissão vetorial da Doença de Chagas nas Américas. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 16, (Supl. 2), p. 35-42, 2000.
- TARTAROTTI, E.; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V.; CERON, C.R. Problemática vetorial da Doença de Chagas Vectorial problematic of the Chagas disease. *Arquivos de Ciência e Saúde*, v. 11, n.1, p.44-47, 2004.
- TEVES-NEVES, S.C. *Análise morfológicas, morfométricas e moleculares revelam uma nova espécie do gênero Triatoma do Estado do Tocantins, Brasil*. 2012. 79 f. Tese (Mestrado em Ciências em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, 2012.
- VIANNA, E.N. *Dinâmica de reinfestações por triatomíneos e alterações ambientais na ecoepidemiologia da doença de Chagas em área de Triatoma sordida (Stål 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) no norte de Minas Gerais, Brasil*. 2011. 280 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. Minas Gerais, 2011.
- VILLEGAS, J.; FELICIANGELI, M.D.; DUJARDIN, J.P. Wing shape divergence between *Rhodnius prolixus* from Cojedes (Venezuela) and *Rhodnius robustus* from Mérida (Venezuela). *Infection Genetic Evolution*, v. 2, p. 121-128, 2002.

VINHAES, M.C.; SILVEIRA, A.C. The possibilities of maintenance of the natural transmission of Chagas endemic disease in Brazil with the elimination of *Triatoma infestans*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34 (suppl 3), p. 61-62, 2001.

WINCKER, P.; BRITTO, C.; PEREIRA, J.; CARDOSO, A., MOREL, M. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* v.51 (6). p. 771-777, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Neglected tropical diseases, hidden successes, emerging opportunities. http://www.who.int/neglected_diseases/en/.2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease (American trypanosomiasis) fact sheet (revised in June 2010) v. 85, n. 34, p 334. <http://www.who.int/wer>, 2010.