RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 11/04/2018.

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia
Laboratório de Parasitologia

TIAGO BELINTANI

Filogenia do subcomplexo *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares

Araraquara
2016

TIAGO BELINTANI

Filogenia do subcomplexo *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, área de concentração: Parasitologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Aristeu da Rosa

Araraquara

2016

Belintani, Tiago

B431f Filogenia do Subcomplexo *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares / Tiago Belintani. – Araraquara, 2016.
xxi + 96 f. : Il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, área de pesquisa em Parasitologia.

Orientador: João Aristeu da Rosa.

1. *Triatoma sórdida* (Subcomplexo). 2. Morfometria molecular. 3. Filogenia. 4. Triatominae. 5. Morfologia. I. Rosa, João Aristeu da, orient. II. Título.

CAPES: 40500005

TIAGO BELINTANI

Filogenia do subcomplexo *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), por meio de estudos morfológicos, morfométricos e moleculares.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, área de concentração: Parasitologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 11 de outubro de 2016.

Banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. João Aristeu da Rosa
Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campus de Araraquara – UNESP/FCFAR

Dr. Cleber Galvão Ferreira
Instituição: Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos da / Fundação Oswaldo Cruz –IOC/Fiocruz.

Prof[a]. Dr[a]. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira
Instituição: Departamento de Biologia do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas do Campus de São José do Rio Preto –IBILCE-UNESP

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP/ Araraquara.

AGRADECIMENTOS

A minha companheira Camila Azevedo pelo amor, compreensão, paciência e por toda colaboração.

Aos meus familiares, Pai, Mãe, meus irmãos, suas companheiras e sobrinhos.

Ao Prof. Dr João Aristeu da Rosa do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP/ Araraquara, pela orientação e pelas inúmeras colaborações que ajudaram para conclusão desse trabalho, bem como para meu crescimento profissional e pessoal.

A Prof[a], Dr[a] Mara Cristina Pinto do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP/ Araraquara, pelas sugestões, amizade e por todo apoio na realização do trabalho.

Ao Prof. Dr Cleber Galvão do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, por todo apoio e pela doação de espécimes que tornaram o trabalho viável.

A Prof. Dr. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Câmpus de São José do Rio Preto-SP, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (IBILCE/UNESP), pelas colaborações com nosso grupo de pesquisa e principalmente pela participação na minha banca de mestrado.

Agradeço *in memorian ao* Prof. Tit. José M.S Barata pela dedicação na manutenção dos ovos que estão hoje depositados na coleção de Triatominae da Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP- Araraquara/SP.

Ao programa de Pós- graduação em Biociências e Biotecnologias Aplicadas à Farmácia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP/ Araraquara, e seus colaboradores por todo auxilío e compreensão.

As técnicas do laboratório Izabel Martinez e Therezinha Apparecida Ricci pelo apoio técnico e pela convivência.

Aos amigos de pesquisa por toda ajuda e pela convivência diária, Aline, Dennys, Vicente, Wanderson, Flavia, Danila, Sueli, Éder, Thais, Mariana, Fabio.

Ao amigo Jader Oliveira pela amizade, colaboração e por toda ajuda, e principalmente pelos momentos de descontração.

Ao amigo Lucas Abrantes da Silva pela amizade, ajuda, inúmeras colaborações e risadas.

A Heloisa Pinotti por toda ajuda, amizade e colaborações.

A Juliana Damieli Nascimento pelas colaborações, apoio e pela amizade.

Aos colaboradores do Laboratório de Processamento Histológico da Faculdade de Odontologia – UNESP/ Araraquara, por todo apoio. Especilmente ao técnico Pedro.

Agradeço ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de mestrado.

A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por todo apoio.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, elas são a abertura para achar as que estão certas.”

Carl Sagan (1934-1996) cientista, astrônomo e divulgador científico.

RESUMO

Triatoma garciabesi, Triatoma guasayana, Triatoma patagonica e Triatoma sordida constituem o subcomplexo *T. sordida*, triatomíneos que podem veicular *Trypanosoma cruzi* e determinar doença de Chagas em humanos. Assim devido a importância epidemiológica foi conduzido este estudo que pode contribuir para o controle vetorial. A filogênese do subcomplexo *T. sordida* foi conduzido por meio de estudos do processo mediano do pigóforo, genitália externa feminina, histologia de ovos, morfometria de ovos e morfometria geométrica de asas. Também se utilizou dos marcadores moleculares CO1, *Cyt b*, 16S e 28S. Os resultados obtidos corroboram as descrições da literatura e fornecem novos parâmetros para a caracterização das quatro espécies do subcomplexo *T. sordida*, bem como das relações filogenéticas da subfamília *Triatominae*. O estudo do processo mediano do pigóforo de *T. garciabesi, T. guasayana e T. sordida* por meio de MEV não mostrou diferenças entre as três espécies. A genitália externa feminina de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica e T. sordida* observadas por MEV, apresentaram diferenças que possibilitam distinguir essas espécies. O estudo morfológico dos ovos por meio de MEV possibilitou descrever as características do exocório das quatro espécies, mas apresentou pouca eficácia para discriminação. O estudo histológico revelou diferenças na constituição tissular dos exocórios das quatro espécies. O estudo morfométrico de ovos mostrou que as variáveis de comprimento e abertura opercular dos ovos apresentam diferenças significativas entre as espécies, a variável largura não foi significativa. Por meio da morfometria das asas foi possível diferenciar as espécies e os valores resultantes do tamanho do centroide mostraram diferenças no tamanho das asas, assim como consistente dimorfismo sexual. As variáveis canônicas resultaram em sete variáveis que explicaram 100% das diferenças. A CV1 e CV2 apresentaram maior poder discriminante, gerando agrupamentos claramente definidos. A variabilidade de forma e tamanho das asas foram observadas pelos valores dos componentes principais. Os valores obtidos da análise discriminante possibilitou construir um fenograma que mostrou as distancias morfométricas entre as espécies. Foram sequenciados os genes CO1, *Cyt b*, 28S e 16S. Por meio de máxima-verossimilhança, foi possível construir filograma de distância genética e os genes estudados apresentaram valores altos de *bootstrap*. A concatenação dos genes CO1, *Cyt b*, 28S e 16S por meio de inferência bayesiana separou as espécies em quatro clados específicos suportados por elevados valores de *bootstrap*. As análises moleculares dos genes por máxima-verossimilhança e combinados na inferência bayesiana mostram que *T. guasayana* e *T. patagonica* divergem das espécies do subcomplexo, as espécies são relativamente próximas a *T. rubrovaria*. *Triatoma sordida* e *T. garciabesi* mantiveram o status de espécies próximas. As populações de *T. sordida*

apresentaram variabilidade, mas com proximidade genética e morfológica. Dadas as dificuldades de identificação específica do subcomplexo *T. sordida*, este trabalho contribuiu para a diagnose específica, bem como para a filogenia dentro da subfamília Triatominae. Conclui-se que os estudos morfológicos, morfométricos e moleculares condunzidos foram úteis para caracterizar as quatro espécies do subcomplexo *T. sordida*, bem como para sugerir um novo posicionamento para *T. guasayana e T. patagonica.*

Palavras-chave: Filogenia, Triatominae, subcomplexo *T. sordida*, morfologia, morfometria, molecular.

ABSTRACT

Triatoma garciabesi, Triatoma guasayana Triatoma patagonica and *Triatoma sordida* are the *subcomplex T. sordida*, triatomine bugs that can serve *Trypanosoma cruzi* and determine Chagas disease in humans. So because of the epidemiological importance was conducted this study may contribute to the control of these vectors. . So because of the epidemiological importance was conducted this study can contribute to the vector control. The phylogeny of the subcomplex *T. sordida* was conducted by the morphology of the median process pygophore, external female genitalia, histology eggs, morphometry eggs and geometric morphometric wings. Molecular markers were also used CO1, *Cyt b*, 16S, 28S, ITS1 and ITS2. The results corroborate the descriptions of literature and provide new parameters for the characterization of the four species of *T. sordida* subcomplex and the phylogenetic relationships of Triatominae. The study of median process of pygophore of *T. garciabesi, T. guasayana a*nd *T. sordida* by means of SEM showed no differences between the three species. The female external genitalia of *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* and *T. sordida* observed by SEM showed differences that make it possible to distinguish these species. The morphological study of eggs by SEM The morphological study of eggs by SEM enabled possible to describe the characteristics of the exochorion of the four species, but was not very effective for discrimination. The Histological study reveals differences in tissue constitution of the four species exochorion. The morphometric study of eggs show that the variables of length and opercular opening eggs feature significant differences between species, the variable width was not significant. By morphometry of the wings was possible to differentiate the species, the resulting values of centroid size, show differences in the size of the wings and consistent sexual dimorphism. Canonical variables resulted in seven variables, what explained 100% of the difference. The CV1 and CV2 showed greater discriminant power, generating clearly defined groupings. The variability in size and shape of the wings were observed for the values of the principal components. The values obtained from discriminant analysis made it possible to build a phenograms showing morphometric distances between species. The values of the discriminant analysis allowed building a phenogram showing the morphometric distances between species. The sequenced genes CO1, *Cyt b*, 16S and 28S. By maximum likelihood, it was possible to build filograma of genetic distance and the genes studied showed high values of bootstrap. The concatenation of CO1 gene, Cyt b, 16S and 28S through Bayesian inference separates species in four specific clades supported by high bootstrap values. The molecular analysis of genes for maximum likelihood and Bayesian inference with combined genes show that *T. guasayana* and *T.patagonica* differ

from subcomplex species; species are relatively close to *T. rubrovaria.* The species *T. sordida* and *T. garciabesi* maintained the status of closely related species, The *T. sordida* feature variability but with genetic proximity. Given the difficulties of specific identification of *T. sordida* subcomplex. This work contributed to specific diagnosis, as well as for the phylogeny within the subfamily Triatominae. It is concluded that the morphological, molecular and morphometric studies were performed, were useful characterize the four species of subcomplex *T. sordida* as to suggest a new positioning for *T. guasayana and T. patagonica.*

Keywords: **Keywords**: Phylogeny, Triatomine, *T. sordida* subcomplex, morphology, morphometry, molecular.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Origem das espécies de Triatominae utilizadas**.....18**

Tabela 2. Iniciadores utilizados no estudo**.....32**

Tabela 3. Principais características encontradas na vista dorsal, posterior e ventral da genitália externa feminina de espécies do subcomplexo *T. sordida***.....42**

Tabela 4. Resultado das mensurações, em mm, do comprimento, largura e perímetro da abertura opércular de ovos de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida.*.....**49**

Tabela 5. Resumo da análise de tamanho do centroide pela ANOVA de Procrustes entre machos de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). SQ soma de quadrados, QM quadrados médios e GL graus de liberdade.**.....53**

Tabela 6. Resumo da análise de tamanho do centroide por ANOVA entre fêmeas de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). SQ soma de quadrados, QM quadrados médios e GL graus de liberdade**.....53**

Tabela 7. Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre machos de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). SQ soma de quadrados, QM quadrados médios e GL graus de liberdade.**.....53**

Tabela 8. Resumo da análise de conformação pela ANOVA de Procrustes entre fêmeas de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). SQ soma de quadrados, QM quadrados médios e GL graus de liberdade.**.....54**

Tabela 9. Resumo das Análises de Variáveis Canônicas entre machos de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). Nota-se que as variáveis CV1 e CV2 explicam maior parte das variações**.....54**

Tabela 10. Resumo das Análises de Variáveis Canônicas entre fêmeas de *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). Nota-se que as variáveis CV1 e CV2 explicam maior parte das variações.**.....55**

Tabela 14. Triatomíneos usados no estudo, sequências obtidas dos genes CO1, *Cyt b*, 28S e 16S, origem, e código de acesso *GenBanK*®. **.....65**

Tabela 15. Características diferenciais e não diferenciais entre *T. garciabesi, T. guasayana, T. patagonica e T. sordida.* **.....72**

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Imagem representando os parâmetros mensuradas para os estudos morfométricos das cascas de ovos, espécie T. guasayana. Comprimento, largura e perímetro da abertura opercular dados em milímetros, de acordo Barata (1981), Rosa et al (2000) e Medonça et al (2016). **.....22**

Figura 2. Asas esquerda de *T. sordida* em lâminas permantes para digitalização das imagens. **.....23**

Figura 3. Vista dorsal da asa esquerda de *T. sordida*, com a posição dos 9 marcos anatômicos selecionados, marcos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 9 de tipo 1 e 7 de 2, intersecção entre as veias, de acordo com Monteiro & Reis (1999)**.....24**

Figura 4. Representação gráfica dos marcos anatômicos e sua disposição em um plano cartesiano. Adaptado Monteiro & Reis (1999)**.....25**

Figura 5. Representação do alinhamento das configurações individuais pelo Método de Superposição dos Quadrados Mínimos de Procrustes no programa Clic. As populações hipotéticas estão representadas por cores distintas (rosa, roxo e amarelo). **.....26**

Figura 6. Exemplos de Grades de deformações originadas a partir de uma configuração consenso, adaptado de Moraes (2003)**.....28**

Figura 7. Processo mediano do pigóforo por MEV. A. *T. garciabesi*, B. *T. guasayana* e C. *T. sordida.* **.....36**

Figura 8. Genitalia externa feminina de quatro espécies do subcomplexo T. sordida em vista dorsal. A: *T. garciabesi*, B: *T. guasayana*, C: *T. patagonica* e D: *T. sordida*. Gc8: gonacoxito 8, Gp8: gonapofise 8, VII e VIII tergitos, IX e X segmento **.....38**

Figure 9. Genitália externa feminina de quatro espécies do subcomplexo *T. sordida* em vista posterior. A: *T. garciabesi*, B: *T. guasayana*, C: *T. patagonica* e D: *T. sordida*. Gc8: gonacoxito 8, Gp8: gonapofise 8, VIII tergito, IX e X segmento **.....39**

Figure 10. Genitália feminina externa de quatro espécies do subcomplexo T. sordida em vista ventral. A: *T. garciabesi*, B: *T. guasayana*, C: *T. patagonica* e D: *T. sordida.* Gc8: gonacoxito 8, Gp8: gonapofise 8, VIII tergito, IX e X segmento. **.....40**

Figura 11. Aspecto geral dos ovos estudados por MEV (50X). A. *T. garciabesi*, B. *T. guasayana*, C. *T. patagon*ica e D. *T. sordida*. **.....44**

Figura 12. Detalhe da superfície exocórial por MEV (1000X). A. *T. garciabesi*, B. *T. guasayana*, C. *T. patagonica* e D. *T. sordida*. **45**

Figura 13. Imagens dos cortes histológicos das cascas dos ovos (100X). A, *T. garciabesi*, B. *T. guasayana*, C. *T. patagonica* e *T. sordida.* **47**

Figura 14. Variação do tamanho do centroide das asas esquerdas de machos entre populações de *T. garciabesi*, *T. guasayana*, *T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). As caixas mostram os valores médios. **52**

Figura 15. Variação do tamanho do centroide das asas esquerdas de fêmeas entre populações de *T. garciabesi*, *T. guasayana*, *T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). As caixas mostram os valores médios. **52**

Figura 16. Diagrama de dispersão em relação à análise de dois fatores de variação de forma alares CV1 e CV2, entre machos. *T. garciabesi* (elipse verde), *T. guasayana* (elipse azul escuro), *T. patagonica* (elipse rosa) e *T. sordida* Bahia (elipse amarela), *T. sordida* Goiás (elipse azul claro), *T. sordida* Minas Gerais (elipse roxo), *T. sordida* Argentina (elipse vermelho) *T. sordida* Bolívia (elipse verde claro). **56**

Figura 17. Diagrama de dispersão em relação à análise de dois fatores de variação de forma das asas CV1 e CV2, entre fêmeas. *T. garciabesi* (elipse verde), *T. guasayana* (elipse azul escuro), *T. patagonica* (elipse rosa) e *T. sordida* Bahia (elipse amarela), *T. sordida* Goiás (elipse azul claro), *T. sordida* Minas Gerais (elipse roxo), *T. sordida* Argentina (elipse vermelho) *T. sordida* Bolívia (elipse verde claro). **57**

Figura 18. Diagrama de deformação derivado do CV1 resultante da comparação entre as asas de machos (A) e fêmeas (B) de *T. garciabesi*, *T. guasayana*, *T. patagonica* e *T. sordida* provenientes da Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Goiás, Minas Gerais). Os vetores indicam as direções das deformações. As elipses representam os eixos que mais diferenciam entre as amostras estudadas. **58**

Figura 19. Diagrama de dispersão mostrando a variação de forma das asas esquerdas de machos em relação à Análise dos Componentes Principais **60**

Figura 20. Diagrama de dispersão mostrando a variação de forma das asas esquerdas das fêmeas em relação à Análise dos Componentes Principais. **61**

Figura 21. Fenograma de similaridade morfológica gerado por meio dos valores da distância Mahalanobis obtidas na análise discriminantes. **62**

Figura 22. DNA genômico visualizado em gel de agarose a 1%. M, marcador molecular.1, 2 e 3 *T. garciabesi*; 4, 5 e 6 *T. guasayana*; 7, 8 e 9 *T. sordida* Bahia, Brasil; 10, 11 e 12 *T.*

sordida Goiás, Brasil; 13, 14 e 15 *T. sordida* Minas Gerais, Brasil; 16, 17 e 18 *T. sordida* Bolívia e 19, 20 e 21 *T. sordida* Argentina. **63**

Figura 23. Árvore consenso de ML para o gene COI. Os números abaixo dos ramos são valores de *bootstrap* baseados em 1000 réplicas **66**

Figura 24. Árvore consenso de ML para o gene *Cyt b*. Os números abaixo dos ramos são valores de *bootstrap* baseados em 1000 réplicas **67**

Figura 25. Árvore consenso de ML para o gene 16S. Os números abaixo dos ramos são valores de *bootstrap* baseados em 1000 réplicas. **68**

Figura 26. Árvore consenso de ML para o gene 28S. Os números abaixo dos ramos são valores de *bootstrap* baseados em 1000 réplicas. **69**

Figura 27. Filograma consenso da inferência Bayesiana entre os genes CO1, *Cyt b*, 16S e 28S concatenados. Clado laranja *T. garciabesi*, *T. guasayana,* clado rosa *T. patagonica e T. rubrovaria,* clado azul *T. sordida* Argentina, Bolívia, Brasil (Bahia, Pantanal), *e R. brethesi* clado cinza. Modelo de evolução segundo critério Akaike GTR + G. **71**

ABREVIATURAS.

µg	micograma
µL	microlitro
µM	micromolar
PrP	processo mediano do pigóforo
gDNA	DNA genômico
mtDNA	DNA mitocondrial
rDNA	DNA ribossomal
Cyt b	Citocromo *b*
CO1	Citocromo Oxidase I
ITS1	Espaçador interno transcrito 1 (*Internal Transcribed Spacer*)
ITS2	Espaçador interno transcrito 2 (*Internal Transcribed Spacer*)
28S	gene ribossomal 28S
16S	gene ribossomal 16S
ML	Microscopia de luz
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
CTA	Colônia de Triatominae de Araraquara da FCF-UNESP/Araraquara
KOH	Hidróxido de potássio
ANOVA	Análise de variância
CVA	Análises das variáveis canônicas
NaCl	Cloreto de sódio
Tris-HCl	(hidroximetil) aminometano Ácido clorídrico
pH	Potencial hidrogeniônico
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
TAE	Tampão Tris-Acetato-EDTA
PCR	Reação em cadeia da polimerase
dDNTP	Trifosfato de deoxinucleosídeo
dATP	Trifosfato de dioxiadenosina
dGTP	Trifosfato de dioxiguaninosina
dTTP	Trifosfato de desoxitimidina
dCTP	Trifosfato de dioxicitosina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO. **1**

1.1 Doença de Chagas. **1**

1.2 Vetores **4**

1.3 A subfamília Triatominae **5**

1.4 *Triatoma* Laporte, 1832 ..... **5**

1.5 Subcomplexo *Triatoma sordida* (Stal, 1859). **6**

1.5.1 Considerações sobre as espécies do subcomplexo *T. sordida*. **6**

1.5.2 *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Cichero, Martínez, Prosen & Ronderos, 1967 ..... **6**

1.5.3 *Triatoma guasayana* Wygodzinsky e Abalos, 1949. ..... **7**

1.5.4 *Triatoma patagonica* Del Ponte (1929). **9**

1.5.5 *Tritoma sordida* (Stål, 1859). **9**

1.6 Sistemática e caracterização espécifica da subfamília Triatominae. **10**

1.6.1 Estudos morfológicos. **10**

1.6.2 Morfometria geométrica. **12**

1.7 Sistemática molecular. **14**

2. OBJETIVOS **16**

2.1 Objetivos específicos **16**

3. MATERIAL E MÉTODOS **17**

3.1 Triatomíneos. **17**

3.2 Estudos Morfológicos. **19**

3.2.1 Análises do processo mediano do pigóforo. **19**

3.2.2 Preparo e análise da genitália externa feminina **20**

3.2.3 Aspectos morfológicos de ovos. **20**

3.2.4 Estudos histológico de ovos **21**

3.3 Estudos morfométricos. **22**

3.3.1 Morfometria de ovos. **22**

3.3.2 Análises estatísticas. **23**

3.3.3 Morfometria geométrica. **23**

3.3.3.1 Preparo e escolha dos marcos anatômicos. **23**

3.3.3.3 Funções de Flexões de Placas Finas. **27**

3.3.3.4 Tamanhos do Centroide e variações no tamanho. **28**

3.3.3.5 Análises das Variáveis Canônicas. **29**

3.3.3.6 Análise Discriminante. **29**

3.4 Estudos moleculares. **30**

3.4.1 Extrações do DNA genômico. **30**

3.4.2 Amplificações do DNA por PCR (*Polymerase Chain Reaction*). **31**

3.4.3 Iniciadores. **32**

3.4.4 Purificações do DNA amplificado **33**

3.4.5 Sequenciamentos. **33**

3.4.6 Análises filogenéticos. **33**

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO. **35**

4.1 Estudos morfológicos. **35**

4.1.1 Processo mediano do pigóforo. **35**

4.1.2 Morfologia dos ovos. **43**

4.2 Estudos morfométricos. **48**

4.2.1 Morfometria de ovos. **48**

4.3. Morfometria geométrica. **51**

4.3.1 Variabilidades de tamanho das asas entre as espécies. **51**

4.3.2 Variabilidades de forma entre as asas das espécies. **59**

4.3.3 A separação dos grupos é bem definida? **62**

4.4. Estudos moleculares. **63**

4.4.1 Extrações do DNA genômico. **63**

4.4.2 Sequenciamentos dos genes. **64**

4.4.3 Gene CO1 mtDNA. **66**

4.4.4 Gene *Cyt b* mtDNA. **.....67**

4.4.5 Gene 16S rDNA**. 68**

4.4.6 Gene 28S rDNA**. 69**

4.4.7 Inferência Bayesiana**. 70**

4.5 Resultados dos estudos filogenéticos**. 72**

5. DISCUSSÃO. 73

6. CONCLUSÕES.....79

REFERÊNCIAS 80

Carta de submissão artigo. 96

1. INTRODUÇÃO.

1.1 Doença de Chagas.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) categoriza a doença de Chagas como uma das 17 doenças tropicais negligenciadas, assim como, dengue, malária e leishmaniose. As doenças negligenciadas fazem parte de um grupo de infecções causadas por uma variedade de patógenos (como vírus, bactérias ou protozoários). Segundo a OMS, as doenças tropicais afetam atualmente 1 bilhão de pessoas em 149 países (WHO, 2015b). Particularmente, essas enfermidades restringem-se, principalmente, a regiões socialmente desfavorecidas, produzindo desse modo sérios danos sociais e econômicos, bem como, índices elevados de mortalidade, incapacidade física, alto custo clínico, entre outros (DIAS & SCHOFIELD, 1998; DIAS, 2006).

A primeira associação entre o agente etiológico, vetor e reservatório foi por meio das investigações do médico brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, em trabalho publicado no ano de 1909 (CHAGAS, 1909; WHO, 2015). Chagas não apenas descreveu o protozoário *T. cruzi*, como desvendou toda a cadeia epidemiológica da doença. Historicamente o protozoário possui um ciclo exclusivamente silvestre, formado pelos reservatórios naturais e os triatomíneos, essa complexa relação ecológica passou por várias mudanças que estão relacionados ao surgimento de uma nova dinâmica epidemiológica, hoje a doença é um problema de saúde pública que ultrapassa as barreiras continentais americanas, assumindo a triste condição de ser uma das principais endemias da região, bem como uma enfermidade globalizada. (FORATTINI, 1980; DIAS, 2006; GALVÃO, 2014; WHO, 2015a). A melhoria das condições definidas como básicas, como acesso a programas de saúde, ampliação de programas habitacionais, intensificação do controle vetorial e dos hospedeiros intermediários, são medidas essenciais para o controle (SCHOFIELD et al, 2006; WHO, 2015A).

Em regiões consideradas não endêmicas para a doença, como Estados Unidos, países europeus e asiáticos, como o Japão, existem um grande número de pessoas infectadas com *T. cruzi*, imigrantes de regiões endêmicas ou infectadas por outras vias não vetoriais. (DIAS & SCHOFIELD, 1998; SCHUMUNIS, 2007; GASCON et al, 2010; IMAI et al, 2015;). Segundo, Imai *et al* (2015) o Japão possui aproximadamente 300,000 imigrantes latinos, onde até o ano de 2007 foram reportados 4.500 casos de doença de Chagas em sua forma crônica.

Na Espanha, país que recebe muitos imigrantes de países latinos, como Argentina, Bolívia, Equador, Colômbia, estima-se que aproximadamente 48.000 imigrantes estão infectados com *T. cruzi* (GASCON et al, 2010; DIAS, 2013).

Vias secundárias de transmissãao que não estão relacionadas ao contato com fezes ou urina dos insetos vetores, são as principais causas de novos casos de infecção por *T. cruzi* em regiões não-endêmicas para o vetor. As vias secundárias mais comuns são: sangue contaminado, via congênita ou vertical, acidentes laboratoriais, manuseio de animais contaminados e oral. A principal via de transmissão da infecção chagásica é a vetorial responsável por 80% dos casos, seguida pela contaminação transfusional, que atualmente é a segunda principal via de transmissão da infecção chagásica (DIAS & SCHOFIELD, 1998; CATALÁ et al, 2004; GALVÃO, 2014; DIAS, 2015).

A transmissão congênita ou vertical por *T. cruzi* possui importância em regiões endêmicas e não-endêmicas, onde podemos encontrar mulheres em idade reprodutiva (IMAI et al, 2015). Países sul americanos como Brasil, Uruguai, Chile e Argentina diminuíram a infecção vetorial, assim a vigilância sobre outras vias infecciosas merecem atenção, estima-se que atualmente na Argentina e no Brasil uns dos principais meios de contaminação é e pela via congênita. Em países não endêmicos como Japão e Espanha a transmissão congênita é um problema de saúde pública, principalmente pela presença de imigrantes em idade fertil, podendo chegar a 60% do total na Espanha (GASCON et al, 2010).

O acompanhamento de gestantes é ineficiente, fato que influência diretamente nas ações de controle, a transmissão por vertical está longe de ser satisfatório, principalmente em regiões pobres dependentes de políticas públicas voltadas para o diagnóstico e tratamento da infecção (MORETTI et al, 2005; ALONSO-VEGA et al, 2013; WHO, 2015a).

Embora, se perceba um decréscimo na transmissão vetorial em regiões endêmicas atualmente há relatos de surtos da infecção por *T. cruzi* por ingestão de alimentos contaminados no Brasil, Venezuela e Colômbia (DIAS et al, 2002; PEREIRA et al, 2009; FERREIRA et al, 2014; SOTO et al, 2014; NOYA et al, 2015;). A infecção ocorre de forma esporádica , mas suas consequências são severas, podendo resultar em um quadro agudo da doença (CAVALCANTI et al, 2009; PEREIRA et al, 2009; DIAS, 2015).

A infecção por via oral ocorre pela ingestão de alimentos contaminados com formas infectantes de *T. cruzi*. Segundo Dias (2015) a ingestão é muito comum no ciclo silvestre do protozoário, maximizada pelo consumo de carne contaminada de animais silvestres, roedores, primatas entre outros, o autor cita outros alimentos associados a infecção por via oral, como poupa de frutas e sucos, que possivelmente não passaram por processos de esterilização. Em regiões que há relatos de surtos da infecções por via oral, busca-se a implementação de medidas de controle sanitário, principalmente sobre os tipos de alimentos associados a infecções anteriores (PEREIRA et al, 2009; SILVEIRA, 2011; ANEZ et al, 2013; SOTO et al, 2014).

Nas últimas décadas, ocorreram avanços consideráveis no controle da doença, decorrentes do desenvolvimento sócio-econômico e de decisões políticas relacionados principalmente ao controle e prevenção de novos casos. A gestão deste quadro, depende da permanência dos programas e da cooperação entre órgãos governamentais, universidades, programas de saúde, agências de pesquisas e da comunidade (SCHOFIELD et al, 2006; ANDRADE et al, 2014; COURA et al, 2014; GALVÃO, 2014;).

Os avanços na vigilância epidemiológica, decorrem da implementação de programas internacionais e regionais; como a iniciativa de paises do Cone Sul. Iniciada nos primeiros anos da década de 1990, a iniciativa foi importante por envolver orgãos internacionais e agências regionais, que foram responsáveis por mudanças significativas relacionadas ao controle vetorial, diagnóstico e nas atividades hemoterápicas (DIAS, 1998, 2006; GALVÃO, 2014).

No Brasil o controle químico obteve resultados satisfatórios, como por exemplo, na na eliminação de focos de infestações de triatomíneos, especialmente de *T. infestans* em várias regiões do país. O uso de inseticidas sintéticos é eficaz para o controle de triatomíneos no domicílio humano. (DIAS et al, 2002; SCHOFIELD et al, 2006). Em alguns países as medidas de controle e prevenção ainda são insuficientes, principalmente pela escassez de políticas públicas e investimento em pesquisas (SCHOFIELD et al, 2006; DIAS, 2007, 2013).

O cenário atual da doença de Chagas, é estavél, mas a manutenção da vigilância é de extrema importância para continuidade dos trabalhos realizados nas últimas décadas. Apesar dos relatos da doença fora de regiões endêmicas serem relativamente recentes, deve-se atentar para o intenso tráfego de pessoas pelo mundo, bem como seus patógenos. Enfemidades antes

confinadas em regiões menos favorecidas, hoje posicionam-se como um problema de saúde pública global; como percebido na epidemia do vírus Ebola na África Ocidental, iniciada no final de 2013. O surto foi responsável por uma nova visão em relação a veiculação de patógenos, principalmente em um momento de intenso fluxo de pessoas, conduzido a novas discussões sobre a situação atual das medidas de controle globais de doenças infecciosas (DIAS & SCHOFIELD, 1998; DIAS et al, 2002; DIAS, 2006; SCHOFIELD et al, 2006; GALVÃO, 2014; TARLETON et al, 2014; HEYMANN et al, 2015).

1.2 Vetores.

Os vetores do protozoário *T. cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas são os triatomíneos. Os triatomíneos são hemípteros que possuem como principal característica a hematofagia, comportamento que resulta na contaminação dos insetos pelos tripanossomatídeos circulantes na corrente sanguínea de animais infectados. Os triatomíneos distribuem-se por toda região Neotropical onde representa um problema de saúde pública. Potencialmente, todos os triatomíneos são vetores para *T. cruzi*, mas os gêneros importantes pelo aspecto epidemiológico são: *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 1998; CERETTI et al, 2008; SCHOLFIELD & GALVÃO, 2009).

Os triatomíneos vivem próximos a sua fonte alimentar, abrigando-se em ecótopos habitados por animais como marsupiais, roedores, aves, lagartos, entre outros. As espécies da subfamilia são naturalmente silvestres, mas algumas são sinantrópicas, ou seja, possuem alguma relação com o homem, *T. infestan*s e *T. sordida* corriqueiramente são relatadas juntas ou próximos a moradia humana, essas espécies podem serem consideradas sinantrópicas, *T. sordida* atualmente é a espécie mais reportada no peridomicílio na região centro-oeste do Brasil (LENT & WYGODZINSKY, 1979; FORATTINI, 1980; GALVÃO, 2014).

As condições de domiciliação desses vetores estão relacionadas a vários fatores que ainda não são totalmente compreendidos, possivelmente condicionados pela biologia e pelas condições oferecidas pelas habitações humanas; costumeiramente casas simples, construídas em áreas rurais, sem condições sanitárias. Desta forma, temos microambientes ideais para adaptação vetorial, que suprem todas necessidades para o desenvolvimento do inseto hematófago, que normalmente se alojam em frestas de paredes, atrás de camas, em móveis,

baús ou em áreas externas das moradias como habitáculos de animais domésticos (FORATTINI, 1980; DIOTAIUTI, 2000).

Os triatomíneos possuem uma grande plasticidade adaptativa, fator interessante, já que a capacidade de domiciliação das espécies está ligada ao ciclo doméstico da infecção. A interferência humana no habitat dos triatomíneos é um dos fatores determinantes no aparecimento de novas infestações, as degradações dos ecossistemas geram novos padrões de distribuição, e dispersão desses vetores; outro fator considerável são as mudanças da temperatura média global, supostamente relacionadas a atividades industriais iniciadas no século XVIII. Estudos recentes mostram que as alterações ambientais causadas pelo o homem, afeta a saúde humana em vários aspectos, sociais e econômicos, tal como qualidade de vida e acesso a saúde (COSTA et al, 2014; DIRZO et al, 2014).

1.3 A subfamília Triatominae

A subfamília Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) conta com 152 espécies, duas fósseis, *T. dominicana* (POINAR, 2005) *e P. hispaniolae* (POINAR, 2013). No Brasil, são reportadas 67 espécies (GALVÃO, 2014; MENDONÇA et al, 2016; SOUZA et al, 2016).

A classificação sistematizada da subfamília Triatominae, resulta principalmente da revisão de Lent & Wygodzinsky (1979) a mesma constantemente revisada por outros autores. Os triatomíneos possuem características que os diferenciam de outros hemipteros, como sua morfologia e seu hábito alimentar. Esses insetos possuem o aparelho bucal adaptado a sucção de sangue, característica que diferencia a subfamília de outros reduvideos que são predadores (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2014).

A importância da subfamília resulta, dentre outros fatores, de sua condição vetorial, pois todas as espécies em seus cinco estádios ninfais, assim como fêmeas e machos podem abrigar o *T. cruzi* (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2014).

1.4 *Triatoma* Laporte, 1832

O gênero *Triatoma* conta com 75 espécies divididas em oito complexos e oito subcomplexos, e representa a maior diversidade dentro da subfamília Triatominae. (GALVÃO, 2014; MENDONÇA et al, 2016)

Os representantes do gênero *Triatoma* possuem importância epidemiológica, ou seja, podem veicular *T. cruzi*. No Brasil, algumas espécies são relevantes pela sua capacidade vetorial, como, *T. brasiliensis*, *T. infestans*, *T. pseudomaculata* (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2014).

1.5 Subcomplexo *Triatoma sordida* (Stal, 1859).

O subcomplexo *Triatoma sordida* compreende: *T. garciabesi*, *T. guasayana*, *T. patagonica e T. sordida*. Os representantes naturalmente silvestres podem ser encontrados junto a moradia humana, portanto, são rotineiramente associados a transmissão de *T. cruzi* ao homem (WYGODZINSKY & ABALOS, 1951; CARCAVALLO et al, 1967; LENT & WYGODZINSKY, 1979; FORATTINI, 1980; CANALE et al, 2000; WISNIVESKY-COLLI, 2003; CAVALLO et al, 2016).

As espécies do subcomplexo *T. sordida* apresentam similaridades morfológicas, morfométrias e comportamentais que dificultam a identificação específica (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GORLA et al, 1993; PANZERA et al, 1997). Segundo Panzera *et al* (2015) as discussões a respeito das relações evolutivas do subcomplexo são controversas e permanecem em discussão.

1.5.1 Considerações sobre as espécies do subcomplexo *T. sordida*.

1.5.2 *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Cichero, Martínez, Prosen & Ronderos, 1967.

A espécie distribui-se pela região semi-árida da Argentina (Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago del Estero, Córdoba, Catamarca, La Rioja, San Juan, Mendoza, Santa Fé) e pelo Chaco boliviano, ecossistema que se estende pela Bolívia, Argentina, Paraguai e Brasil (Gran Chaco) caracteristico por possuir planície de floresta e selvas (LENT & WYGODZINSKY, 1979, SCHOLFIED & GALVÃO, 2009).

Triatoma garciabesi possui similaridade morfológica com *T. sordida*, percebidas na dimensão corpórea e nos padrões cromáticos, a espécie apresenta coloração mais escura quando comparada com *T. sordida.* Destacam-se também diferenças em outros parâmetros morfológicos como por exemplo, cabeça, no tamanho e forma do pronoto e escutelo e nas

peças genitáis (LENT & WYGODZINSKY, 1979; JUBERG et al, 1998; GALVÃO et al, 2003b; GURGEL et al, 2011).

As similaridades entre *T. garciabesi* e *T. sordida* são discutidas em vários trabalhos. Actis *et al* (1965) ao comparar o padrão eletroforético de *T. sordida* provenientes da Argentina e dados publicados de populações do Brasil, percebe diferenças que só se explicam em espécies distintas. Carcavallo *et al* (1967) descreveram diferenças entre *T. garciabesi* e *T. sordida*, fundamentado-se principalmente em diferenças morfológicas da cabeça e estruturas fálicas. Em 1979, em revisão da subfamília Triatominae Lent & Wygodzinsky sinominizam as espécies, considerando incoclusivas as diferenças apresentadas em publicações anteriores, desconsiderando *T. garciabesi* como espécie válida.

Panzera *et al.* (1997) em estudos de citogenética de populações de *T. sordida* provenientes da Argentina e Brasil, descrevem diferenças na quantidade de heterocromatina destas populações, e propõem duas hipóteses para explicar tais diferenças, a primeira sugerindo que as populações de ambas regiões são geneticamente diferentes e a segunda supõem a existência de duas espécies distintas, deixando em aberto a discussão. Jurberg *et al*. (1998) revalidaram *T. garciabes*i, considerando a baixa similaridade genética com *T. sordida* somada a diferenças morfológicas.

A espécie merece atenção na vigilância entomológica, Segundo Canale *et al* (2000) *T. garciabesi* é abundante no peridomicilio humano (Província de Santiago del Estero, Argentina) com capacidade de infestar regiões antes colonizadas por *T. infestans* ou *T. sordida*, os autores não relatam a invasão domiciliar.

1.5.3 *Triatoma guasayana* Wygodzinsky e Abalos, 1949.

Triatomíneo encontrado na Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Córdoba, Chaco, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fé, Santiago Del Estero, Tucumán), Bolivia (Santa Cruz, Tarija, La Paz), Paraguai (Alto Paraguay, Boquerón, Nueva Asunción, Paraguai (Presidente Hayes).

Os machos apresentam em média 16.0 - 18.5 mm, as fêmeas relativamente maiores, com média de 18.0 - 20.5 mm, a coloração vai do marrom escuro ao preto, possui manchas amareladas na região do pescoço (LENT & WYGODZINSKY, 1979). Em ecótopos silvestres *T. guasayana* é encontrando habitando troncos, bromélias e cactáceas, geralmente

alimentando-se de marsupiais, aves, répteis e roedores (WYGODZINSKY & ABALOS, 1949; LENT & WYGODZINSKY, 1979).

Gorla *et al*. (1993), apontando para similaridades entre as espécies, discutem sobre a relação de "parentesco" morfológico, principalmente nos estádios iniciais de desenvolvimento, o mesmo pontuado por Abalos & Wygodzinsky (1951). A diferenciação morfológica entre *T. guasayana* e *T. sordida* é complexa, pois geralmente a diferenciação baseia-se quanto na coloração do conexivo e no tamanho do segundo segmento do rostro, maior em *T. sordida* (USINGER et al, 1966; LENT & WYGODZINSKY, 1979; FORATTINI, 1980; ARGUELLO et al, 1983; REBAGLIATI et al, 1998; GALVÃO et al, 2003; LOZA-MURGUIA & NOIERAU, 2010).

Outros parâmetros de diferenciação foram utilizados para melhor caracterizar esses triatomíneos. Rebagliati *et al* (1998), estudaram o comportamento meiótico de populações de *T. guasayana* e *T. sordida* ambos da Argentina e de híbridos de *T. sordida* (Argentina x Brasil) os estudos indicaram semelhanças no processo meiótico entre *T. guasayana* e *T. sordida*, mas com diferenças cariotípicas, bem como diferenças na área total dos cromossomos e na área relativa dos cromossomos sexuais. Panzera *et al* (1997, 2015) demostraram diferenças entre populações de *T. guasayana* e *T. sordida*, fundamentando seus resultados em estudos do cariótipo e padrão isoenzimático.

Recentemente, alguns autores sugerem uma organização nova para os subcomplexos da subfamília Triatominae, o mesmo para o subcomplexo *T. sordida, T. guasayana* vem apresentando em alguns trabalhos uma maior proximidade genética com espécies do subcomplexo *T. rubrovaria* (GARDIM et al, 2013, PANZERA, et al, 2015; PITA et al, 2016)

Espécie naturalmente silvestre, normalmente não é encontrada junto às moradias humanas, principalmente as formas imaturas que geralmente possuem comportamento passivo, portanto, dificilmente são encontradas no domicílio, comportamento associados aos espécimes adultos, que podem serem atraidos pela luz (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GORLA et al, 1993; NOIERAU & DUJARDIN, 2010). Segundo Canale *et al* (2010) a espécie é frequentemente capturada na região peridomiciliar na Provincia de Santiago del Estero, Argentina onde associa-se a veiculação de *T. cruzi* à animais domestícos, portanto, merecendo atenção na vigilância epidemiológica.

1.5.4 *Triatoma patagonica* Del Ponte (1929)

Espécie distribuída pela região mais austral das Américas: Argentina (Tinogasta, Catamarca, Tres Portenãs, Mendoza, Sierra de la Ventana, Buenos Aires, Chanicó, La Pampa, Rio Colorado, Gral Frias, Rio Negro, Los Mártires, Gaiman e Chubut) e Uruguai (WYGODZINSKY & ABALOS, 1951; LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO et al, 2003; WISNIVESKY-COLLI, 2003)

O tamanho corpóreo varia de 17 a 18,5 mm entre os machos, 18 a 21 mm entre as fêmeas. A espécie está relacionada à transmissão de *T. cruzi* (WISNIVESKY-COLLI, 2003), naturalmente encontrada em ambientes silvestres podem colonizar o peridomicílio, veiculando *T. cruzi* a animais domésticos, habitações humanas criam condições ideais para possíveis domiciliações desse triatomíneo, Gorla *et al* (1993), relatam que em algumas localidades da Argentina a espécie pode infestar habitats antes colonizados por *T. infestans*, merecendo atenção da vigilância epidemiológica.

1.5.5 *Tritoma sordida* (Stål, 1859).

Espécie amplamente distribuída pelo território brasileiro, sendo um dos principais vetores por estarem associados a veiculação de *T. cruzi* a animais domésticos e frequentemente infectados, Segundo Ribeiro *et al* (2014) nos municípios de Macaúbas e Santo Inácio (Bahia, Brasil) os índices de infecção foram 6.1% e 34% respectivamente. A espécie distribui-se por vários estados brasileiros: Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo. Encontrada também na Argentina (Missiones, Corrientes, Santa Fé, Leste de Formosa e no Chaco), Paraguai (Concepción, Cordillera, Central, Nueva Asunción), Bolívia (Cochabamba, La Paz, Santa Cruz, Beni, Tarija) e Uruguai (LENT & WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO et al, 2003b).

O macho da espécie possui comprimento médio de 14 a 19 mm, as fêmeas normalmente maiores de 15 a 20 mm (LENT & WYGODZINSKY, 1979) do ponto de vista cromático a espécie possui coloração clara, raramente escura, com algumas regiões do corpo amarelada (GALVÃO, 2014). Espécie frequentemente encontrada infectada com *T. cruzi* frequentemente relatada no peridomicilio substituindo infestações controladas de *T. infestans*

(GORLA et al, 1993; RIBEIRO et al, 2014). *T. sordida* possui comportamento sinantrópico, adaptando-se com facilidade no peridomicílio, nesse ecótopo o inseto abriga-se em galinheiros chiqueiros ou por entulhos distribuídos ao redor das moradias (LENT & WYGODZINSKY, 1979; FORATTINI, 1980; JURBERG et al, 2004; OBARA et al, 2011).

Forattini (1980) discute o sinantropismo de *T. sordida*, destacando a facilidade em colonizar o peridomicílio, onde a mesma se alimenta de animais domésticos, o autor relata que a ação antropíca é o principal precursor da dispersão desses vetores, essa espécie possivelmente apresenta como centro de endemismo a região central do Brasil. Segundo Rossi *et al* (2015) as características das habitações humanas influenciam na domiciliação desse triatomíneo, o estudo mostra como a presença de galinheiros e sua estrutura, proporcionam condições ideias para o desenvolvimento.

Estudos com populações de *T. sordida* revelam diversidade comportamental, genética e morfológica (FORATTINI, 1980; GONZALEZ-BRITEZ et al, 2014; PANZERA et al, 2015; ROSSI et al, 2015). Panzera et al (2015) sugere que possivelmente pode haver pelo menos uma espécie nova na Argentina, hoje, descrita com *T. sordida.*

1.6 Sistemática e caracterização espécifica da subfamília Triatominae.

1.6.1 Estudos morfológicos.

Os triatomíneos, bem como a maioria dos insetos, foram primeiramente caracterizados por estudos morfológicos, desta maneira, por meio de análises comparativos de várias estruturas foi possível classificar sistematicamente estes artrópodes, agrupando espécies que possuem características semelhantes e da mesma forma separando outras com características distintas (GALVÃO, 2014). Os primeiros estudos taxonômicos da subfamília Triatominae, foram por meio de análises de estruturas anatômicas, diferenças cromáticas e estudos de ovos entre outros (LENT & JURBERG, 1965, 1967; LENT & WYGODZINSKY, 1979; BARATA, 1981; DUJARDIN et al, 1999; ROSA et al, 2014).

Os estudos tradicionais do fenótipo são realizados por meio de microscopia de luz. A princípio a microscopia de luz, é uma metodologia muito importante para os estudos com caracteres morfológicos e mofométricos de triatomíneos contribuindo para a compreensão das relações taxonômicas da subfamília, mas devido a necessidade de implementar às técnicas de estudo, houve a necessidade de implementar novas ferramentas, que, pudessem oferecer

novas possibilidades para os estudos. Umas das técnicas que vieram revolucionar a taxonomia em triatomíneos foi a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Segundo Galvão (2014), as primeiras utilizações da MEV, refere-se a Barth & Muth (1958), com estudos de ovos; logo Carcavallo *et al.* (1978), utilizaram a MEV para descrição de estádios imaturos de *Alberprosenia goyovargasi.* Lent & Wygodzinsky (1979) aplicaram a técnica em estudos de várias estruturas anatômicas, publicando um dos estudos mais completos sobre os Triatominae.

Para os estudos de ovos, Barata (1981) também utilizou a técnica de MEV, caracterizando alguns gêneros. Os estudos da arquitetura dos ovos são importantes para a distinção entre as espécies. Obara *et al* (2007) realizaram estudos comparativos com ovos de quatro espécies do gênero Meccus, por meio de microscopia de luz, MEV e cortes histológicos.

Outro parâmetro importante para o estudo taxonômico da subfamília Triatominae são as estruturas fálicas, composta por várias peças que apresentam características inerentes a espécie possibilitando distinção tanto entre táxons próximos bem como entre gêneros. Lent & Jurberg (1965) validam a genitália masculina como caractere discriminatório para espécies da subfamília Triatominae. A genitália masculina externa está localizada entre o 8° e 9° segmentos abdominais, entre as várias peças que compreendem a região fálica o 9° segmento ventral ou Pigóforo apresenta-se como uma estrutura importante para o estudo taxonômico, o processo mediano do pigóforo (PrP), possui arquitetura bem característica e sua especificidade é explorada em estudos comparativos (LENT & JURBERG, 1967; LENT & WYGODZINKY, 1969; JURBERG et al, 2005, 2013;).

A morfologia da genitália feminina apresenta características que auxiliam no estudo taxonômico e na compreensão sistemática da subfamília Triatominae (ROSA et al, 2010, 2014). A genitália feminina se estende pelos segmentos finais do abdômen. Lent & Jurberg (1969) citam duas regiões interessantes para os estudos comparativos, gonocoxitos e gonapofíses, estruturas que apresentam certo grau de polimorfismo entre as espécies, possibilitando a diagnose especifica, como proposto por Rosa *et al* (2010) que estudaram as faces dorsais, laterais, posteriores e ventrais por MEV de seis espécies dos gêneros *Panstongylus, Rhodnius* e *Triatoma*. Em 2012, Rosa e colaboradores, confirmaram a validade taxonômica desse carácter ao mostrarem as diferenças entre 14 espécies de *Rhodnius.*

1.6.2 Morfometria geométrica.

A morfometria compreende o estudo da variação de forma em relação ao tamanho de regiões anatômicas homólogas e como suas variáveis se relacionam (MORAES, 2003; ROHLF et al, 1993). Do ponto de vista evolutivo forma e tamanho refletem a função da estrutura, assim a morfometria fornece subsídios para elucidar relações taxonômicas, populacionais, evolutivas ou de fenômenos específicos como especiação ou relações entre espécies crípticas (; MORAES, 2003, FORNEL, 2005).

A partir do início do ano 1990 uma nova abordagem morfométrica surgiu procurando implementar técnicas utilizadas anteriormente, a nova ferramenta possibilita avaliar as estruturas anatômicas de forma abrangente quando comparada com metodologias tradicionais, (ROHLF et al, 1993; MORAES, 2003). A morfometria geométrica avalia as variações de forma e tamanho por meio de técnicas multivariadas que dentre outros fatores possibilita a visualização gráfica dos dados obtidos, a técnica é avalia simultaneamente vários níveis de variação e covariação entre as mensurações (MORAES, 2003). Em termos gerais a utilização de técnicas multivariadas para o estudo taxonômico só foi possível a partir do aumento da capacidade computacional bem como o acesso a programas. (MORAES, 2003; GURGEL, 2008).

A realização da técnica e a qualidade dos resultados dependem de vários fatores que envolvem um estudo inicial a estrutura a ser analisada e subsequentemente a determinação dos marcos anatômicos ou pontos de referências, que são escolhidos a partir de estruturas homólogas. Os marcos anatômicos são pontos referenciais que quando traçados destinam-se a corresponder de forma completa a estrutura investigada oferecendo informações sobre a conformação geométrica, em triatomíneos como exemplo, normalmente são analisados asas, cabeças, ovos e ninfas (; MONTEIRO & REIS, 1999; DUJARDIN et al, 2007; GURGEL, 2008; GALVÃO, 2014).

Dujardin *et al* (2014) citam que as características como rigidez e simetria são atributos essenciais para estudo da morfometria geométrica como, por exemplo, asas de alguns artrópodes, tais atributos facilitam a escolha e a coleta dos pontos referenciais. As asas são adequadas para este tipo de estudo por apresentarem características ideias como bidimensionalidade e a ampla quantidade de marcos anatômicos (BOOKSTEIN, 1991). Vários trabalhos utilizam as asas para investigar relações taxonômicas e sistemáticas

(JARAMILLO et al, 2002; VILLEGAS et al, 2002; GURGEL et al, 2011; MÁRQUEZ et al, 2011).

Segundo Bookstein (1991), a utilização de marcos anatômicos é uma maneira eficaz de estudar as formas dos organismos e suas variações entre diferentes indivíduos. Os marcos distribuídos em um plano geométrico originam um sistema referencial ou sistema de coordenadas cartesianas, que permitim a observação tridimensional da região anatômica de maneira aproximada a forma real do organismo.

Para o estudo baseado em marcos anatômicos, um dos primeiros passos é eliminar o fator tamanho da estrutura estudada de cada indivíduo, ou seja, padronizar uma medida geral que representa o consenso de todas as medidas individuais, dessa maneira é possível focar nas diferenças inerentes a cada população (MONTEIRO & REIS, 1999; MORAES, 2003). Segundo, Moraes, (2003) a padronização do fator tamanho é resultante de uma medida multivariada de tamanho, denominada Tamanho do Centroide.

O Tamanho do Centroide é calculado para cada espécime e os mesmos são igualados, facilitando a comparação da região estudada. O centroide é calculado a partir da raiz quadrada do somatório dos quadrados das distâncias entre cada ponto de referência e o centro de massa ou centroide (VILLAGAS et al, 2002; MORAES, 2003; DUJARDIN et al, 2007**)**.

O estudo dos triatomíneos por meio de morfometria geométrica é relativamente novo e vem sendo aplicado como complemento de estudos taxonômicos, principalmente por preservar o arranjo espacial da estrutura estudada, reduzindo as diferenças de crescimento normalmente relacionadas a fatores ambientais (VILLEGAS et al, 2002; GURMIEL et al, 2003; SCHACHTER-BROIDE, 2004; DUJARDIN et al, 2007; GURGEL, 2008; MÁRQUEZ et al, 2011).

Em resumo a morfometria geométrica objetiva detectar e descrever padrões estatísticos multivariados, ou seja, com mais de duas variáveis, e sua eficácia está relacionada à escolha da região anatômica analisada e às variáveis que serão utilizadas para representar padrões espaciais e estruturais (BOOKSTEIN, 1991; MONTEIRO & REIS, 1999; MORAES, 2003).

1.7 Sistemática molecular.

A relações filogenéticas entre as espécies de triatomíneos estão sendo compreendidas, e todo entendimento é sustentado por várias abordagens, primeiramente a identificação desses vetores esteve fundamentada em padrões morfológicos, morfométricos e biológicos, mas considerando a enorme diversidade da subfamília, essas podem gerar inconclusões a respeito das relações filogenéticas (LENT & WYGODZINSKY, 1979; DUJARDIN et al, 1999; ROSA et al, 2003, 2005).

Os estudos fundamentados em biologia molecular oferecem novas perspectivas a respeito das relações sistemáticas, assim justifica-se a sua aplicação ao estudo epidemiológico. De acordo com Galvão (2014) a técnica pode influenciar positivamente no controle vetorial bem como na vigilância, reflexo da identificação precisa. A diagnose específica é essencial como metodo para o desenvolvimento de estratégias de controle vetorial (LENT & WYGODZINSKY, 1979; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2005).

Os estudos filogenéticos utilizam marcadores moleculares para avaliar a variabilidade genética (CARCAVALLO et al, 2000; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2005; CERETTI et al, 2008; GARDIM et al, 2014). Os genes mitocondriais Citocromo Oxidase l (CO1) e Citocromo B (*Cyt b*) fazem parte de um grupo de marcadores genéticos utilizados nos estudos filogenéticos de diversos organismos (HILL, 1987). O DNA mitocondrial (DNAmt) possui um código genético exclusivo, ligado a herança materna. Estudos moleculares baseados em segmentos DNAmt possibilitam uma melhor compreensão de relações filogenéticas (FOLMER et al, 1994; GARDIM et al, 2014) O DNAmt não passa por eventos de recombinação, apresentando uma taxa de mutação relativamente maior que o DNA nuclear (HILLS, 1987; MONTEIRO et al, 2003; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2005).

O DNA nuclear (DNAn) apresenta regiões utilizadas nos estudos filogenéticos com triatomíneos (GALVÃO, 2014). A região gênica nuclear não codificante, Espaçador Inteno Trascrito (ITS, do inglês *Internal Transcribed Spacer*), como exemplo, é amplamente utilizada em estudos de relações filogenéticas de linhagens evolutivamente recentes, assim o sequenciamento de regiões gênicas variáveis assumem importância no estudo de relações com espécies crípticas (HILL & DIXON, 1991; BARGUES et al, 2002).

No DNA ribossomal os fragmentos ITS1 e ITS2 localizados entre as regiões 18S e 28S são altamente conservadas possuem uma grande número de cópias (BARGUES & MAS-COMAS, 1997; MARCILLA et al, 2002). Os fragmentos do DNAr nuclear, ITS1 e ITS2 normalmente são utilizados para estudos de relações filogenéticas entre gêneros ou em relações intra e interespecíficas (HILLS, 1991; BARGUES et al, 1997; GALDINO, 2010).

6. CONCLUSÕES.

Por meio da combinação de dados morfológicos, morfométricos e moleculares pode-se maximizar o conhecimento a respeito das relações filogenéticas e taxonômicas do subcomplexo *T. sordida*.

Os estudos morfológicos da genitália externa feminina por MEV e do estudo histológico do exocório de ovos possibilitaram a identificação das quatro espécies do subcomplexo *T. sordida*.

O processo mediano do pigóforo e a morfologia do exocório por MEV não discriminaram as quatro espécies.

Os estudos morfométricos de ovos revelaram a variabilidade das quatro espécies.

A morfometria geométrica das asas foi útil para discriminação específica.

Os dados moleculares mostraram quais genes são úteis para caracterização específica , da mesma maneira que revela a divergência genética dentro do grupo.

Dadas as dificuldades de identificação específica das espécies do subcomplexo *T. sordida*, o presente trabalho contribui para dignose especifica e filogenia da subfamília Triatominae.

Apoio

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

REFERÊNCIAS

ABAD-FRANCH, F; MONTEIRO, F.A. Molecular research and the control of Chagas disease vectors. **An Acad Bras Ciênc**. v. 77, n.3, p.437-454, 2005.

ABALOS J.W; WYGODZINSKY, P. Las Triatominae argentinas (Reduviidae, Hemiptera). Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina. 1951. n. 601, p.179. (Monograph N°. 2.)

ACTIS, A.S; TRAVERSA, O.C, CARCAVALHO, R.U. Estudios taxonómicos sobre el genero *Triatoma* Laporte mediante la electrophoresis de la linfa. **An Esc Nac Cienc Biol**. v.13, n. 1-4, p. 97-106, 1964.

ALEVI, K.C.C.; RAVAZI, A; MEDONÇA, V.J; ROSA; J.A; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V. Karyotype of *Rhodnius montenegrensis* (Hemiptera, Triatominae). **Gen Mol Res**, v.14, n.1, p. 222-226, 2015.

ALONSO-VEGA, C; BILLOT, C; TORRICO, F. Achievements and Challenges upon the Implementation of a Program for National Control of Control of Congenital Chagas in Bolivia: Results 2004-2009. **PLOS Negl Trop Dis**. v.7, n. 7, e2304. doi:10.1371/journal.pntd.00023042013.

ANDRADRE, D.V; GOLLOB, J; WALDEREZ O. DUTRA. Acute Chagas disease: New global challenges for an old neglected disease. **PLOS Negl Trop Dis**. v.8. n.7, e3010. Jul 2014.

ANEZ, N; CRISANTE, J; ROJAS, A; DÁVILA, D. Brote de enfermedad de Chagas agudo de posible transmisión oral en Mérida, Venezuela. **Bol Mal Salud Amb**. Maracay, v.53, n.1, Jan 2013.

ARGUELLO, N.V; MARKARINI, R.M; CIVITTA, G.L; MISCHIS, C. Algunos parámetros poblacionales de *Triatoma guasayana* Wygodzinsky & Abalos, 1941, bajo condiciones de laboratorio (Reduviidae, Triatominae). **Rev Bras. Zool**, Curitiba, v.1, n.3, p. 169-175, 1982.

BARATA, J.M.S. Aspectos morfológicos de ovos de Triatominae. II. Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). **Rev Saúde Pública**, v.15, p. 490-542, 1981.

BARATA, J.M.S; ROSA, J.A; BARATA E.M.A; UBIRNATTI. Aspectos macroscópicos e exocoriais de ovos em oito gêneros da subfamília Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). **Rev. Soc Bra. Med Trop**. v.26, Suppl 2, p.95-96, 1993.

BARATA, J.M.S. Macroscopic and exocorial structures of Triatominae eggs (Hemiptera, Reduviidae). In: Carcavallo, R.U.; Galíndez-Girón, I.; Jurberg, J.; Lent, H. (eds.). **Atlas of Chagas disease vectors in the Americas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998. v.2, p.409-448.

BARGUES, M.D; MARCILLA, A; DUJARDIN, J.P; MAS-COMA, S. Triatominae vectors of *Trypanossoma cruzi*, a molecular persperctive based on nuclear ribosomal DNA makers. **Trans R Soc Tropl Med Hyg**. v. 96, Supl. 1, p. S159-S164, 2002.

BÉRENGER, J.M; SIGWALT-PLUOT, D. *Rhodnius amazonicus* Almeida, Santos & Sposina, 1973, Bona Species, Close to *R. pictipes* Stål, 1872 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Osw Cruz,** Rio de Janeiro, v. 97, n.1, p. 73-77, 2002.

BOOKSTEIN, F.L. **Morphometric tools for landmark data**: geometry and biology. Cambridge: Camb Univ Press, 1991. 455 p.

CANALE, D.M; CECERE, M.C; CHUIT, R. Peridomestic distribution of *Triatoma garciabesi* and *Triatoma guasayana* in north-west Argentina. **Med. Vet. Entomol**, v.14, n.4, p. 383-390, 2000.

CARCAVALLO, R.U; CICHERO, J.A; MARTÍNEZ, A; PROSEN, A.F; RONDEROS, R. Una nueva espécie Del gênero *Triatoma Laporte* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Seg. Jorn. Entomoepidemiol. Argentinas, 2, p.43–48, 1967.

CARCAVALLO, R.U; JUSTUS, N.S; MARTÍNEZ, A.M. Descripición de las ninfas de II, III, y IV estadio de *Alberprosenia goyovargasi* Martínez & Carcavallo, 1977 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Observaciones con microscopia eletrônica de barrido. **Bol Dir Malariol San Amb**. v.18, p.131-132, 1978.

CARCAVALLO, R.U; JURBERG, J. *T. baratai* sp.n. do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Entomol Vectors**. v. 7, p. 373-387, 2000.

CARCAVALLO, R.U; JURBERG, J; LENT, H; NOIREAU, F; GALVÃO, C. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. **Entomol Vectors**. v. 7, Suppl. 1, p. 1–99, 2000.

CATALÁ, S.S; CROCCO, L.B; MUÑOZ, A; MORALES, G; PAULONE, I; GIRALDEZ, E; CANDIOTI, C; RIPOL, C. Entomological aspects of Chagas' disease transmission in the domestic habitat, Argentina. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 216-222, 2004.

CAVALCANTI, L.P.G; ROLIM, D.B; NETO, R.J.P; VILAR, D.C.L.V; NOGUEIRA, J.O.L; POMPEU, M.L; TEXEIRA, M.P; SOUZA, A.Q. Microepidemia de doenças de Chagas aguda por transmissão oral no Ceará. **Cad. Saúde. Coletiva**, v. 17, n.4, p. 911–921, 2009.

CAVALLO, M.J; AMELOTTI, I; GORLA, D.E. Invasion of rural houses by wild Triatominae in the arid Chaco. **J Vector Ecol**.v. 41, n. 1, p. 97–102, 2016.

CERETTI, J.W; VENDRAMI, D.P; Gil, J.M; BARATA, J.M.S; MARELLI, M.T. Análise das relações taxonômicas e sistemáticas entre espécies de triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) de colônias mantidas pelo Serviço Especial de Saúde de Araraquara, inferida de seqüências do 16S rDNA mitocondrial. **Rev. Bras. Entomol**, São Paulo, v. 52, n. 3, Setembro, 2008.

CHAGAS, C. Nova tripanossomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruz* n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.1, p. 159-218, 1909.

COSTA, J; DORNAK, L.L; ALMEIDA, C.E; PETERSON, T. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complexa t presente and under scenarios of future climate conditions. **Parasit Vectors**, v.7:238, 2014. DOI: 10.1186/1756-3305-7-238.

COURA, J.R; VINÃS, P.A; JUNQUEIRA, C.V. Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. **Mem Inst Osw Cruz**. v.109, n.7, p. 856–862, Novembro, 2014.

DIAS, J.C.P. Aspectos políticos em doença de Chagas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.28, supl.3, p. 41-45, 1995.

DIAS, J.C.P; COURA, JR; org. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral**. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ, 1997. 486 p.

DIAS, J.C.P; SCHOFIELD, C.J. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 31, n. 4, p. 373-383,1998.

DIAS, J.C.P; PRATA, A; SCHOFIELD, J. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. **Rev Soc Bras Med Trop.**, v. 35, n. 6, p. 669-678, Decembro, 2002 .

DIAS, J.C.P. Doença de Chagas: sucessos e desafios. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.10, p. 2020-2021, 2006.

DIAS, J.C.P. Human Chagas Disease and Migration in the Context of Globalization: Some Particular Aspects. **J Trop Med,** 2013 (2013), Article ID 789758, 9 p. http://dx.doi.org/10.1155/2013/789758

DIAS, J.C.P. Evolution of Chagas Disease Screening Programs and Control Programs. **Global Heart,** v. 10, n. 3, p. 193-202. 2015. doi: 10.1016/j.gheart.2015.06.003.

DIOTAIUTI L. O risco de domiciliação de novas espécies de triatomíneos. **Rev Soc Bras Med Trop.** v.33, n.2, p. 31-35, 2000.

DIRZO, R; YOUNG, H.S; GALETTI, M; CEBALLOS, G; ISAAC, N.J.B; COLLEN, B. Defaunation in the Anthropocene. **Science**. v. 345, n.6195, p.401-406, 2014.

DUJARDIN, J.P. Introducción a la morfometria con énfasis en Triatominae y Phlebotominae. European Community and Latin American Network for Research on the Biology and Control of Triatominae/ECLAT. 1999. Disponível em: http://eclat.fcien.edu.uy.

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. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n.4, p. 565-569, 1999.

DUJARDIN, J.P. **Los vectores de La Enfermedad de Chagas**. Bruxelles (Belgique): Académie Royale des Sciences d'Outre Mer, Clas dês Scie Nat et Méd, nouv. sér; 25, 2002. 189 p.

DUJARDIN, J.P BEARD, C.B; RYCKMAN, R. The revalance of wing geometry in entomological surveillance of Triaminae, vectors of Chagas disease. **Infect Genet Evol**. v.7, n. 2, p.161-167, 2007. Epub 2006 Sep 1.

DUJARDIN, J.P; KABA, D; SOLANO, P; DUPRAZ, M; MCCOY, K.D; JARAMILLO-O, N. Outline-based morphometrics, an overlooked method in arthropod studius. **Infect Genet Evol**, v.28, p. 704-714, 2014. doi: 10.1016 / j.meegid.2014.07.035. Epub 2014 09 de agosto.

FERREIRA, R.T.B; BRANQUINHO, M.R; LEITE, P.L. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária. **Rev. VISA em Debate**, v.2, n.4, p. 4-11, 2014.

FORATTINI, O. P. Biogeography, origin, and distribution of triatominae domiciliarity in Brazil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.14, n.3, p. 265-299, 1980.

FORNEL, R. **Estudo da variação morfológica craniana entre quatro blocos populacionais de *Ctenomys lami* (Rondentia, Ctnomyidae) através de morfometria geométrica**. Dissertação (Mestrado). Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

GALDINO, A. S.; LIMA, J. P.M. S.; ANTUNES PANARARI, R. et al. Caracterização molecular de acessos de Cratylia argentea e sua relação filogenética com outras leguminosas. **Pesq. Agropec. Bras**; Brasília, v. 45, n. 8, p. 846-854, 2010.

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

GALVÃO, C; JUBERG, J; CARVALHO, R.U; SEGURA, M.A.C; GIRON, G.I; CASAS, S.C.C. Distribuição Geográfica e Dispersão Alti-latitudinal de Alguns Gêneros e Espécies da Tribo *Triatomini Jeannel*, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz,** Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, p. 33-38, 1998.

GALVÃO, A.C. A sistemática dos Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de De Geer ao DNA. **Entomol. Vectors**, Rio de Janeiro, v.10, n.4, p. 511-530, 2003a.

GALVÃO, C; CARCAVALLO, R; ROCHA, D.S; JURBERG, J. Checklist of the current valid species of the subfamily *Triatominae Jeannel*, (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa**, 202, p. 1-36, 2003b.

GALVÃO, C (org). **Vetores da doença de chagas no Brasil.** Curitiba: Soc Bra de Zoo, Zoo: guias e manuais de identificação series, 2014. 289 p.

GARDIM, S; ROCHA, C.S; ALMEIDA, C.E; TAKIYA, D.M; SILVA, M.T.A; AMBRÓSIO, D.L; CICARELLI, M.B, ROSA, J.A. Evolutionary relationships of the *Triatoma matogrossensis* subcomplex the endemic *Triatoma* in central-western Brazil, based on mitocondrial DNA sequences. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v.89, n.4, p. 766–774, 2013.

GARDIM, S; ALMEIDA, C.E; TAKIYA, D.M; OLIVEIRA, J; ARAÚJO, R.F, CICARELLI, R.M.B; ROSA, J.A. Multiple mitochondrial genes of some sylvatic Brazilian Triatoma: Non-monophyly of the *T. brasiliensis* subcomplex and the need for a generic revision in the Triatomini. **Infect Genet Evol**., p.74-79, 2014. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.01.024. Epub 2014 Feb 4.

GASCON, J; BERN, C; PINAZO, M.J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta Trop**, v.115, p. 22–27, 2010.

GONÇALVES, T.C.M, TEVE-NEVES, S.C; SANTOS-MALLET, J.R; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE.A.N; LOPES, C.M. *Triatoma jataí* sp. nov. in the state of Tocantins, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.108, p. 429–437, 2013.

GONÇALVEZ-BRITEZ, N.E; CARRASCO, H.J; PURROY, C.E.M; FELICIANGELI, M.D; MALDONADO, M; LÓPEZ, E; SEGOVIA, M.J; ARIAS, R.J. Genetic and morphometric variability ofTriatoma sordida (Hemiptera: Reduviidae) from the eastern and western regions of Paraguay. **Frontiers Public Health Epid**. v.2, Article 149, 2014. 9p.

GORLA, D.E; JURBERG, J; CATALÁ, S.S; SCHOFILD, C.J. Systematics of *Triatoma sordida, T. guasayana and T. patagonica* (Hemiptera, Reduviidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 3, p. 329-385, Setembro, 1993.

GUMIEL, M; CATALÁ, S; NOIREAU, F; ARIAS DE ROJAS, A; GARCIA, A; DUJARDIN, J.P. Wing geometry in *Triatoma infestans* (Klug) and *T. melanosoma* Martinez. Olmedo e Carcavallo (Hemptera: Reduvidae). **Syst Entomol,** v.28, p. 173-179, 2003.

GURGEL, G.R. **Filogeografia, morfometria e distribuição geográfico potencial de populações de *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduvidae) no Brasil**. Tese (Doutorado). Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

GURGEL, G. R; FERREIRA, J.B.C; A.F. ROSA; BAR, M.E; GALVÃO, C. Geometric morphometrics and ecological niche modelling for delimitation of near-sibling triatomine species. **Med Vet Entomol**, v.25, p. 84-93, 2011.

HEYMANN, D.L; CHEN, L; TAKEMI, K.T; FIDLER, D.P; TAPPERO, J.W; THOMAS, M. J; FRIEDEN, T.R; NISHTAR, S; KALACHE, A; OLLIARO, P.L; TORREELE, E; HORBY, P; GOSTIN, L.O; NDOMONDO-SIGONDA, M; CARPENTER, D; RUSHTON, S; LILYWHITE, L; DEVKOTA, B; KOSER, R; YATES, R; DHILON, R.S; RANNAN-ELIYA,R. Global health security: the wider lessons from the west African Ebola virus disease epidemic. **Lancet,** v.385, p. 1884–1890, 2015.

HILLS, D.M. Molecular versus morphological approaches to systematics. **Ann Rev Ecol Syst,** v.18, p. 23–42, 1987.

HILLS, D.M; DIXON, M.T. Ribossomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. **Quart Rev Biol**, v. 66, n. 4, p. 411-453, Dezembro, 1991.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v.39, p.783-791, 1985.

FOLMER, O; BLACK, M; HOEH, W; LUTZ, R; VRINJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Mol Mar Biol Biotechnol**, v, 3, n. 5, p. 294-299, 1994.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symp Ser**. v.41, p. 95-98, 1999.

HUELSENBECK, J.P.; ROQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic tress. **Bioinformatics**, v.17, p. 754-755, 2001.

HYPSA, V; TIETZ, D.F; ZRZAVÝ, J; REGO, R.O.M; GALVÃO, C; JUrBERG, J. Philogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduvidae) molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. **Mol Physiol Evol**, v.23, p. 447–457, 2002.

IBARRA-CERDEÑA, C.N; CORDERO-SÁNCHEZ, V; TOWNSEND, P.A; RAMSEY, J.M. Ecology of Norty American Triatominae. **Acta Trop**, v.110, n.2-3, p.178-186, 2009.

IMAI, K; MAEDA, T; SAYAMA, Y; OSA, M; MIKITA, K; KURANE, I; MIYAHIRA, Y; KAWANA, A; MIURA, S. Chronic Chagas disease with advanced cardiac complications in Japan: Case report and litarature rewiew. **Parasitol Int**, v.64, p. 240–242, 2015

JARAMILLO, O.N; CASTILLO, D; WOLF, E.M. Geometric morphometric differences between Panstrongylus geniculatus from field and laboratory. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 667-673, 2002.

JURBERG, J; LENT, H; GALVÃO, C. **The male genitalia and its importance in taxonomy**. **Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998.

JURBERG, J; GALVÃO, C; LENT, H; MONTEIRO, F; LOPES, M.C; PANZERA, F; PÉREZ, R. Revalidação de *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Cichero, Martínez, Prozen & Ronderos, 1967 (Hemiptera, Reduviidae). **Entomol Vectors**, v.5, n.3, p. 107-122, 1998.

JURBERG, J; GALVÃO, C; NOIERAU, F; CARCAVALLO, R.U; ROCHA, D.S; LENT, H. Uma iconografia dos triatomíneos (HEMIPTERA: REDUVIIDAE). **Entomol Vectors**,v.11, n.3, p. 457-494, 2004.

JURBERG, J; ROCHA, D.S; GALVÃO, C. *Rhodnius zeledoni sp*. nov. afim de *Rhodnius paraensis* Sherlock, Guittonand Miles, 1977 (Hemíptera, Reduviidae, Triatominae). **Biota Neotrop**., v.9, p. 123–128, 2009.

JURBERG, J; CUNHA, V; CAILLEAUX, S; RAIGORODSCHI, R; LIMA, M.S; ROCHA, D.S; MOREIRA; F.F.F. *Triatoma pintodiasi* sp. nov.of the *Triatoma rubrovaria* subcomplex (Hemíptera, Reduviidae, Triatominae). **Rev Pan-Am Saúde**, v.4, p. 43–56, 2013.

JUSTI, S.A; RUSSO, C.A.M; MALLET, J.R.S; OBARA, M.T; GALVÃO, C. Molecular Phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidade: Triatominae). **Parasit Vectors**, v. 7:149, 12p. 2014. Disponível em: http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/149.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **J Mol Evol**, v.16, p. 111-120, 1980.

KLINGENBERG, C.P; McINTYRE, G.S. Geometric morphometric of developmental instability: Analyzing pattern of fluctuating asymmetry with Procrustes Methods. **Evolution**, v.52, p.1363-1375, 1998.

KLINGENBERG, C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. **Mol Ecol Resour**, v.11, p. 353-357, 2011.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; JAKOBSEN, I.B.; NEI, M. MEGA 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, software versão 7.0.14. 2015. Molecular biology and evolution, msw054. (Distribuído pelos autores).

LENT, H e JURBERG, J. O gênero *Psammolestes* Bergroth, 1911, com estudo sobre a genitália das espécies (Hemiptera, Triatominae). **Rev Bras Biol**., v.25, n.4, p. 349-376, 1965.

LENT, H e JURBERG, J. Algumas informações sobre Triatoma spinolai Porter, 1934, com estudo sobre a genitália externas (Hemiptera – Reduviidae). **Rev Bras Biol**, v.27, n.3, p. 273 – 288, 1967.

LENT, H; JURBERG, J. O gênero *Rhodnius* com um estudo sobre a genitália das espécies (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Rev Bras Biol**, v.29, p. 487-560, 1969.

LINO.Z. R. J; JUVENTINO, L.J; RAÚL, R;G; ESTIBALIZ, S. Lethal effects of a Mexican *Beauveria Bassiana* (Balsamo) strain against *Meccus pallidipennis* (Stal). **Braz J Microbiol**., v.45, n.2, p. 551–557. 2004.

LOZA-MURGUIA, M; NOIREAU, F. Vectorial capacity of Triatoma guasayana (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) compared with two other species of epidemic importance. **Neotrop Entomol**., Londrina, v.39, n. 5, p. 799-809, 2010.

MARCILLA, A; BARGUES, M.D; RAMSEY, J.M; MAGALLON-GASTELUM, SALAZAR-SCHETTINO, P.M; ABAD-FRANCH, F. The ITS-2 of the Nuclear rDNA as a Molecular Marker for Populations, Species, and Phylogenetic Relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), Vectors Chagas Diseases. **Mol Phylogenet Evol**. v.18, p. 136-142, 2002.

MÁRQUEZ, E; O-JAMILLO, N; PALACIO-GÓMEZ, A; DUJARDIN, J.P. Morphometric and molecular differentiation of a Rhodnius robustus-like form from R. robustus Larousse, 1927 and R. prolixus Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). **Acta Trop**, v.120, p.103–109, 2011.

MONTEIRO, L; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. São Paulo: Holos Ed., 1999. 188 p.

MONTEIRO, F.A.; BARRET, T.V.; FITZPATRICK, S.; CORDON-ROSALES, C.; FELICIANGELI, D.; BEARD, C.B. Molecular phylogeography of the Amazonican Chagas disease vectors Rhodnius Prolixus and R. robustus. **Mol Ecol**., v. 12, 4, p. 997-1006, 2003.

MONTEIRO, F.A; ABAD-FRANCH, F. Molecular research and control of Chagas disease vectors. **An Acad Bras Ciênc**., v.77, n.3, p. 437-454, 2005.

MORAES, D.A. **A Morfometria Geométrica e a "Revolução na Morfometria": localizando mudanças na forma dos organismos**. São Paulo: USP, Departamento de Biologia, 2003. (Instituto de Biociências, Boletim. A III, n. 3, 2003).

MORETTI, E; BASSO, B; CASTRO, I; PAEZ, M.C; CHAUL, M; BARBIERI, G; FEIJOO, D.C; SARTORI, M.J; PAEZ, R.C. Chagas disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. **Rev Soc Bras Med Trop**., Uberaba, v. 38, n. 1, p. 53-55, 2005.

NOIREAU, F; GUTIERREZ, T; ZEGARRA, M; FLORES, R; BRENIÈRE, F; CARDOZO, L; DUJARDIN, J.P. Cryptic speciation in *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) from Bolivian Chaco. **Trop Med Int Health**., v.3, n.5; p. 364-372, 1998.

NOIREAU; DUJARDIN, J.P. L. Biology of Triatominae. Amer Try Cha Dis. 2010.Não encontrei esta referência nas bases de dados da área médica.

NOYA, B.A; DÍAZ-BELLO, Z; COLMENARES, C; RUIZ-GUEVARA, R; MAURIELLO, L; MUÑOZ-CALDERÓN, A; NOYA, O. Uptade on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela, epidemiological clinical and diagnostic approaches. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.110, n.3, p. 377–386. Maio, 2015.

OBARA, T.M; BARATA, J M S; SILVA, N.N; CERETTI, J.R.W; URBINATTI, P.R, ROSA J.A; JURBERG, J; GALVÃO, C. Estudo de ovos de quatro espécies do género *Meccus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), vetores da doença de Chagas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.102, p. 13-19. 2007.

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. **Rev Soc Bras Med Trop**., Uberaba, v. 44, n. 2, p. 206-212, Abril, 2011.

OLIVEIRA, J; MEDONÇA, V. J; ARAÚJO, R.N; NASCIMENTO, E.L; ROSA. Biological, morphological and morphometric studies of *Triatoma melanoecephala* Neiva & Pinto, 1923 (Hemipetera: Reduviidae: Triatominae). **Zootaxa**, v. 4012, n.3, p. 514–524, Julho, 2015.

PANZERA, F; HORNOS, S; PEREIRA, J; CESTAU, R; CANALE, D; DIOTAIUTI, L; DUJARDIN, J.P; PEREZ, R. Genetic variability and geographic differentiation among three species of triatomine bugs (Hemiptera-Reduviidae). **Am J Trop Med Hyg**. v.57, n.6, p. 732-739, 1997.

PANZERA, F; PITA, S; NATTERO, J; PANZERA, Y; GALVÃO, C; CHAVEZ, T; ARIAS, A.R; TÉLLEZ, L.C; NOIREAU, F. Cryptic speciation in the *Triatoma sordida* subcomplex (Hemiptera, Reduviidae) revealed by chromosomal markers. **Parasit Vectors**, v. 8:485. 2015. DOI 10.1186/s13071-015-1109-6.

PEREIRA, K.S; SCHMIDT, F.L; GUARALDO, A.M.A; FRANCO, R.M.B; DIAS, V.L; PASSOS, L.A.C. Chagas Disease as a Foodborne Illness. **J Food Protect**.,, v. 72, n. 2, p. 441– 446, 2009.

PÉREZ, R; HERNÁNDEZ, M; QUINTEIRO, O; SCVORTZOFF, E; CANALE, D; MÉNDEZ, L; COHANOFF, C; MARTINO, M; PANZERA, F. Cytogenetic analysis of experimental hybrids in species of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). **Genética**., 125, n. 2-3, p. 261–270, 2005.

PITA, S; LORITE, P; NATERRO, J; GALVÃO, C; ALEVI, K.C.C; TEVES, S.C; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V; PANZERA, F. New arrangements on several species subcomplexes of *Triatoma* genus based on the chromosomal position of ribosomal genes (Hemiptera- Triatominae). **Infec Gen Evol**, v.43, p. 225-231, 2016.

POINAR, J.G. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae), the frst fossil evidence of a triatomine-trypanosomatid vector association. **Vector Borne Zoonotic Dis**., v.5, p. 72-81, 2005.

POINAR, J.G. *Panstrongylus hispaniolae* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatomine in Dominicanamber, with evidence of gut flagellates. **Palaeodiversity**, v.6, p. 1–8, 2013.

PORTER, C.H; COLLINS, F.H. Species-diagnostic differences in a ribosomal DNA internaltranscribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera:Culicidae). **Am J Trop Med Hyg**, v.45, p. 271-279, 1991.

PFEILERR, E; BITLER, B.G; RAMSEY, J.M; PALACIOS-CARDIEL, C; MARKOW, T.A. Genetic variton, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *T. recurve* (Hemiptera: Reduvidae: Triatominae), from the Sonoran desert, insect vector os the Chagas disease parasite *Trypanosoma cruzi*. **Mol Phylogenet Evol**., v.41, p. 209-221, 2006.

REBAGLIATI, P; PAPESCHI, A.G; MOLA, L.M; PIETROKOVSKY, S; GAJATE, P; BOTTAZI, V; WISNIVESKEY-COLLI, C. Comparative Meiotic Studies in *Triatoma sordida* (Stål) and *Triatoma guasayana* Wygodzinsky & Abalos (Reduviidae, Heteroptera). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 309-315, Maio, 1998.

RIBEIRO, A.R; MENDONÇA, V.J; ALVES, R. T; MARTINEZ, I; ARAÚJO, R.F; MELLO, F; ROSA, J. *Trypanosoma cruzi* strains from triatomine collected in Bahia and Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev Saúde Pública**, v.48, n.2, 2014.

ROHLF, J; MARCUS, L.F. A revolution in morphometrics. **Trends Ecol Evol**., v. 8, n. 4. p. 129-132, Abril, 1993.

ROHLF, F. Shape Statistics: Procrustes Superimpositions and Tangent Spaces. **J Classif**. v.16, p. 193-223, 1999.

ROSA, J. A.; BARATA, J. M. S.; BARELLI, N. SANTOS, J. L. F. & BELDA NETO, F. M. Sexual distinction between 5th instar nymphs of six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.87, p. 257-264, 1992.

ROSA, J. A; BARATA, J. M. S; CILENCE, M. & BELDA NETO, F. M. Head morfology of 1st and 5th instar nymphs of *Triatoma circummaculata* and *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Rediviidae). **Int J Insect Morphol Embryol**., v.28, p, 363-375, 1999.

ROSA, J.A; BARATA, J.M.S; SANTOS, J. L; CILENSE, M. Morfologia de ovos de *Triatoma circummaculata* e Triatoma rubrovaria (Hemiptera, Reduviidae). **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v.34, n. 5, p.538-542, Outubro, 2000.

ROSA, J.A; JUSTINI, H.G.H; BARATA, M.S.J. Differences in the size of eggshells among three *Pangstrongylus megistus* colonies. **Rev Saúde Pública**., v. 37, n.4, p. 528-530, 2003.

ROSA, J.A; MEDEIROS, M.P; CILENSE, M; BARATA, J.M.S. Morphological study of the thorax of the nymphal instars of *Triatoma arthurnevai* Lent e Martins (Hemiptera, Reduvidae, Tritatominae). **Rev Bras Entomol**., v.49, n.3, p. 289-293, setembro, 2005.

ROSA, J.A; MENDONÇA, V.J; ROCHA, C.A; GARDIN; CILENSE, M. Characterization of the external female genitalia of six species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidade) by scanning electron microscopy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.105, n.3, p. 286-292, Maio, 2010.

ROSA, J.A, ROCHA, C.S, GARDIM, S, PINTO, C.M, MEDONÇA, V.J; FILHO, J.C.R, CARVALHO. Description of *Rhodnius montenegrensis* ssp.n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the state Rondônia Brazil. **Zootaxa**, v. 3478, p. 62–76, 2012.

ROSA, J.A; MENDONÇA, V.J; GARDIM, S; CARVALHO, D.B; OLIVEIRA, J; NASCIMENTO, J.D; PINOTTI, H; PINTO, M.C; CILENSI, M; GALVÃO, C; BARATA, J.M.S., E.O.C; OLIVEIRA, J; NASCIMENTO, J.D; CILENSI, M; ALMEIDA, C.E. Study of

the external female of genitalia of 14 *Rhodnius* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) using scanning electron microscopy. **Parasit Vectors**., v.7:17, 2014. Disponível em: Disponível em: http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/17

ROSSI, J.C.N; DUARTE, E.C; GURGEL, R.C. Factors associated with the occurrence of Triatoma sordida (Hemiptera: Reduviidae) in rural localities of Central-West Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n.2, p.192-200, 2015.

SAMBROOK, J.; FRITSCH E. F.; MANIATIS T. Transfer of DNA from agarose gels to solid supports. In: ----. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 2nd. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. v.2, cap.9, p. 9.34-9.37.

SCHACHTER-BROIDE, J; DUJARDIN, J.P; KILTRON, U; GURTLER, R.R. Spatial structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduvidae) population from Northwestern Argentina using wing geometric morphometry. **J Med Entomol**.,v. 41, n.4, p. 643-649, 2004.

SCHMUNIS, G.A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.102, Suppl 1, p.75-85. 2007.

SCHOFIELD, C. J; JANNIN, J; SALVATELLA, R. The future of Chagas disease control. **Trends Parasitol**, v.22, p. 583-588, 2006.

SCHOFIELD, C. J; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. **Acta Trop**. v.110, p.88-100, 2009.

SILVEIRA, A.C. Os novos desafios e perspectivas futuras do controle. **Rev Soc Bras Med Trop,** Uberaba, v. 44, supl. 2, p. 122-14, 2011.

SILVEIRA, B. E. **Morfometria geométrica comparative de asas de Sacophagidae (*Diptera*) de interesse forense: uma ferramente de indentificação?** Dissertação (Mestrado). Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SOUZA, E. S; ATZINGEN, N.C.B; FURTADO, M.B; OLIVEIRA.J; NASCIMENTO, J.D; VENDRAMI, D.P; GARDIM, S; ROSA, J.A. Description of *Rhodnius marabaensis* sp. n. (Hemiptera, Triatominae) from Pará State, Brazil. **ZooKeys**, v. 621, p. 45–62, 2016.

SOTO, H; TIBADUIZA, T; MONTILLA, M; TRIANA, O; SUÁREZ, D.C; TORRES, M.T; ARIAS, M.T; LUGO, L. Investigación de vectores y reservorios en brote de Chagas agudo por posible transmisión oral en Aguachica, Cesar, Colombia. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.30, n.4, p. 746-756. Abril, 2014.

STAL, C. Monographie der Gattung Conorhinus und Verwandten. **Berliner Entomologische Zeitschrift**, v.3, p. 99-117, 1859.

TARLETON, R.L; GURTLER, R.E; URBINA, J.A; RAMSEY, J; VIOTTI, R. Chagas Disease and the London Declaration on Neglected Tropical Diseases. **PLoS. Negl. Trop Dis**. v.8, n.10,e3219, Outubro, 2014.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Res**, v. 22, n.22, p. 4673-4680, 1994.

USINGER, R.L; WYGODZINSKY, P; RYCKMAN, R. The biosystematics of Triatominae. **Ann Rev Entomol**., v.11, p. 309-330. 1966.

VILLEGAS, J; FELICIANGELI, M.D; DUJARDIN, J.P. Wing shape divergence between *Rhodnius robustus*, from Cojedes (Venezuela) and *Rhodnius robustus* form Mérida (Venezuela). **Infect Genet Evol**. v.2, n.2, p.121-128, 2002.

VISCIARELLI, E; FERRERO, A; COSTAMAGNA, S. Aspectos exocoriales de huevos de *Triatoma patagonica* Del Ponte, 1929 por microscopía electrónica de barrido. **Entomol Vectores**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 653-668, 2004.

WYGODZINSJKY, P; ABALOS, J.W. *Triatoma guasayana* sp. n. (Triatominae, Reduviidae, Hemiptera.) **Semana Medica**, Bueno Aires, v. 56, supl.B 2920, p. 2, 1949.

WHO – World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>. Acesso em: 14 out. 2015a.

WHO – World Health Organization. Neglected tropical diseases. Disponível em < http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/>. Acesso em: 02 fev. 2015b.

WISNIVESKY-COLLI, C; VEZZANI, D; PIETROKOVSKY, S.M; SCURTI, H; IRIARTE, J. Ecological characteristics of *Triatoma patagonica* at the Southern limit of its distribution (Chubut, Argentina). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.98, n.8, p. 1077-1081, 2003.