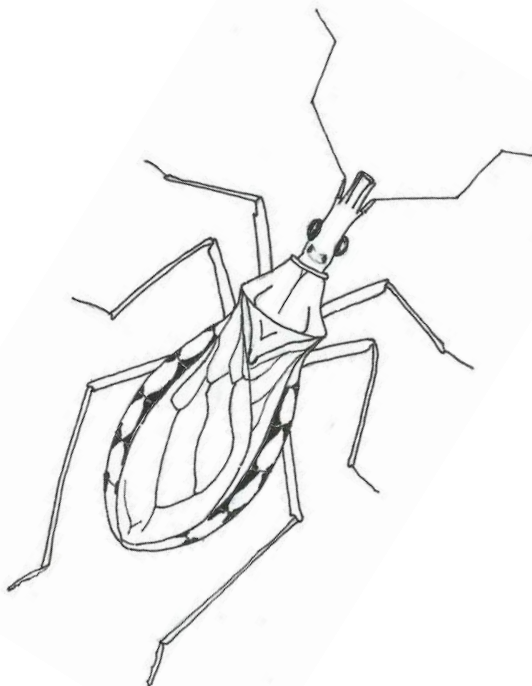


UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO E COMPETÊNCIA
VETORIAL DE *TRITOMA WILLIAMI* GALVÃO, SOUZA E LIMA,
1965**

ROSALINE ROCHA LUNARDI



**Belo Horizonte - MG
2015**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO E COMPETÊNCIA
VETORIAL DE *TRITOMA WILLIAMI* GALVÃO, SOUZA E LIMA,
1965**

ROSALINE ROCHA LUNARDI

Orientador: Dr. Wagner Welber Arrais da Silva

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

**Belo Horizonte - MG
2015**

COLABORADORES

Laboratório de Parasitos e Vetores

Universidade Federal de Mato Grosso

Laboratório de Captura de Imagens

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

SUPORTE FINANCEIRO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso - FAPEMAT

A Aclides Lunardi e Heloisa Rocha Lunardi

*Pelos valores exercidos
e esteio incondicional, dedico.*

PRIMEIROS AGRADECIMENTOS

A **Deus** e aos **mistérios da fé**.

Aos meus pais **Aclides e Heloisa**,

Por uma imensidão de motivos

Aos meus irmãos **Antônio, João, Rafael e Daniel** (*in memoriam*) e, em extensão, **Glaucia, Soraya, Heloisa e Valéria**. Aos meus sobrinhos **Thais, Isadora, Maria Paula, Enzo, Hallel e Helena**.

Porque uma família ampliada perpetua-se em amor, fraternidade e existência.

As minhas irmãs **Débora e Ana Miriam**

Pelos exemplos de persistência e fé.

Aos amigos e colegas de jornada

Queli Lisiane Castro Pereira,

Compartilhar tornou mais simples e, ao fim, até divertido.

Maurício Guedes

Pela serendipidade,

que traz signos e significados que guardo na memória.

Às colegas de LAPAV

Letícia Pinho Gomes e Thais Peres Câmara

Pelo interesse, pela responsabilidade e companhia.

Por fim, mas não por menos gratidão, ao **Wagner Welber Arrais da Silva**, pela orientação e porque o aprendizado e o conhecimento nem sempre vem do instruir, mas do desafiar.

AGRADECIMENTOS FINAIS

Ao Comandante **Hedemilson de Jesus Clarim** e aos militares do DTCEA-BW, em especial **Luz, Barbosa e Rogério**, pela colaboração essencial e permanente, para o estudo de Triatomíneos e na divulgação de conhecimentos.

Ao **Lucas**, do Laboratório de Captura de Imagens da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por sua presteza, sempre.

Ao **Hugo A. Benitez**, pela valiosa colaboração em morfometria.

Aos membros da banca avaliadora, Dra. Fabiana Morandi Jordão, Dr. Wesley Oliveira de Sousa, Dr. Maurício Roberto Viana Sant'Anna e Dr. Marcos Horácio Pereira, pelas contribuições essenciais. Da mesma forma, agradeço as sugestões da Dra. Rita de Cássia Moreira de Souza.

A todos aqueles que por hora não nomino por lapso de memória, mas não de gratidão.

"But there is another reason for studying the evolutionary relationships of Triatominae, a reason I have not mentioned. It is this: To know these things is to know more about the natural world, and to satisfy a basic urge of humans - curiosity. And that, by itself, is good. As the English poet A. E. Housman wrote more than a century ago, "Let a man acquire knowledge, not because it is useful or ornamental... but because it is knowledge and therefore good for a man to acquire" .

(Schaefer, 2003)

SUMÁRIO

Lista de ilustrações	IX
Lista de Tabelas	X
Lista de abreviaturas e siglas	XI
Resumo	XII
Abstract	XIII
1 INTRODUÇÃO	
1.1 Importância e classificação dos triatomíneos	15
1.2 Desenvolvimento dos triatomíneos	18
1.3 Distribuição dos triatomíneos	18
1.4 Triatomíneos no Brasil	20
1.5 Potencial sinantrópico	21
1.6 Plasticidade fenotípica	22
1.7 Potencial Vetorial	24
2 JUSTIFICATIVA	26
3 OBJETIVOS	28
4 METODOLOGIA	
4.1 Local de estudo	30
4.2 Captura dos triatomíneos	31
4.3 Manutenção dos triatomíneos	31
4.4 Avaliação da competência vetorial: hematofagia e da defecação	32
4.5 Plasticidade Fenotípica	
4.5.1 Plasticidade de desenvolvimento pós-embrionário	33
4.5.1 Plasticidade morfológica	33
4.6 Tratamento Estatístico	34
5 RESULTADOS	
5.1 Desenvolvimento Pós-embrionário	37
5.2 Hematofagia	39
5.3 Padrão de dejeções	42
5.4 Morfometria geométrica	43
6 DISCUSSÃO	
6.1 Desenvolvimento pós-embrionário e competência vetorial	49
6.2 Plasticidade Morfológica	56
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
8 PERSPECTIVAS	62
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXO	81
Lunardi RR, Gomes LP, Câmara TP, Arrais-Silva WW 2015. Life cycle and vectorial competence of <i>Triatoma williami</i> (Galvão, Souza e Lima, 1965) under the influence of different blood meal sources. <i>Acta Trop.</i> 149: 220–226	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Classificação sistemática da subfamília Triatominae	17
Figura 1	Imagem da área urbana de Barra do Garças-MT	30
Figura 2	Marcos anatômicos da cabeça de <i>Triatoma williami</i>	34
Figura 3	Representação linear (<i>wireframe</i>) da variação da forma da cabeça em relação a configuração média, de acordo com a fonte alimentar de <i>T. williami</i> .	44
Figura 4	Análise de variáveis canônicas da forma da cabeça, segundo o sexo e a fonte alimentar de <i>T. williami</i> .	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tempo de desenvolvimento (mediana/1º e 3º quartis), em dias, e número de repastos por estágio (mediana/1º e 3º quartis), de acordo com a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	38
Tabela 2	Período de jejum espontâneo pré e pós-ecdise (mediana/1º e 3º quartis), em dias, de acordo com a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	38
Tabela 3	Mortalidade proporcional de acordo com o estágio ninfal, segundo a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	39
Tabela 4	Tempo de início do repasto e tempo total de repasto, em minutos (mediana / 1º e 3º quartis quartis), por estágio, segundo a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	40
Tabela 5	Peso ingerido, ganho de peso proporcional e taxa de ingestão (mediana / 1º e 3º quartis quartis), por estágio, segundo a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	41
Tabela 6	Frequência de defecações durante o repasto e no período de 10 minutos após o repasto, em percentil, por estágio, segundo a fonte alimentar de <i>T. williami</i>	42
Tabela 7	ANOVA Procrustes do Tamanho Centróide e da Forma de <i>Triatoma williami</i> , segundo sexo e fonte alimentar	46
Tabela 8	Reclassificação dos indivíduos (Validação Cruzada), de acordo com o sexo e a fonte alimentar, após a análise multivariada das funções discriminantes de forma e tamanho da cabeça de <i>Triatoma williami</i>	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE	Grupo alimentado em ave
CP	Componente principal
CS	Tamanho centróide
CVA	Análise de Variáveis Canônicas
DTCEA-BW	Destacamento de Controle do Espaço Aéreo - Barra do Garças
GP	Ganho de peso proporcional
MAM	Grupo alimentado em mamífero
N (1,2,3,4 e 5)	Estádio ninfal (1,2,3,4, e 5)
PCA	Análise de Componentes Principais
PESA	Parque Estadual da Serra Azul
PF	Peso final
PI	Peso inicial
PSA	Área de Proteção Ambiental Pé da Serra Azul
VC	Variáveis Canônicas

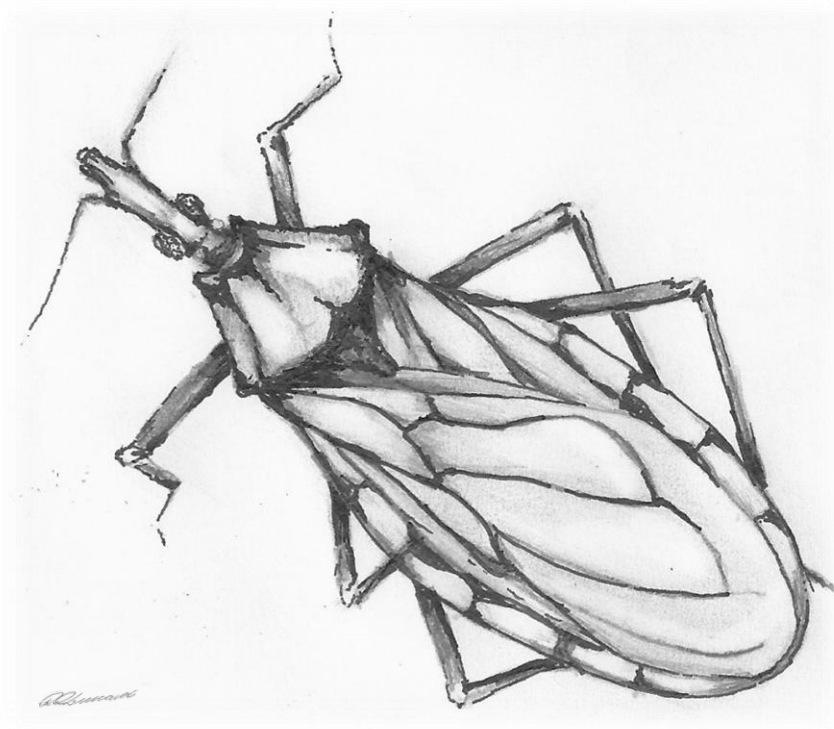
RESUMO

Triatoma williami tem sido encontrado em áreas urbanas do Cerrado brasileiro naturalmente infectada pelo *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da Doença de Chagas, a principal causa de morbimortalidade na América do Sul e Central. Embora historicamente este inseto tem sido considerado uma espécie silvestre, a possibilidade de domiciliação do *T. williami* aumenta o risco da transmissão vetorial do *T. cruzi*. As estratégias de controle da transmissão vetorial por espécies silvestres baseiam-se no conhecimento das fontes alimentares, dos ecótopos naturais e dos aspectos biológicos, que em conjunto permitem avaliar a competência vetorial do triatomíneo. Assim, este estudo descreveu, pela primeira vez, a plasticidade fenotípica do *T. williami*, sob a influência de duas fontes alimentares diferentes e, ainda, avalia a competência vetorial da espécie. A plasticidade fenotípica foi avaliada através das características do ciclo de desenvolvimento pós-embriônico e dos padrões alimentares e de defecação. A plasticidade morfológica foi analisada através da abordagem do tamanho isométrico e da forma dos indivíduos adultos. O desenvolvimento de dois grupos, com 100 triatomíneos cada, foi seguido em todas as fases ninfais e fase adulta. Cada grupo foi exposto à uma fonte alimentar exclusiva: mamífero ou ave. O desenvolvimento de ovo a adulto em ambos os grupos foi similar, exceto pelos curtos estágios de N3 e N4 de triatomíneos alimentados em mamíferos. O grupo alimentado em aves precisou de mais repastos para sofrer as ecdises e teve a maior mortalidade acumulada em estágios ninfais. Houve diferença marcante na forma da cabeça do *T. williami*, tanto em relação ao sexo quanto à fonte alimentar. Em ambos os grupos fêmeas foram maiores que os machos e os insetos alimentados em aves mostraram cabeças mais afiladas. Já o tamanho centróide das cabeças mostrou diferenças associadas ao sexo, mas não à fonte alimentar. Embora o tempo para a defecação dos adultos não tenha sido similar ao de espécies eficientes vetoras do *T. cruzi*, os resultados sugerem que *T. williami* no terceiro e quinto estágios ninfais tem competência vetorial. A variação morfológica do *T. williami* teve alta plasticidade de forma associada à fonte alimentar, apesar da estase no tamanho. O *T. williami* apresentou um grau de plasticidade fenotípica similar à de espécies secundárias, e este atributo pode facilitar os processos de sinantropia.

ABSTRACT

Triatoma williami has been found in urban areas of the Brazilian Cerrado naturally infected with *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas' disease, the leading cause of morbidity and mortality in South and Central America. Although historically this insect has been considered a sylvatic species, the possibility of domiciliation by *T. williami* increases the risk of vector transmission of *T. cruzi* by this species. Control strategies of vector transmission by wild species are based on knowledge of food sources, natural ecotopes and bionomic aspects, which together allow the evaluation of vector competence in triatomines. This study describes, for the first time, the phenotypic plasticity of *T. williami* under the influence of two blood meal sources and also evaluates the vectorial potential of this species. The phenotypic plasticity was evaluated through the study of the development cycle, feeding and defecation patterns. To analyze the morphological plasticity isometric size and shape of head from adults of *T. williami* were used. The development of two groups containing 100 triatomines was followed throughout the nymphal stages and adulthood. Each group was exposed to a single blood meal source, either mammalian or bird. The average egg-to-adult development time in both groups was similar, except by shorter stages of N3 and N4 in triatomines fed on mammals. The group fed on birds needed more blood feedings to molt and had higher cumulative mortality during nymphal stages. There was highly significant differences regarding head shape related to sex and blood source. In both groups, females were larger than males and insects fed on birds showed a thinner head shape. Nevertheless, the centroid size only showed significant differences between sexes and showing no differences between insects fed on different blood sources. Although the defecation time observed for adults after feeding were not short, our results suggest that *T. williami* in the third and fifth nymphal stages may be a competent vector. The morphologic variation in shape showed that *T. williami* has high morphological plasticity associated with the blood source, in spite of the presence of stasis in size. *T. williami* showed a similar degree of phenotypic plasticity also observed for secondary triatomine, and this attribute may facilitate synanthropy processes.

Keywords: Triatominae, Life Cycle, Morphometry, Geometric Morphometric



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Importância e classificação dos triatomíneos

Os triatomíneos são insetos de grande interesse ecológico e epidemiológico. Ecológico porque formam um grande grupo de insetos que se alimenta de sangue de vertebrados, incluindo os humanos; e epidemiológico porque os triatomíneos são vetores do *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909, agente etiológico da Doença de Chagas (Schaefer 2003, 2005). Esta doença tem um custo humano, social e econômico extremamente alto, acometendo 15 a 16 milhões de pessoas na América Latina, com 75 a 90 milhões de pessoas em risco (Coura & Dias 2009).

A associação dos triatomíneos com o ciclo parasitário da Doença de Chagas foi descoberto no início do século XX, pelo sublime trabalho de Carlos Chagas (Chagas 1909), no entanto a primeira descrição formal de um triatomíneo data de muito antes, em 1773, por De Geer (Galvão & Jurberg 2014). O contato destes insetos com os seres humanos foi relatado ainda mais anteriormente, em 1590, em notas de uma expedição pelo Peru e Chile, em que Reginaldo de Lizarraga descreveu insetos com hábitos noturnos e hematofágicos (Lent & Wygodzinsky 1979, Galvão 2003). O comportamento alimentar voraz do triatomíneo também foi descrito por Charles Darwin, durante sua passagem pela Argentina, no século XIX (Darwin 1871).

Tradicionalmente, a classificação das espécies considera aspectos morfológicos, entretanto, a crescente avaliação de caracteres citogenéticos ou genômicos tem interferido na classificação estável e consensual dos triatomíneos (Schofield & Galvão 2009, Bargues et al. 2010, Galvão & Paula 2014). Os triatomíneos pertencem a subfamília Triatominae, Reduviidae (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae), caracterizada pelo hábito hematofágico (Lent & Wygodzinsky 1979). Triatominae é subdividida em cinco tribos e 18 gêneros (**Quadro 1**). Atualmente, são reconhecidas 148 espécies e duas espécies fósseis,

no entanto como as espécies não são precisamente definidas, podem ocorrer muitas variações morfológicas ou subespécies e, assim, outras classificações taxonômicas (Stevens et al. 2011, Galvão & Paula 2014, Jurberg et al. 2014).

A classificação dos triatomíneos está baseada principalmente na revisão de Lent & Wygodzinsky (1979) que traz a informação taxonômica das 112 espécies conhecidas à época. Posteriormente, foram acrescentadas novas espécies e outras foram revalidadas ou sinonimizadas (Galvão & Paula 2014). As divergências conceituais de espécies, subespécies, complexos de espécies e de subfamília, intensificam os problemas taxonômicos. Desta forma, até mesmo os hábitos alimentares utilizados para a classificação dos triatomíneos em subfamília são insatisfatórios, porque algumas espécies podem ocasionalmente deixar de ser predadoras e tornarem-se hematofágicas (Bargues et al. 2010).

Embora os complexos de espécies não sejam formalmente reconhecidos como um nível taxonômico, alguns autores propõem um agrupamento de espécies de triatomíneos em complexos e subcomplexos específicos baseados, principalmente, nas similaridades morfológicas, na distribuição geográfica, na importância epidemiológica e nas relações filogenéticas. Em decorrência das semelhanças, as informações de uma espécie do complexo poderiam ser extrapoladas para as demais espécies (Schaefer 2005), mas, obviamente, a generalização do conhecimento sobre uma determinada espécie para um grupo, depende do quão próximas filogeneticamente estão as espécies (Schaefer 2003).

A tribo Triatomini Jeannel, 1909 tem a maior diversidade de espécies e, também, de controvérsias em relação a classificação dos gêneros. Vários autores consideram que os *Meccus* Stal, 1859, *Mepraia* Mazza, Gajardo & Jörg, 1940 e *Nesotriatoma* Usinger, 1944 sejam complexos do gênero *Triatoma* Laporte, 1832, ou ainda que *Nesotriatoma* pertença ao *Panstrongylus* Berg, 1879 (Justi et al. 2014). Para além das questões sistemáticas e taxonômicas, *Triatoma*, *Rhodnius* Stal, 1859 e *Panstrongylus* Berg, 1879 são os gêneros com maior importância epidemiológica, dado o seu potencial vetorial e ampla distribuição geográfica (Carrasco et al. 2014).

Quadro 1. Classificação sistemática da subfamília Triatominae

Tribo	Gênero	Número de Espécies
Alberproseniini Martínez & Carvalho, 1977	<i>Alberprosenia</i> Martínez & Carvalho, 1977	2
Bolboderini Usinger, 1944	<i>Belminus</i> Stal, 1859	8
	<i>Bolbodera</i> Valdés, 1910	1
	<i>Microtriatoma</i> Prosen & Martínez, 1952	2
	<i>Parabelminus</i> Lent, 1943	2
Cavernicolini Usinger, 1944	<i>Cavernicola</i> Barber, 1937	2
Rhodniini Pinto, 1926	<i>Psammolestes</i> Bergroth, 1911	3
	<i>Rhodnius</i> Stal, 1859	19
Triatomini Jeannel, 1909	<i>Dipetalogaster</i> Usinger, 1939	1
	<i>Eratyrus</i> Stal, 1859	2
	<i>Hermanlenticia</i> Jurberg & Galvão, 1997	1
	<i>Linshcosteus</i> Distant, 1904	6
	<i>Meccus</i> Stal, 1859	6
	<i>Mepraia</i> Mazza, Gajardo & Jörg, 1940	3
	<i>Nesotriatoma</i> Usinger, 1944	3
	<i>Panstrongylus</i> Berg, 1879	14
	<i>Paratriatoma</i> Barber, 1938	1 *
<i>Triatoma</i> Laporte, 1832	72 **	

Fonte: (Galvão & Paula 2014)

* esse gênero possui uma espécie fóssil: *P. hispaniolae* (Poinar Jr 2013)

** esse gênero possui uma espécie fóssil: *Triatoma dominicana* (Poinar Jr 2005)

1.2 Desenvolvimento dos triatomíneos

O desenvolvimento pós-embrionário dos triatomíneos é paurometábolo (Weirauch & Schuh, 2011), com um estágio ninfal, dividido em cinco estádios, e um estágio adulto. A hematofagia é obrigatória nos estágios de ninfa e adulto para ambos os sexos, embora algumas espécies possam apresentar coprofagismo, predação e clepto-hematofagia (Sandoval et al. 2000, 2004). Os triatomíneos são solenofágicos e o único contato que mantêm com seus hospedeiros é restrito ao processo de repasto (Almeida et al. 2014). Estes insetos são eficientes em se alimentar em mamíferos, aves, répteis e anfíbios e, até mesmo, em insetos (Lorosa et al. 2000, 2008). Este ecletismo alimentar aumenta o potencial de invasão de novos ambientes e de colonização de ecótopos artificiais.

O ciclo biológico dos triatomíneos varia de acordo com a espécie, com a condição ambiental e com a fonte alimentar (Schofield 1985a, Carbajal-de-la-Fuente et al. 2010). Ainda que alimentados em animais diferentes daqueles disponíveis em seus ecótopos naturais, os triatomíneos são hábeis em se reproduzir (Costa & Lorenzo 2009). As características de fecundidade e de fertilidade determinam o sucesso reprodutivo e modelam a dinâmica populacional e, então, as chances de colonização de novos ambientes (Schofield 1985a).

1.3 Distribuição dos triatomíneos

A maioria das espécies de triatomíneos é encontrada nas Américas, desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (entre os paralelos 42° N e 46° S) (Galvão & Justí 2015). A riqueza de espécies aumenta dos pólos em direção ao Equador e está correlacionada com aumento da área habitável no hemisfério sul, mas não no hemisfério norte, sugerindo-se uma relação com a temperatura e disponibilidade energética (Rodríguez & Gorla 2004).

Algumas espécies de triatomíneos apresentam uma extensa distribuição territorial e um dos determinantes deste padrão pode ser o transporte passivo dos triatomíneos junto a animais com grande potencial de dispersão,

como pássaros, morcegos e mamíferos terrestres (Gurgel-Goncalves & Cuba 2009, Galvão & Gurgel-Gonçalves 2014).

A distribuição geográfica dos triatomíneos de interesse epidemiológico é bem conhecida, diferentemente daqueles que não estão associados às atividades humanas (Rodríguez & Gorla 2004). Há estudos que mostram que a área ocupada por uma espécie pode ser ampliada, em decorrência de alterações climáticas (Carcavallo 1999, Curto de Casas et al. 1999), da migração humana ou de novas ocupações geográficas com alteração dos ecótopos naturais (Guhl et al. 2009, Confalonieri et al. 2014). Um exemplo da ampliação da distribuição geográfica de uma espécie, com graves implicações epidemiológicas, foi a dispersão do *Triatoma infestans* Klug 1834 originário de regiões andinas e disseminado para toda a América do Sul junto aos movimentos migratórios (Noireau et al. 2000, Bargues et al. 2006, Cortez et al. 2010, Waleckx et al. 2011, Araújo et al. 2014). O *T. infestans* mostrou-se extremamente adaptável aos novos ambientes (Panzer et al. 2004) e tornou-se o vetor mais importante e de maior distribuição, sendo atualmente encontrado naturalmente infectado com *T. cruzi*, tanto em ecótopos silvestres quanto nos ambientes antropizados.

Há aspectos biológicos de cada espécie podem facilitar a adaptação aos novos ambientes e promover a colonização e, em decorrência, interferir na distribuição dos triatomíneos. O comportamento alimentar, a duração do ciclo, a fecundidade, a fertilidade e a dinâmica populacional são alguns determinantes biológicos da adaptação ambiental (Canale et al. 1999, Pereira et al. 2006). Além das características biológicas das espécies, outro fator que pode interferir na distribuição são os programas de controle vetorial (Rodríguez & Gorla 2004), geralmente feitos por aplicação de inseticidas. O controle pode diminuir ou exterminar localmente uma determinada espécie, com posterior ocupação deste espaço por outras espécies e, ainda, pode ocasionar o surgimento de espécies resistentes (Obara et al. 2011, Pessoa et al. 2015).

1.4 Triatomíneos no Brasil

No Brasil, atualmente já foram identificadas 65 espécies, distribuídas em dez gêneros. Dentre estas, 42 ocorrem somente no território brasileiro. A Bahia é o estado com maior riqueza de espécies (23 espécies), seguido do Mato Grosso (20 espécies) (Galvão & Gurgel-Gonçalves 2014).

As espécies mais importantes no cenário epidemiológico brasileiro são *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis* Neiva, 1911, *T. pseudomaculata* Corrêa & Espínola 1964, *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835 e *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 (Jurberg et al. 2014). Entre todas as espécies encontradas no país, apenas dez ainda não foram encontradas naturalmente infectadas por tripanosomatídeos: *Alberprosenia malheiroi* Serra, Atzingen & Serra, 1987, , *Belminus laportei*, *Microtriatoma trinidadensis* Lent, 1951, *Panstrongylus diasi* Pinto & Lent, 1946, *P. lenti* Galvão & Palma, 1968, *Parabelminus yurupucu* Lent & Wygodzinsky, 1979, *Rhodnius amazonicus* Almeida, Santos & Sposina, 1973, *Tritoma baratai* Carcavallo e Jurberg, 2000, *T. jatai* Gonçalves, Teves-Neves, Santos-Mallet 2013 e *T. pintodiasi* Jurberg, Cunha & Rocha, 2013 (Galvão & Gurgel-Gonçalves 2014).

A distribuição geográfica de algumas espécies coincide fortemente com a distribuição do bioma e a maioria das espécies de triatomíneos ocupa o Cerrado e a Amazônia. O Cerrado é o segundo maior bioma em extensão, cobre a maior parte da região Centro-Oeste do Brasil e sofre uma grande pressão pela ocupação humana de seu território (Klink & Machado 2005). Dentre os estados do centro-oeste, o Mato Grosso tem maior riqueza de espécies de triatomíneos (Galvão & Gurgel-Gonçalves 2014) e este fato pode estar associado à variedade de biomas no Mato Grosso, com o Cerrado ocupando a região centro-sul, a Amazônia ao noroeste, Pantanal à sudoeste, e uma área de transição Amazônia-Cerrado ao norte-nordeste (WWF-Brasil 2015).

O clima do Cerrado possui variação estacional com período chuvoso entre outubro e março, e seco, de abril a setembro. A precipitação média anual é de 1.500 mm e temperaturas variam entre 22 e 28°C. É comum que biomas com estações secas e chuvosas bem definidas tenham grande diversidade de

triatomíneos, com maior densidade populacional associada às estações secas prolongadas e altas temperaturas (García-Jordán et al. 2015).

As espécies mais encontradas no Cerrado são *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 e *T. sordida* Stål 1859 e, especificamente no estado de Mato Grosso, são frequentes: *T. matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953, *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida*, *Triatoma vandae* Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Carcavallo et al. 2000, Galvão & Gurgel-Gonçalves 2014).

De acordo com as características morfológicas compartilhadas por nove espécies encontradas no centro-oeste e também sul do Brasil, propôs-se que fossem agrupadas no Complexo Oliverai (Carcavallo et al. 2000). Duas espécies são encontradas no Rio Grande do Sul, *Triatoma oliveirai* Neiva et al., 1939 e *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent e Galvão 2001, e outras sete são encontradas no estado de Mato Grosso e Goiás: *T. matogrossensis*, *T. vandae*, *T. jurbergi*, *Triatoma. guazu* Lent e Wygodzinsky 1979, *Triatoma baratai*, *Triatoma. deaneorum* Galvão Souza and Lima 1967, e *Triatoma williami*.

O complexo Oliverai é composto por espécies que tendem a invadir ambientes peridomésticos rurais mas não habitações humanas e os seus ecótopos naturais e fontes alimentares tem sido insuficientemente estudados (Carcavallo et al. 2000). O comportamento invasor destes triatomíneos, associado à infecção pelo *T. cruzi*, os coloca sob interesse epidemiológico e torna imperativo que sejam conhecidas as características bionômicas e comportamentais destas espécies.

1.5 Potencial sinantrópico

A maioria dos triatomíneos é silvestre, no entanto cerca de dez espécies são estritamente domiciliadas e nesta condição são definidas como espécies primárias (Vallejo et al. 2009). Estas espécies geralmente apresentam

alta densidade populacional, comportamento claramente antropofílico e altas taxas de infecção por *T. cruzi* (Noireau et al. 2005).

Há um extenso conhecimento sobre a origem e a expansão de espécies primárias, porém pouco se sabe sobre outras espécies com potencial sinantrópico, que ocasionalmente abandonam seus ecótopos naturais ou peridomésticos e invadem os domicílios (Stevens et al. 2011). Estas espécies invasoras podem ser conceituadas como espécies secundárias, de acordo com a capacidade de dispersão, de colonização de ambientes humanos e o grau de antropofilia (Noireau et al. 2005). As espécies secundárias geralmente são autóctones e ocupam extensos nichos silvestres e prontamente invadem outros ambientes na ausência de espécies primárias, aumentando o risco de transmissão do *T. cruzi* (Stevens et al. 2011).

Há evidências de que populações silvestres de triatomíneos invadem ou infestam áreas previamente submetidas às medidas de controle de outros vetores domiciliados, o que torna praticamente impossível eliminar os insetos de áreas endêmicas (Bargues et al. 2006, Sanchez-Martin et al. 2006, Cortez et al. 2007, Feliciangeli et al. 2007, Abad-Franch et al. 2009, Marti et al. 2014).

Além das populações silvestres que podem invadir e colonizar áreas sob controle, há outro desafio: vetores considerados não elimináveis devido as altas taxas de infestação e reinfestação domiciliar originadas e mantidas por focos silvestres, tais como *T. brasiliensis* Neiva 1911, *Panstrongylus megistus* Burmeister 1835 e *Triatoma dimidiata* Latreille 1811 (Costa & Lorenzo 2009).

1.6 Plasticidade fenotípica

A sinantropia representa uma adaptação das espécies silvestres em resposta às alterações ambientais e esta adaptabilidade depende da plasticidade do triatomíneo (Forattini 1989), Em geral, todos os triatomíneos tem uma plasticidade que propicia mudanças na morfologia, no desenvolvimento e no comportamento, em resposta à variabilidade ambiental. Os organismos que tem essa flexibilidade na expressão de uma característica tem uma vantagem

potencial para interagir com a heterogeneidade dos ambientes (Ernande & Dieckmann 2004). Esta habilidade é chamada de plasticidade fenotípica e é definida como a capacidade de um genótipo exibir vários fenótipos em resposta às variações ambientais (Fordyce 2006, Whitman & Agrawal 2009). A ciência das causas, dos determinantes e das consequências da plasticidade fenotípica, é essencial para a compreensão do desenvolvimento e da manutenção da biodiversidade (Pigliucci 2005, Pigliucci et al. 2006, Forsman 2014).

O conhecimento dos diferentes aspectos da adaptação e evolução das populações de triatomíneos pode contribuir com a seleção de estratégias de controle mais apropriadas em áreas endêmicas. Neste sentido, o estudo quantitativo de características fenotípicas e variáveis nutricionais pode ser bastante informativo sobre a estrutura populacional e a mobilidade dos vetores (Hernández et al. 2011). Neste contexto, a plasticidade na morfologia, no desenvolvimento e no comportamento, em resposta à fonte alimentar, pode ter consequências ecológicas importantes e, de certa forma, predizer o sucesso da sinantropia de uma espécie. A fonte alimentar pode influenciar em diferentes dimensões fenotípicas na trajetória ontogenética de uma espécie e pode causar variações significativas na forma e no tamanho de triatomíneos (Nattero et al. 2013).

Nas últimas décadas, biólogos evolucionistas tem usado ferramentas matemáticas acuradas para a identificação de mudanças morfológicas das espécies (Wagner 1984, Bookstein 1991, Rohlf & Marcus 1993). Um dos métodos utilizados para identificar estas variações morfológicas, é a análise da forma do indivíduo, baseada em técnicas estatísticas multivariadas e um novo método de visualização dos resultados morfométricos, a Morfometria Geometrica. Este método é baseado em coordenadas cartesianas de marcos anatômicos, em duas ou três dimensões. Os marcos anatômicos são pontos distinguíveis e homólogos entre todos os indivíduos sob análise (Rohlf & Slice 1990, Slice et al. 2007, Dujardin 2011). O uso de coordenadas é melhor quando comparado com as medidas lineares, porque ele preserva a informação espacial de uma estrutura, fornecendo uma descrição mais acurada da forma de um organismo e, ainda, permite a associação da forma com dados de outras natureza, tais como dados

ecológicos, genéticos, biomecânicos ou outros fatores relevantes (Rohlf & Corti 2000).

A Morfometria Geométrica tem sido útil para a diferenciação de espécies crípticas ou isomórficas, para avaliar a estrutura populacional de espécies, o fluxo gênico, e as variações morfológicas relacionadas ao ambiente e ao isolamento geográfico (Dujardin 2011). Há trabalhos que usam técnicas morfométricas na diferenciação entre triatomíneos silvestres e peridomésticos, o que torna esta ferramenta também importante para a detecção das fontes de reinfestação após medidas de controle (Gurgel-Gonçalves et al. 2008; Batista et al. 2013, Hernández et al. 2013).

1.7 Potencial Vetorial

A capacidade de transmitir o *T. cruzi* é estendida a todas as espécies de triatomíneos, embora poucos tenham significância epidemiológica como vetores efetivos aos humanos (Schofield & Galvão 2009). A importância vetorial das espécies está associada à capacidade de adaptação aos ambientes domésticos e peridomésticos e, ainda, aos seus ecótopos silvestres (Dujardin et al. 1999, Stevens et al. 2011). Além da sinantropia, a competência vetorial dos triatomíneos está fortemente associada à fatores comportamentais e biológicos do inseto, tais como o grau de antropofilia, o padrão reprodutivo, as fontes alimentares, o tempo de alimentação e dejeção e, ainda, à capacidade de dispersão e a resistência ao jejum (Costa & Perondini 1973, Moreira & Spata 2002, Stevens et al. 2011, Neiva et al. 2012).

Há vários trabalhos que avaliam a relação de diferentes aspectos biológicos com o potencial vetorial de triatomíneos. Entre estes, um estudo muito interessante confirmou a eficiência vetorial de *T. infestans* através da relação entre estado nutricional (qualidade e a quantidade de sangue ingerido) e os padrões reprodutivos (Nattero et al. 2011). A capacidade vetorial do *T. Infestans* foi relacionada ao comportamento da espécie na exploração de fontes sanguíneas, mostrando-se muito mais eficiente que *P. megistus* na obtenção de

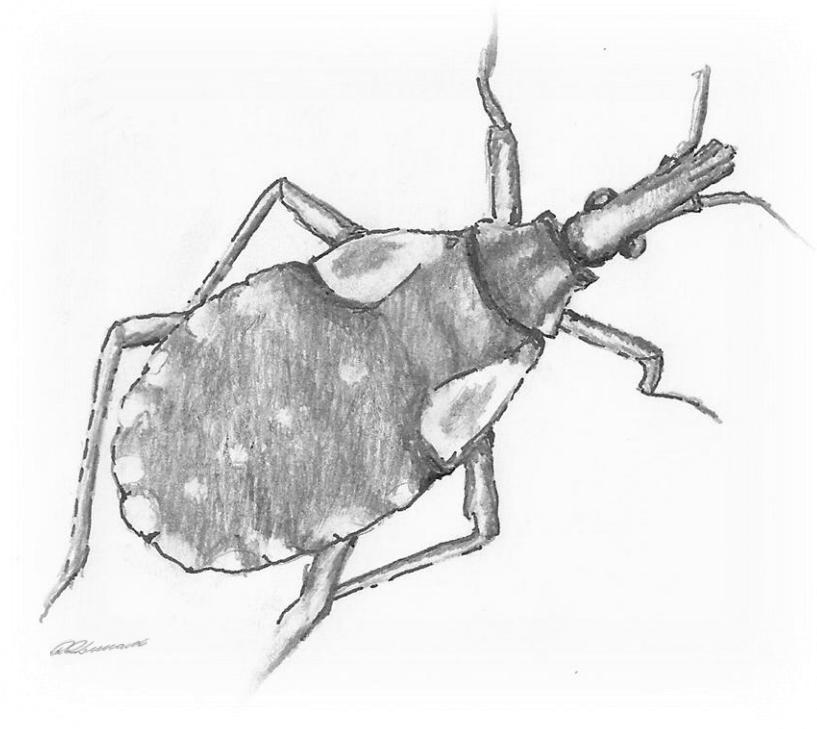
sangue de hospedeiros (Perera et al. 2006). Outro estudo mostrou como a composição da saliva interfere na hematofagia e, então, no potencial vetorial de espécies primárias e secundárias (Guarneri et al. 2000a). Ainda no sentido de identificar a capacidade vetorial, um estudo sobre *Triatoma maculata* mostrou que a espécie tem predados biológicos que a deveriam colocar sob vigilância entomológica constante. Há outras dezenas de trabalhos que mostram a influência de fatores ambientais nas expressões fenotípicas de triatomíneos que poderiam ser citados, apenas para corroborar com a idéia de que o estudo de características biológicas dos triatomíneos, mesmo que em condições laboratoriais, aumentam o conhecimento sobre as espécies, e tornam-se muito úteis para otimizar a seleção de medidas de controle vetorial (Costa & Lorenzo 2009, Cardozo-de-Almeida et al. 2014).

2. JUSTIFICATIVA

Há um grande número de estudos sobre aspectos morfológicos, comportamentais, fisiológicos e de desenvolvimento dos triatomíneos, fato que reflete um aumento no interesse sobre estes insetos tanto para estabelecer medidas de controle, como também para o uso como um modelo biológico excelente para estudos de hematofagia e de fisiologia de insetos (Lazzari et al. 2013).

Estão disponíveis informações sobre o desenvolvimento, as fontes alimentares naturais e os ecótopos de várias espécies de triatomíneos incriminados na transmissão de *T. cruzi*, no entanto, há espécies naturalmente infectadas e que ainda não tem características bionômicas descritas e nem a determinação da sua competência vetorial. Dentre estas espécies está o *Triatoma williami*, encontrado pela primeira vez em um peridomicílio rural, em 1965, no estado de Goiás (Galvão et al. 1965). Atualmente, adultos também são encontrados em intradomicílios e peridomicílios de áreas urbanas, e estão naturalmente infectados com *T. cruzi* (Arrais-silva et al. 2011, Andrade-Neto et al. 2012). Recentemente, identificamos através de morfometria geométrica, que não há diferenças morfológicas entre as populações de *T. williami* silvestres e as encontradas nos domicílios e peridomicílios circunvizinhos a área silvestre, o que sugere que são a mesma população (dados não publicados). Apesar da presença urbana de *T. williami* infectado por *T. cruzi*, não existem dados sobre os aspectos bionômicos e competência vetorial da espécie, tampouco sobre seus ecótopos naturais e hospedeiros silvestres.

A caracterização de espécies silvestres que eventualmente invadem ambientes antrópicos, como parece ocorrer com *T. williami*, é importante para a avaliação da eficiência destes insetos como vetores do *T. cruzi* e, ainda, para subsidiar a manutenção de colônias em laboratório e a modelagem de estratégias de controle (Costa & Lorenzo 2009, Cardozo-de-Almeida et al. 2014, Durán et al. 2014). Esta caracterização é também relevante para avaliação do potencial de sinantropia, já que uma espécie com um comportamento meramente invasor, em condições favoráveis, pode eventualmente conduzir à infestação estável de habitações humanas com criação de colônias (Abad-Franch et al. 2009)



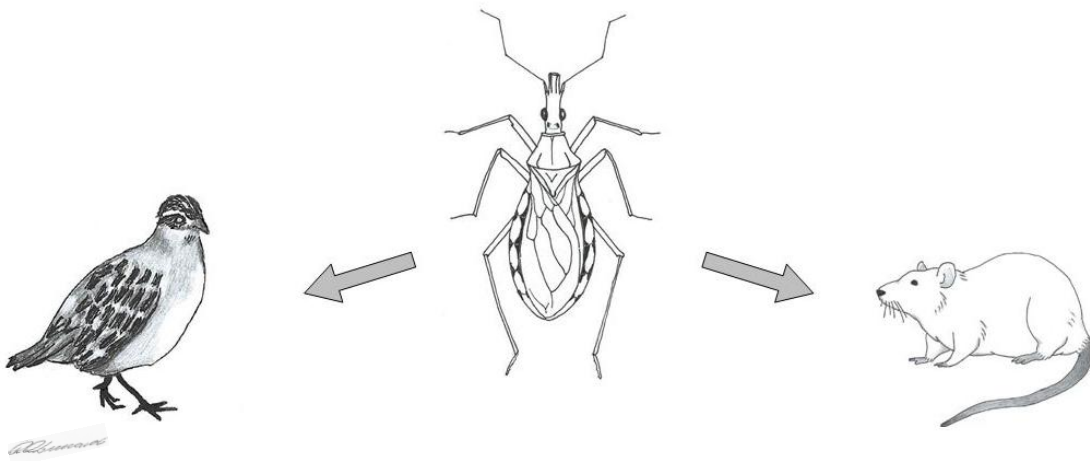
OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a competência vetorial de *Triatoma williami*.

Especificamente, pretendeu-se:

- Estudar o desenvolvimento pós-embrionário de *Triatoma williami* sob a influência de diferentes fontes alimentares;
- Analisar a hematofagia e a defecação de *T. williami* sob influência de diferentes fontes alimentares
- Avaliar a influência da fonte alimentar na plasticidade morfológica do *T. williami*.

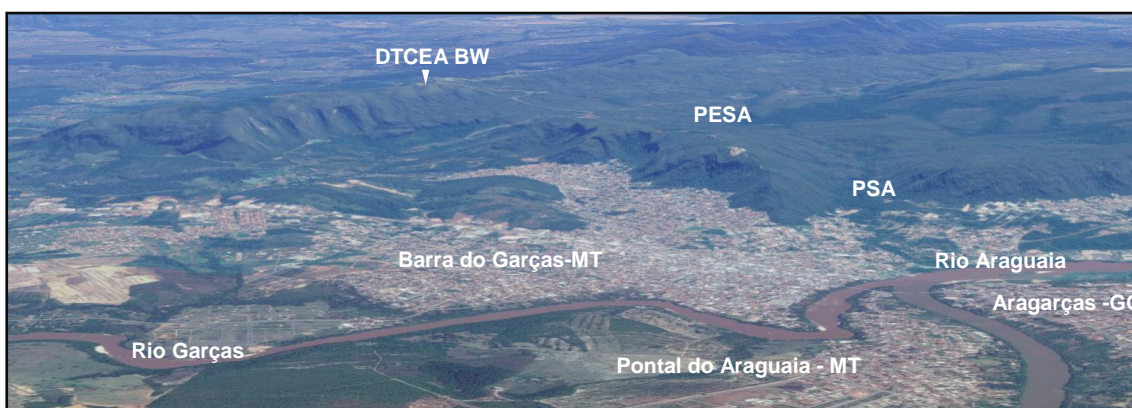


METODOLOGIA

4. METODOLOGIA

4.1 Local de estudo

O estudo foi realizado no município de Barra do Garças, MT (15°53'24" S, 52°15'24" W), cidade localizada na bacia do rio Araguaia, que divide os estados de Goiás e Mato Grosso. A região urbana conhecida como grande Barra é formada, além de Barra do Garças, pelos municípios de Pontal do Araguaia (MT) e Aragarças (GO), e se desenvolveu no entorno de duas unidades de conservação; o Parque Estadual de Serra Azul (PESA), e Área de Proteção Ambiental Pé da Serra Azul (PSA) (**Figura 1**). As duas Unidades abrangem um total de área protegida de 189.82 km² ao sudeste de Mato Grosso.



Fonte: www.google.com.br/maps/@-15.96059631,21t/ [acessado em 08/07/2015]

Figura 1: Imagem da área urbana de Barra do Garças-MT. DTCEA BW - Destacamento de Controle do Espaço Aéreo de Barra do Garças; PESA - Parque Estadual da Serra Azul; PSA - Área de Preservação Pé-da-Serra.

4.2 Captura dos triatomíneos

Espécimes adultos de *T. williami* foram coletados, entre os meses de maio e agosto de 2012, no entorno das edificações do Destacamento de Controle do Espaço Aéreo de Barra do Garças (DCEA-BW) localizado no cimo do Parque Estadual da Serra Azul, uma reserva natural no município de Barra do Garças, no sudoeste do estado de Mato Grosso. As coletas foram realizadas diariamente por militares previamente instruídos sobre biossegurança e o manejo de triatomíneos. Os insetos eram atraídos aos pontos de luz das edificações e eram coletados quando se assentavam nas paredes ou no solo.

Os insetos capturados eram colocados em frascos individuais, com papel filtro ao fundo e um suporte central de papel sanfonado para fornecer abrigo. Diariamente, os frascos eram conduzidos ao Laboratório de Parasitos e Vetores da Universidade Federal de Mato Grosso. Os espécimes coletados foram identificados através de caracteres morfológicos externos segundo Lent & Wygodzinsky (1979) e agrupados em colônias mantidas em ambiente controlado com temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e Umidade Relativa de $70\% \pm 10$. As colônias eram alimentadas semanalmente em codornas (*Coturnix coturnix*), submetidas a anestesia e sedação, descritas abaixo.

4.3 Manutenção dos triatomíneos

As ninfas originadas dos ovos das fêmeas silvestres foram agrupadas aleatoriamente em dois grupos de 100 indivíduos: Grupo AVE, alimentado exclusivamente em codornas (*Coturnix coturnix*); Grupo MAM, alimentado exclusivamente em camundongos (*Mus musculus*).

Os animais usados como fonte alimentar eram submetidos à analgesia e sedação profunda com relaxamento muscular, através da administração intraperitoneal (camundongo) e intramuscular peitoral (codornas), com a associação de Xilasina 2% e Cetamina 10% (0,03g de Xilasina associado a 0,04g de Cetamina, por quilo de peso do animal). No intuito de reduzir a queda de

temperatura dos camundongos, eles eram mantidos em uma base de isopor acolchoada com papel de folha dupla. As aves não sofriam mudanças de temperatura, a atenção era dada na aplicação da anestesia no músculo peitoral contralateral à superfície acessada pelos triatomíneos. Em cada experimento, os animais eram expostos a seis insetos (no máximo) individualizados em tubos de vidro, por até duas vezes em uma semana e, então, não eram mais destinados à alimentação.

Ao longo de todo o experimento, as ninfas eram mantidas individualizadas em tubos de vidro (15x1,5 cm) com papel filtro no fundo e um suporte de papel cartão dobrado para servir de abrigo. A extremidade era fechada com tela de *nylon* para permitir a ventilação e a alimentação. As ninfas que atingiam o quarto estágio eram transferidas um recipiente maior (4 x 6 cm), com a mesma disposição de papel filtro, papel cartão e tela de *nylon*. Aos três dias após a eclosão, as ninfas eram expostas à fonte alimentar, por 10 minutos, diariamente, até que ocorresse o primeiro repasto. A partir do primeiro repasto, a exposição à fonte alimentar ocorria a cada sete dias (Martínez-Ibarra et al. 2007, Reyes & Angulo 2009). O repasto era dado por finalizado quando o inseto se afastava espontaneamente da fonte alimentar e permanecia sem tentar acessá-la novamente. Terminado o repasto, os insetos seguiam sendo observados por 30 minutos, para avaliar o tempo de defecação. Os insetos eram pesados antes e após o repasto em balança de precisão (0,0001g). Ambos os grupos eram observados diariamente para identificar indivíduos mortos ou que haviam mudado de estágio.

4.4. Avaliação da competência vetorial: hematofagia e defecação

A eficiência do repasto foi avaliada pelos seguintes parâmetros: (1) tempo de início do repasto, que é período entre a exposição à fonte alimentar e o início do repasto (considerado como o momento em que o inseto posicionava suas peças bucais sobre a fonte alimentar); (2) duração do repasto (tempo decorrido entre o início do repasto e o término - considerado quando o inseto se afastava da fonte alimentar sem tentar acessá-la novamente); (3) ganho de peso proporcional (GP) (diferença entre o peso final e o peso inicial dividido pelo peso inicial) ; (4) taxa de ingestão: peso de sangue ingerido (em mg), dividido pelo

tempo (em minutos); (5) período de jejum espontâneo, antes e após as ecdises (em dias). Em adição às características do processo alimentar, o potencial vetorial de *T. williami* também foi avaliado pelo padrão de defecação, dado pelo lapso de tempo entre o repasto e a defecação (Nattero, 2013).

4.5 Plasticidade Fenotípica

4.5.1 Plasticidade de desenvolvimento pós-embrionário

O ciclo de vida e a influência da fonte alimentar no desenvolvimento de *T. williami* foram avaliados através da duração de cada estágio, do número de repastos e da mortalidade em cada estágio.

4.5.2 Plasticidade morfológica

Todos os insetos adultos de ambos os grupos foram montados em alfinete e fotografados em estereomicroscópio (Leica® M205C). Nas imagens em duas dimensões, foram digitalizados os marcos anatômicos da cabeça do *T. williami*, sendo oito em vista dorsal e oito em vista lateral (**Figura 2**), usando o *software* tpsDIG V2.17 (Rohlf 2013).

As coordenadas dos marcos anatômicos da cabeça foram avaliadas no *software* MorphoJ (Klingenberg 2011) e as informações da forma foram obtidas através da superimposição de Procrustes. Este procedimento removeu as informações de tamanho, posição e orientação das imagens.

Na vista dorsal, foi considerada a simetria bilateral, e o componente simétrico da forma foi calculado através da comparação entre a imagem original e as cópias refletidas (Klingenberg et al. 2002).

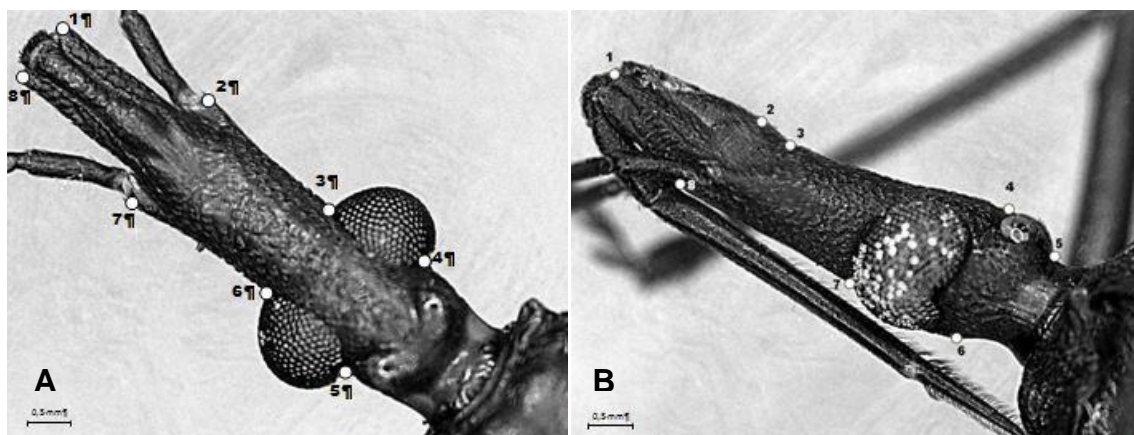


Figura 2. Marcos anatômicos da cabeça de *Triatoma williami*. A: Vista Dorsal (1 e 8. Ápice da gena; 2 e 7. Extremidade lateral do tubérculo antenífero; 3 e 6. Interseção do olho e região anteocular; 4 e 5. Interseção do olho e região pós-ocular). B: Vista lateral. (1. Ápice da gena; 2. Interseção Jugo-clípeo; 3. Flexura do clípeo; 4. Linha do Ocelo anterior; 5. Interseção da base da cabeça e pescoço; 6. Ângulo pós-ocular inferior; 7. Interseção do olho e região anteocular; 8. Extremidade proximal da búcula)

4.6 Tratamento Estatístico

Os resultados da hematofagia e do desenvolvimento pós-embrionário foram apresentados em médias e medianas, comparadas pelo Teste T ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney, quando as variáveis não apresentavam distribuição normal (Teste de normalidade D'Agostino), ou variâncias desiguais (ANOVA). As frequências foram submetidas ao teste de X^2 , com correção de Yates, quando necessário. As diferenças foram consideradas significativas quando o p valor era inferior a 0,05. Para as análises foi utilizado o *software* de licença livre Bioestat 5.3 (disponível em: www.mamiraua.org.br/pt-br/downloads/programas/bioestat-versao-53).

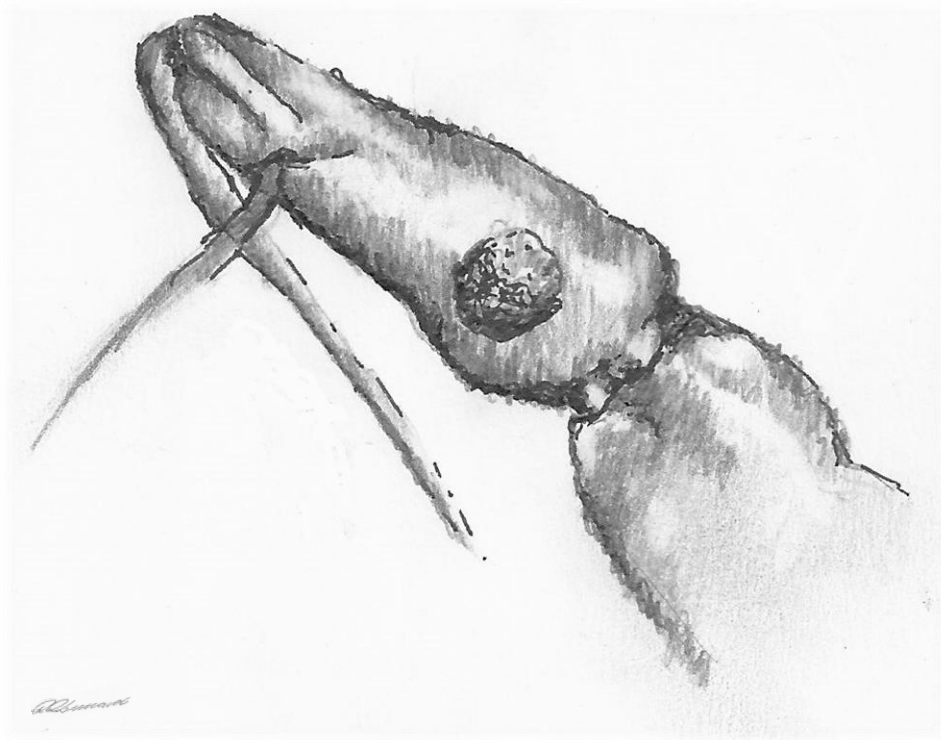
No estudo da morfometria geométrica, todas as análises utilizaram o *software* MorphoJ (Klingenberg 2011). As diferenças encontradas na morfometria geométrica relativas à forma e o tamanho centróide foram analisadas através do teste de ANOVA Procrustes, usando dois fatores, o sexo e a fonte alimentar. Os resultados são apresentados como a Soma dos Quadrados (SQ) e Média dos Quadrados (MQ), que são informações adimensionais (Arnqvist & Martensson 1998, Cardini & Elton 2007).

A acurácia da seleção dos marcos anatômicos foi avaliada através do teste de Erros de Medida (ME), do conjunto de medidas original com o conjunto controle de medidas repetidas. O ME comparou os valores de MS dos indivíduos com o erro através de ANOVA Procrustes (Klingenberg & McIntyre 1998)

A variação na forma dos triatomíneos foi quantificada através da Análise de Componentes Principais (PCA). As diferenças na forma dos indivíduos entre os dois grupos de fontes alimentares foi avaliada através da Análise de Variáveis Canônicas (CVA). Os resultados são mostrados como Distâncias Procrustes e os respectivos *p* valor destas distâncias, após teste de permutação (1000 permutas).

A avaliação da plasticidade morfológica decorrente de diferentes fontes alimentares usou o Tamanho Centróide (TC) como um estimador do tamanho dos triatomíneos (Bookstein 1986, 1989). O TC é a raiz quadrada da soma do quadrado das distâncias entre cada marco anatômico e o centróide (Dryden & Mardia 1998)

A análise multivariada das funções discriminantes foi usada para reclassificar cada indivíduo de acordo as similaridades da cabeça. Uma validação cruzada da reclassificação foi executada, onde cada indivíduo classificado foi removido da amostra e então reclassificado, para a computação do modelo discriminante.



RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Desenvolvimento Pós-embrionário

A colônia de triatomíneos silvestres originou 646 ovos, com 604 ovos eclodidos (93,5%) e 34 ovos não embrionados (5,3%). Somente 8 ovos não eclodiram (1,2%). A período médio de incubação foi de 23 dias, variando entre 20 e 24 dias.

A influência da fonte alimentar no desenvolvimento dos insetos foi avaliada, inicialmente, pela duração dos estádios e do número de repastos efetuados em cada estágio. O ciclo de vida completo teve duração similar entre os grupos alimentados em mamífero (MAM) e em ave (AVE) (**Tabela 1**). A duração dos dois primeiros estádios ninfais foi semelhante nos dois grupos, porém as N1 do grupo MAM precisaram de menos repastos para sofrer as ecdises. Já o terceiro e quarto estádios do grupo MAM foram mais curtos e, novamente, com menor número de repastos efetuados. A duração do quinto estágio ninfal e da fase adulta não diferiram entre os grupos, porém os adultos MAM realizaram cerca de três vezes mais repastos. A avaliação da duração dos estádios segundo o sexo não apresentou diferenças entre os grupos (dados não apresentados), já a duração total do ciclo foi diferente entre machos e fêmeas do grupo MAM (com 501 e 619 dias, respectivamente), e similar no do grupo AVE (524 e 558 dias). O número de repastos realizados ao longo da vida foi similar entre os sexos e entre os grupos, variando de 19 a 22 repastos.

Os dados obtidos também permitiram analisar o período de jejum espontâneo antes e após as mudanças de estágio (**Tabela 2**). Foi interessante notar que durante todo o experimento, o período de jejum antes da ecdise, em todos os estádios foi de 14 dias, no mínimo, e não diferiu entre os grupos. O período de jejum após a eclosão foi de 10 dias no grupo MAM e de 7 dias no grupo AVE. Para todos os demais estádios ninfais, não houve diferença significativa no número de dias decorridos entre a ecdise e o primeiro repasto. No entanto, para os insetos adultos, o período de jejum foi menor no grupo MAM, em relação ao AVE.

Tabela 1. Tempo de desenvolvimento (mediana/1^o e 3^o quartis), em dias, e número de repastos por estágio (mediana/1^o e 3^o quartis), de acordo com a fonte alimentar de *T. williami*.

Estádio	FONTE ALIMENTAR			
	MAMÍFERO		AVE	
	Duração (Quartil 25 - 75%)	Repastos (Quartil 25 - 75%)	Duração (Quartil 25 - 75%)	Repastos (Quartil 25 - 75%)
N1	28 (22 - 33)	1^c (1-2)	29 (24 - 36)	2^c (1-2)
N2	42 (32 - 52)	2 (1-2)	43.5 (31 - 59)	2 (1-3)
N3	25.5^a (23 - 31)	2^d (1-2)	32.5^a (28 - 49)	2^d (2-4)
N4	40^b (34 - 49)	2^e (1-2)	59.5^b (48 - 81)	3^e (2-6)
N5	171 (113 - 235)	5 (3-6)	143 (126 - 207)	6 (3-7)
Fêmea	302 (183-361)	13 (8,3-17,8)	206 (165-280)	3 (2-4)
Macho	213 (161-251)	8,5 (6,5-12,5)	177 (111-240)	2 (2-4)
Total	605,5	-	533,5	-

Letras iguais indicam diferenças significativas, segundo Teste de Mann-Whitney (<0,05).

Tabela 2. Período de jejum espontâneo pré e pós-ecdise (mediana/1^o e 3^o quartis), em dias, de acordo com a fonte alimentar de *T. williami*.

Estádio	PERÍODO DE JEJUM ESPONTÂNEO							
	Pós-ecdise (ou eclosão de N1)				Pré-ecdise			
	MAM		AVE		MAM		AVE	
	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)	(Quartil 25 - 75%)
N1	10^a	(6-15)	7^a	(5-9)	-	-	-	-
N2	21	(12-31)	15	(8-28)	14	(13-15)	14	(13-15)
N3	6	(5-8)	7	(4-12)	14	(11-16)	15	(11-17)
N4	7.5	(4-13)	9	(2-20)	15	(11-18)	14	(11-20)
N5	9	(6-15)	12	(4-21)	20	(14-26)	17	(9-23)
Fêmea	20^b	(12-30)	79^b	(58-101)	66	(29-80)	69	(57-96)
Macho	37.5^c	(27-48)	84^c	(20.6)	65	(31-85)	61	(24-95)

Letras iguais indicam diferenças significativas, segundo Teste de Mann-Whitney (<0,05)

Nos estádios N1 a N4, a mortalidade foi similar entre os grupos. Já no estádio N5, foi muito maior no grupo AVE. Neste grupo, apenas 16% chegaram ao estádio adulto, proporção muito menor do que a encontrada para o grupo MAM, onde 43% das ninfas atingiram o estádio adulto. Em ambos os grupos, o estádio N3 teve menor mortalidade do que os demais estádios ninfais (Tabela 3).

Tabela 3 Mortalidade proporcional, de acordo com o estádio ninfal, segundo a fonte alimentar de *T. williami*.

	MORTALIDADE							
	MAM				AVE			
	N	n	%	Acumulada	N	n	%	Acumulada
N1	100	28	28.0	28.0	100	39	39.0	39.0
N2	72	8	11.1	36.0	61	13	21.3	52.0
N3	64	2	3.1	38.0	48	4	8.3	56.0
N4	62	8	12.9	46.0	44	6	13.6	62.0
N5	54	11	20.4^a	57.0	38	22	57.9^a	84.0

Letras iguais indicam diferenças significativas, segundo Teste X^2 Yates $p < 0,001$
 N: vivos no início do estádio; n: mortos no decorrer do estádio;

5.2 Hematofagia

A efetividade do repasto foi avaliada pelo tempo de início do repasto, pelo tempo total de repasto, pelo o ganho de peso proporcional e pela taxa de ingestão sanguínea. O início do repasto deu-se entre 2 e 3 minutos em ambos os grupos. No entanto, a duração do repasto foi maior em todos os estádios ninfais do grupo MAM quando comparado ao AVE (**Tabela 4**). Dentro dos grupos, tanto para MAM quanto para AVE, a duração do repasto foi similar entre estágios ninfais subsequentes, divergindo apenas entre N5 e Adultos. Houve diferença na duração do repasto de machos e fêmeas apenas no grupo MAM.

Tabela 4. Tempo de início do repasto e tempo total de repasto, em minutos (Mediana/1º E 3º Quartis Quartis), por estágio, segundo a fonte alimentar de *T. williami*

TEMPOS DE REPASTO						
Estádio	MAM			AVE		
	n (repastos)	Início	Total*	n (repastos)	Início	Total*
N1	72 (103)	3 (2-5)	44 (32-57)	61 (108)	3 (2-4)	23 (14-31)
N2	65 (102)	3 (1-5)	57 (34-76)	48 (94)	2 (1-5)	24 (14-40)
N3	63 (97)	2 (1-5)	57 (41-85)	44 (114)	2 (1-4)	35 (22-43)
N4	54 (103)	2 (1-5) ^a	68 (46-99)	38 (156)	2 (1-3) ^a	40 (25-55)
N5	43 (203)	3 (1-6)	54 (31-79)	16 (83)	2 (1-4)	39 (26-56)
Fêmea	22 (284)	3 (1-6)	35 (22-50)^b	8 (28)	3 (2-5)	25 (13-31)
Macho	16 (155)	2 (1-5)	18 (13-31)^b	8 (23)	2 (1-3)	28 (19-32)

n: número de insetos

Letras iguais indicam diferenças significativas (Teste de Mann-Whitney: a. $p < 0,05$, b: $p < 0,0001$)

* Diferença significativa na duração do repasto em todos os estádios entre as fontes ($p < 0,05$)

A **Tabela 5** descreve o ganho de peso proporcional (GP) e a taxa de ingestão sanguínea. Em todos os estádios, o grupo MAM teve maior ganho de peso em relação ao grupo AVE. Igualmente, os insetos MAM também mostraram maiores taxas de ingestão. Quando foi comparada a taxa de ingestão entre os diferentes estádios de cada grupo, os insetos MAM mostraram aumento expressivo de N1 até N5. Já para o grupo AVE, a taxa de ingestão manteve-se quase invariável ao longo do desenvolvimento. No estágio adulto, apenas no grupo MAM houve diferença entre machos e fêmeas tanto no ganho de peso quanto na taxa de ingestão. As fêmeas obtiveram o dobro do peso proporcional e da taxa de ingestão comparadas aos machos.

Tabela 5. Peso ingerido, ganho de peso proporcional e taxa de ingestão (mediana/1^o e 3^o quartis), por estágio, segundo a fonte alimentar de *T. williami*.

Estádio	FONTE ALIMENTAR					
	MAM			AVE		
	Peso ingerido (mg)	GP(mg)*	Taxa de ingestão (mg/min)**	Peso ingerido (mg)	GP(mg)*	Taxa de ingestão (mg/min)**
N1	7.2 (5.6 - 9.4)	6.4 (3.8-8.3)	0.2 (0.1-0.2)	5.7 (2.9-7.5)	3,6 (1.9-6.3)	0.2 (0.1-0.4)
N2	21.4 (15.8 - 34.9)	6.1 (1.7-9.1)	0.5 (0.3-0.6)	14.5 (2.5-24.9)	2,6 (0.3-5.0)	0.4 (0.2-0.7)
N3	74.3 (49.4 - 99.8)	5.2 (1.1-6.8)	1.3 (0.7-1.8)	21.8 (2.2-49.7)	0,9 (0.1-3.6)	0.6 (0.1-1.4)
N4	172.6 (123 - 240)	2.5 (1.0-5.4)	2.5 (1.5-3.6)	23.4 (1.8-93.9)	0,5 (0,03-2.1)	0.7 (0.1-2.0)
N5	211.4 (123-397.8)	0.8 (0.4-1.9)	4.7 (2.6-6.9)	34.1 (4.2-158.7)	0,2 (0,03-1.1)	0.8 (0.1-3.4)
Fêmea	168.3 (76.9-276.2)	0.8 (0.5-1.4)^a	5.9 (3.6-8.6)^b	15.8 (4.1-74.2)	0.2 (0.05 - 0.6)	2.4 (0.6-5.9)
Macho	77.8 (32.7-131.4)	0.4 (0.2-0.8)^a	3.1 (1.9-5)^b	13.8 (2.3 - 68.4)	0.2 (0.02-0.9)	1.5 (0.1-3.9)

Peso ingerido: [peso final(PF) - peso inicial(PI)] GP: [(PF - PI) / PI] Taxa de ingestão: [(PF - PI)PI] / tempo de repasto (mg/min)
 Letras iguais indicam diferenças significativas, segundo teste de Mann-Whitney (p<0,0001)

* Houve diferença significativa no ganho de peso em todos estádios entre AVE e MAM (p<0,0001, Mann-Whitney Test)

**Houve diferença significativa na Taxa de ingestão em todos estádios entre os grupos, exceto N2 (Mann-Whitney Test p<0,0001)

5.3 Padrão de defeções

Em seguida, ainda como parte da avaliação de características que podem interferir no potencial vetorial da espécie, foi determinado o padrão de defecação (**Tabela 6**). O grupo MAM teve maior frequência de defecações em menos de 10 minutos após o repasto em relação ao grupo AVE, e esta diferença foi mais acentuada entre os estádios de N2, N3 e N5. Salienta-se que a ocorrência de defecação durante a hematofagia também foi mais frequente entre o grupo MAM. Em ambos os grupos, o estádio N2 teve as maiores frequências de defecação durante repasto.

Tabela 6 Frequência de defecações durante o repasto e no período de 10 minutos após o repasto, em percentil, por estádio, segundo a fonte alimentar de *T. williami*.

Estádio	FONTE ALIMENTAR							
	MAM				AVE			
	< 10 min (%)		Durante (%)		< 10 min (%)		Durante (%)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
N1	16 (113)	14.2	4	3.5	32 (136)	23.5	5	3.7
N2	51(105)	48.6^a	13	12.4	29 (103)	28.2^a	7	6.8
N3	56 (99)	56.6^b	7	7.1	30 (123)	24.4^b	3	2.4
N4	26 (123)	21.1	2	1.6	24 (176)	13.6	4	2.3
N5	47 (233)	20.2^c	11	4.7	13 (187)	7.0^c	2	1.1
Fêmeas	55 (287)	19.2^{d,e}	10	3.5	1 (28)	3.6^d	-	-
Macho	2 (155)	1.3^e	1	0.6	1 (23)	4.3	-	-
Total	253 (1115)	22.7	48	4.3	130 (776)	16.8	21	2.7

Letras iguais indicam diferenças significativas, Teste de Fisher (p valor: a: <0,01; b: <0,000; c: <0,05)

5.4 Morfometria geométrica

Após a análise da influência da fonte alimentar no desenvolvimento pós-embrionário, na hematofagia e na defecação do *T. williami*, avaliou-se a interferência da dieta na morfologia do inseto. As variações de forma encontradas entre os grupos e sexos foram ilustradas pela PCA e pela projeção da configuração média das cabeças dos triatomíneos. Já a discriminação dos grupos segundo a fonte alimentar e sexo foram mostradas através da AVC.

A PCA mostrou que os primeiros Componentes Principais (CP) acumularam a maior parte da variação da forma, em ambas as vistas. Na vista dorsal da cabeça, os primeiros três PC compreendem 80.38% da variação (PC1: 59.2%, PC2: 21.1%, PC3: 8.9%) e na vista lateral da cabeça, os dois primeiros PC detiveram 62.3% (PC1: 27.4%, PC2: 21.4%, PC3: 13.4%), fornecendo uma aproximação razoável da variação total da cabeça do triatomíneo.

A representação da configuração média da cabeça, mostrou que a fonte alimentar afeta a morfologia e é claramente diferenciada de acordo com o sexo (**Figuras 3 e 4**). Nos indivíduos MAM, a variação na vista dorsal foi principalmente em torno dos marcos anatômicos 1 e 8 (ápices da genas) e alargamento na região em torno dos marcos anatômicos centrais da cabeça (extremidades dos tubérculos anteníferos e região anteocular), fazendo a morfologia um pouco mais encurtada entre os tubérculos anteníferos e a extremidade do cípeo, e mais alongada na região pós-ocular. As alterações no grupo AVE, tenderam ao oposto, a cabeça mostrou-se mais estreita e alongada na região anteocular e mais curta na região pós-ocular (**Figura 3A**).

Na vista lateral (**Figura 3B**), as maiores variações ocorreram na região entre a interseção jugo-cípeo e o ápice da gena, e na região pós-ocular. No grupo MAM, houve o encurtamento da região anteocular e o alongamento da região pós-ocular. O grupo AVE apresentou um alongamento na região ante-ocular e um encurtamento da região pós-ocular.

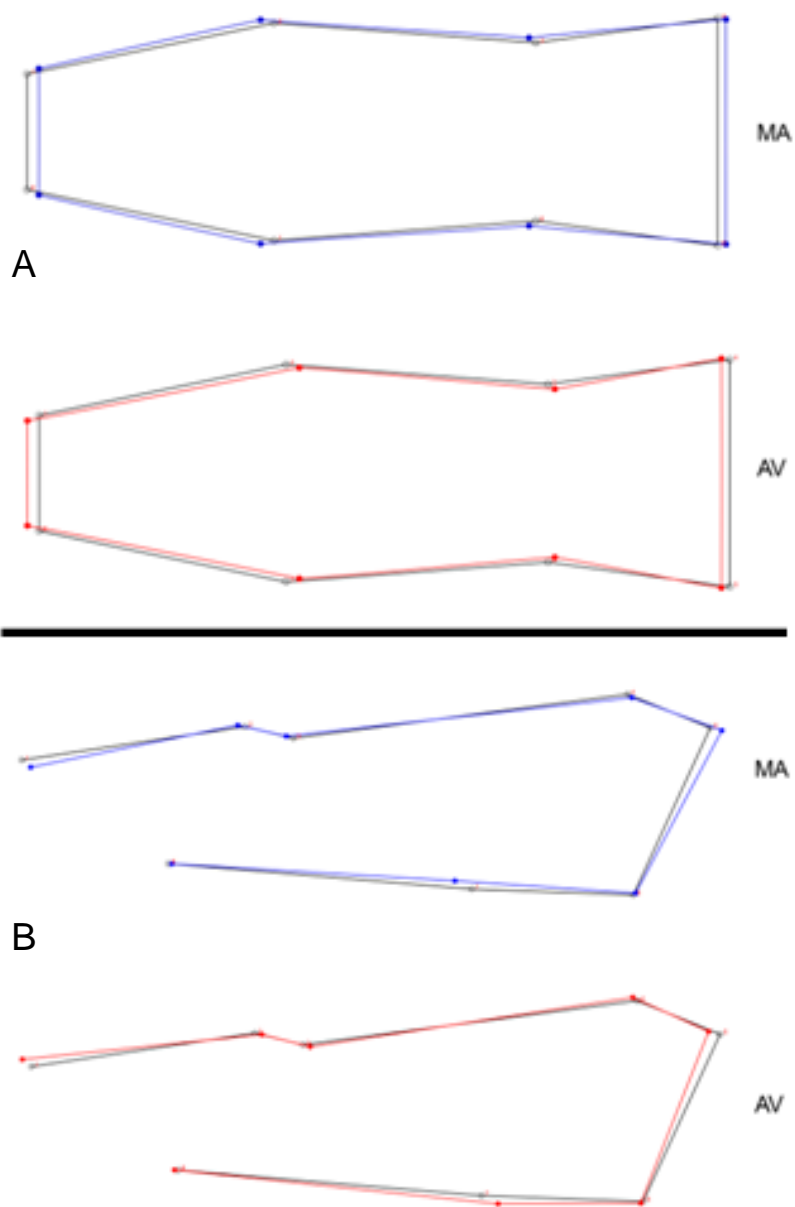


Figura 3: Representação linear (wireframe) da variação da forma da cabeça em relação a configuração média (linha negra), de acordo com a fonte alimentar. AV: Grupo alimentado em ave (*Coturnix coturnix*); MA: Grupo alimentado em mamífero (*Mus musculus*). A: Vista Dorsal, B: Vista lateral. Linhas negras: configuração consenso. Linhas vermelhas: configuração média do AV; Linhas azuis: configuração média do MA.

A análise de variáveis canônicas (AVC) mostrou diferenças significativas entre as distâncias Procrustes, segundo os sexos e as fontes alimentares. Graficamente, estas diferenças são representadas pelas duas primeiras variáveis canônicas (VC) alinhadas com o maior eixo de variação entre os grupos, desta forma é considerada a variação entre os grupos e intragrupo (Figura 4).

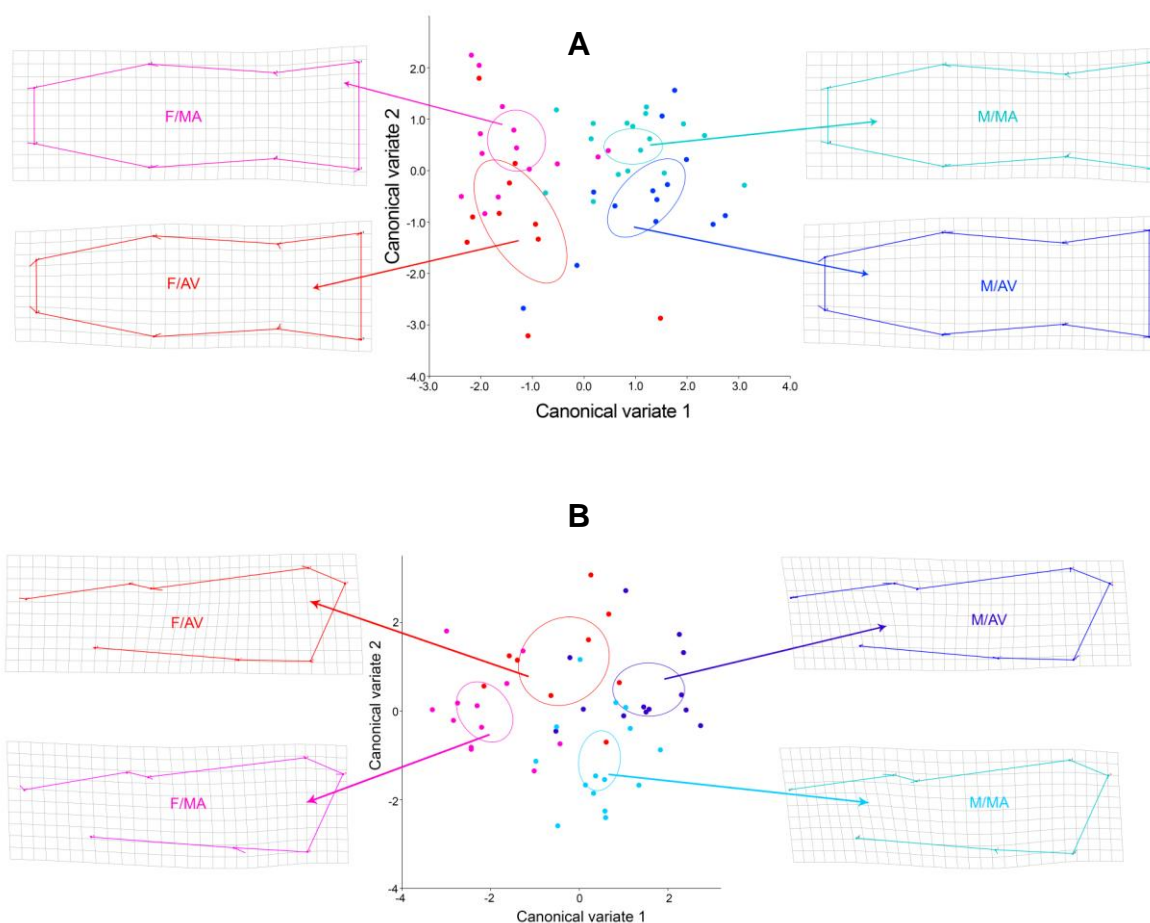


Figura 4: Análise de variáveis canônicas da forma da cabeça, segundo o sexo e a fonte alimentar de *T. williami*. A: Vista dorsal, B: Vista lateral. F: fêmea. M: macho. AV: grupo alimentado em ave; MA: grupo alimentado em mamífero. As linhas representam a forma média de cada grupo, segundo sexo e fonte alimentar. A grade de deformação indica a variação do grupo em relação à configuração média.

A AVC mostrou que houve diferença na forma da cabeça, segundo o sexo e a fonte alimentar. Esta diferença foi testada através de ANOVA Procrustes em ambas as vistas e resultou em diferenças significativas tanto entre os sexos quanto entre as fontes alimentares (**Tabela 7**). Por outro lado, a análise do tamanho centróide mostrou claramente o dimorfismo sexual, mas não houve diferenças entre as fontes alimentares.

Tabela 7: ANOVA Procrustes do Tamanho Centróide e da Forma de *Triatoma williami*, segundo sexo e fonte alimentar.

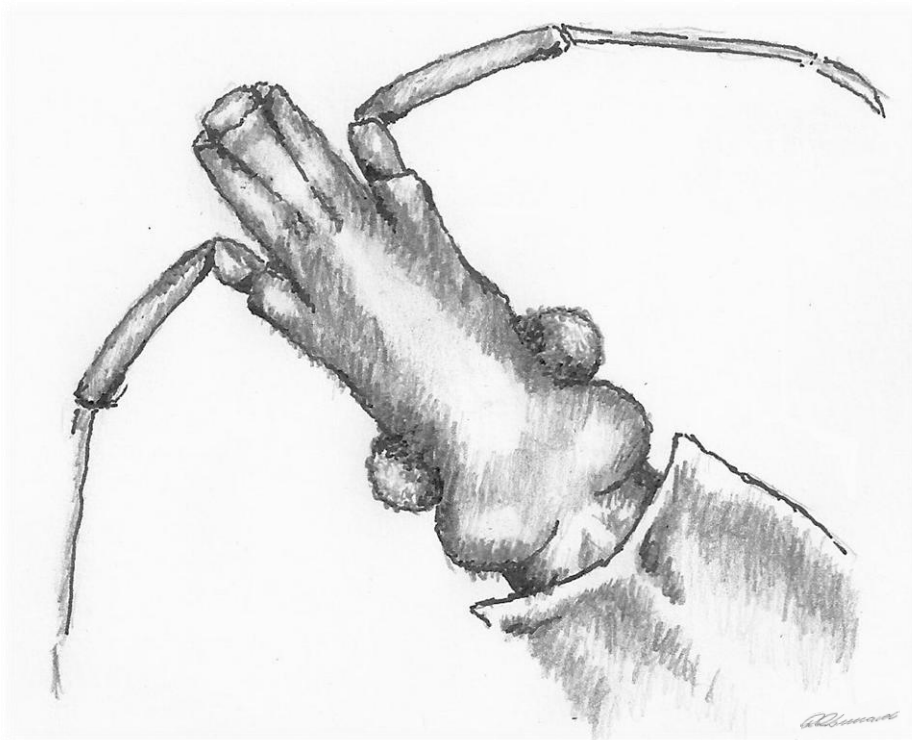
EFEITO	SQ	QM	gl	F	P
VISTA DORSAL					
Tamanho centróide					
Sexo	468461.3279	468461.3279	1	39.45	<.0001
Fonte alimentar	3337.56206	3337.56206	1	0.28	0.5983
Forma					
Sexo	0.00147508	0.000245846	6	5.31	<.0001
Fonte alimentar	0.00127951	0.000213252	6	4.61	0.0002
VISTA LATERAL					
Tamanho centróide					
Sexo	271858.7489	271858.7489	1	47.44	<.0001
Fonte alimentar	8160.938121	8160.938121	1	1.42	0.2387
Forma					
Sexo	0.00306804	0.00025567	12	5.94	<.0001
Fonte alimentar	0.00098303	8.19188E-05	12	1.9	0.0316

A análise multivariada da função discriminante mostrou altos percentis de classificações corretas entre os dois grupos, tanto para o sexo quanto para a fonte alimentar (**Tabela 8**). A validação dentro de cada grupo também teve uma concordância alta com 80% das fêmeas e 83% dos machos classificados no grupo correto; e 86 % dos insetos AVE e 91% dos insetos MAM foram classificados no sexo correto.

Tabela 8: Reclassificação dos indivíduos (Validação Cruzada), de acordo com o sexo e a fonte alimentar, após a análise multivariada das funções discriminantes de forma e tamanho da cabeça de *Triatoma williami*.

EFEITO	RECLASSIFICAÇÃO		
	Concondante	Discordante	% Concordância
Entre os grupos			
Sexo	48	7	87
Fonte alimentar	42	13	76
Dentro dos grupos			
Fêmeas - AVE ou MAM	20	5	80
Machos - AVE ou MAM	25	5	83
AVE - Fêmea ou Macho	20	3	86
MAM - Fêmea ou Macho	29	3	91

A influência da alometria na variação da forma da cabeça de *T. williami* foi avaliada através de regressão multivariada do tamanho centróide e da variáveis de forma. Houve uma fraca relação entre o tamanho e a forma, sendo que o tamanho foi preditivo de 4,7% da variação da forma após a permutação.



DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 Desenvolvimento pós-embrionário e competência vetorial

O período médio de incubação dos ovos das fêmeas silvestres de *T. williami* obtido neste estudo, foi próximo ao relatado anteriormente por Silva et al. (1996), em torno de 25 dias. Outra espécie do mesmo complexo, o *Triatoma klugi*, também apresentou período de incubação de 22 dias, sob as mesmas condições de temperatura e umidade (Emmanuelle-Machado et al. 2002).

A taxa de eclosão dos ovos de *T. williami* foi próxima a de *T. arthurneivai* (92,8%, Juarez 1970), de *T. sordida* (82,5%, Mello 1976), de *T. rubrofasciata* (80,5%, Braga et al. 1998) e de *T. pseudomaculata* (88,3%, Gonçalves et al. 1997) e muito acima da encontrada para as espécies *T. carvalhoi* (38,3%, Cardozo-de-Almeida et al. 2014) e *T. matogrossensis* (58,7%, Marassá et al. 1998). A alta taxa de eclosão dos ovos de *T. williami* indica a adequação das condições do laboratório onde foram mantidos durante o experimento.

Neste estudo em condições controladas de temperatura e umidade e sem competição entre os indivíduos, o desenvolvimento pós-embrionário do *T. williami* teve duração similar entre os grupos MAM e AVE. No entanto, o ciclo foi mais longo em relação ao descrito por Silva et al. (1996), com aproximadamente 190 dias para machos e 236 dias para fêmeas de *T. williami*. Estas diferenças na duração do ciclo biológico entre este estudo e o trabalho de Silva et al. (1996) podem ter decorrido da exposição à fonte alimentar diferente, incluindo o sangue humano no ciclo mais curto e é sabido que a qualidade nutricional do sangue interfere na longevidade (Sulbaran & Chaves 2006, Nattero et al. 2011).

O ciclo biológico de *T. williami* foi mais curto que o de *T. jubergi*, uma espécie simpátrica e do mesmo subcomplexo do *T. williami* (Gomes & Silva 2000). Estes autores identificaram que as diferenças na temperatura influenciaram radicalmente na duração do ciclo, variando de 186,1 a 601,9 dias, em 25 e 30°C, respectivamente. No entanto, neste estudo com *T. williami* e no

anterior, de Silva et al. (1996), os grupos foram mantidos à mesma temperatura (27 ± 1 °C) e, assim, não há como ponderar em que medida a temperatura influenciou no ciclo desta espécie.

O período de desenvolvimento ninfal de *T. williami* foi muito mais longo do que o observado em outras espécies vetoras efetivas alimentadas em aves e mamíferos, tais como *T. brasiliensis*, *T. infestans*, *T. pseudomaculata* e *T. sordida* (Guarneri et al. 2000c). Todas estas espécies apresentaram a duração do estágio ninfal mais curta, quando alimentados em mamíferos, diferentemente do *T. williami*, cujo período ninfal foi similar em ambas as fontes alimentares. A duração do ciclo biológico representa o tempo de uma geração em termos de dinâmica populacional (Cabello & Galíndez Girón 1998) e, portanto, este fato pode sugerir uma inabilidade de *T. williami* de formar populações significativas, já que completa apenas uma geração por ano. Espécies que tem ciclos rápidos e com mais de uma geração por ano, como *T. infestans*, tem maior chance de formar grandes populações em ambientes domésticos e peridomésticos, (Schofield 1985b, Noireau et al. 2000).

A medida que o desenvolvimento de *T. williami* progrediu, houve um aumento na duração dos estádios, porém, observou-se que a duração de N3 foi mais curta em ambos os grupos. Esta redução do terceiro estágio não foi observada nos ciclos de *T. arthurneivai* (Juarez 1970), *T. dimidiata* (Reyes & Angulo 2009), *T. carcavallo* (Cardozo-de-Almeida et al. 2014), mas, por outro lado ocorreu com vetores importantes como *T. infestans*, *T. pseudomaculata* e *T. sordida* (Guarneri et al. 2000c).

O número de interações para o repasto sanguíneo entre o triatomíneo e o hospedeiro é proporcional ao risco de transmissão do *T. cruzi* (Rocha et al. 2001). A alimentação de *T. williami* em aves implicou em um maior número de repastos entre as ecdises, o que em condições naturais pode aumentar o risco de predação durante a hematofagia. Em um cenário epidemiológico é mais importante a frequência de repastos em mamíferos, e a quantidade observada no grupo MAM foi próxima da descrita para *T. brasiliensis* alimentados em camundongos, principalmente nos estádios N2, N3, e N4 (Soares et al. 2000). No primeiro estágio, o *T. williami* efetuou apenas um repasto, enquanto que *T.*

brasiliensis precisou de três repastos. Já em N5, o *T. williami* fez cinco repastos, contra apenas dois do *T. brasiliensis*. Outra espécie secundária, *T. pseudomaculata*, precisa de ao menos dois repastos para que ocorram as ecdises (Soares et al. 2000, Carbajal-de-la-Fuente et al. 2010). Já o *T. jubergi*, outra espécie com potencial vetorial indefinido, faz apenas um repasto em todos os estádios ninfais (Gomes & Silva 2000).

O período de jejum espontâneo antes das ecdises de *T. williami*, tanto do grupo MAM quanto AVE, foi próximo ao descrito para *T. maculata* (Luitgards-Moura et al. 2005), e mais curto do que o encontrado para *T. rubrovaria* (Almeida et al. 2005).

Após as ecdises, as ninfas e, mais ainda, os adultos de *T. williami* permaneceram em jejum por períodos muito longos, quando comparado ao *T. maculata* e *T. rubrovaria*. O período de jejum espontâneo após as ecdises de adultos do *T. williami*, principalmente no grupo AVE, excedeu o período de sobrevivência ao jejum compulsório de machos e fêmeas de várias espécies, como o *T. brasiliensis*, *T. vitticeps*, *T. nitida*, *T. rubrofasciata*, e *T. sordida* (ver: Costa & Perondini 1973, Juarez & Silva 1982, Gonçalves et al. 1989, Galvão et al. 1996, Cortéz & Gonçalves 1998). Segundo Cardozo-de-Almeida (2014), um dos principais entraves para o controle de triatomíneos, é a resistência dos insetos ao jejum. Esta resistência é uma importante estratégia de sobrevivência, quando em situações adversas ou de privação alimentar (Jurberg & Costa 1989); é também importante para a dispersão pelo transporte passivo e para a colonização de novos ambientes, principalmente no estágio ninfal (Cortéz & Gonçalves, 1998). Assim sendo, como o *T. williami* mostrou-se naturalmente resistente ao jejum e rejeitou espontaneamente os repastos por longos períodos, tanto em aves quanto em mamíferos, nota-se que a espécie tem características biológicas que podem interferir no sucesso de medidas de controle do vetor.

O padrão de mortalidade de *T. williami* nos estádios ninfais foi irregular como ocorre com muitas outras espécies, tais como *T. rubrofasciata* (Braga et al. 1998), *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* (Carbajal-de-la-Fuente et al. 2010), *T. carcavallo* (Cardozo-de-Almeida et al. 2014), *T. tibiamaculata* (Rodrigues et al. 2007). A mortalidade acumulada até o quinto estágio ninfal de *T. williami* foi maior

no grupo alimentado em aves como também foi mostrado para *T. klugi* alimentados em aves e mamíferos, (33 e 23%, Emmanuelle-Machado et al. 2002), para *Rhodnius neglectus* (45,1 e 26,3%; Diotaiuti & Dias 1987); para *T. brasiliensis* (24,9 e 4,2%), *T. infestans* (39,6 e 26%), *T. pseudomaculata* (4,1 e 2 %) e *T. sordida* (28 e 26%) (Guarneri et al. 2000c). Vários trabalhos sugerem que as diferenças na mortalidade observadas entre os grupos provavelmente resulta das características nutricionais do sangue dos hospedeiros (Martínez-Ibarra et al. 2006, Nattero et al. 2012), e também pode ser atribuída, em partes, às dificuldades dos insetos em se alimentarem em aves em condições laboratoriais. Embora tenha tido mortalidade maior do que a relatada para outras espécies, *T. williami* foi capaz de completar seu ciclo de desenvolvimento, independentemente da fonte de repasto sanguíneo.

O tempo entre a apresentação à fonte alimentar e o início do repasto de *T. williami* nos estádios ninfais foi similar ao observado em algumas espécies de importância vetorial, como *T. pseudomaculata* (Gonçalves et al. 1997), *T. infestans*, (Paredes-esquivel et al. 2010) e *Triatoma rubida* (Martínez-ibarra et al. 2012). Já na fase adulta, tanto as fêmeas quanto os machos de *T. williami* foram mais rápidos que *T. pseudomaculata* e *Triatoma rubida*. Um estudo sobre *Rhodnius neglectus* e *R. robustus* (Barreto-Santana et al. 2011) mostrou que os adultos iniciam o repastos mais rapidamente que ninfas, assim como ocorre com o *T. williami* e ainda, com *T. sordida*, *T. guasayana* e *T. infestans* (Loza-Murguía & Noireau 2010), entretanto estas três últimas espécies são mais vorazes que o *T. williami*, por acessarem a fonte alimentar em menos de um minuto.

O *T. williami* teve repastos muito longos quando alimentado em mamíferos, se comparado a outras espécies de importância vetorial, como o *T. sordida*, (Diotaiuti et al. 1995, Loza-Murguía & Noireau 2010), e *T. infestans*, *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* (Guarneri et al. 2000b, Rodríguez et al. 2008). Quando alimentado em aves, o *T. williami* efetuou os repastos em menos tempo, porém essa redução pode estar mais associada à perturbação do processo alimentar pela ave, do que a fatores intrínsecos do vetor ou do hospedeiro, que serão discutidas adiante. Embora as aves estivessem anestesiadas e sedadas, ocorriam pequenos espasmos musculares durante o repasto e o *T. williami*

mostrava-se sensível a qualquer movimento do hospedeiro e interrompia o repasto, frequentemente de modo definitivo. Da mesma forma, Soares et al. (2000) observaram que movimentos suaves do hospedeiro perturbavam o repasto de *T. pseudomaculata*, porém deveria haver movimentação muito mais intensa para que o *T. brasiliensis* desistisse do repasto. Apesar das respostas diferentes, estas duas espécies são importantes vetores de *T. cruzi* no Brasil, fato que pode indicar que o comportamento de autoproteção não interfere diretamente na capacidade vetorial. Ainda neste sentido, Pereira et al. (1998) estudaram o comportamento alimentar de *T. infestans* e *Rhodnius prolixus* em camundongos anestesiados e não anestesiados e concluíram que a atividade do hospedeiro é determinante para o sucesso alimentar, sendo muito mais produtivo o repasto em animais inertes, assim como ocorreu com *T. williami*.

Ao se considerar apenas os fatores sanguíneos, seria esperado que os insetos tivessem maior dificuldade na hematofagia em mamíferos, como foi observado em outras espécies (Guarneri et al. 2000b, Martínez-Ibarra et al. 2003a, Nattero et al. 2012). Apesar desta dificuldade, um estudo sobre a preferência alimentar de ninfas de primeiro estágio de triatomíneos do complexo *Oliverai*, mostrou o ecletismo alimentar de *T. williami*, com notável preferência por aves (Lorosa et al. 2008). Em trabalhos de campo, as formas imaturas de *T. williami* são encontradas no peridomicílio, comumente alocadas em galinheiros, assim, a ornitofilia sugerida pelo estudo de preferência alimentar do *T. williami* e pelos ecótipos onde são encontrados no peridomicílio, pode indicar que a associação da espécie à aves é oportunística, mais do que adaptativa ou seletiva, já que os insetos aceitaram prontamente o repasto em mamíferos, completaram mais rapidamente o ciclo de desenvolvimento pós-embriônico e, ainda, tiveram melhor performance alimentar em mamíferos.

Nos estádios ninfais, *T. williami* mostrou taxas de ingestão próximas a de *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* (Guarneri et al. 2000b, Soares et al. 2000). Já na fase adulta, tanto as fêmeas quanto os machos de *T. williami* tiveram taxas de ingestão superiores ao *T. infestans* (Durán et al. 2014). A rapidez com que o inseto efetua o repasto é um atributo relevante na capacidade vetorial, quanto

mais eficiente, maior a probabilidade de sobrevivência da espécie (Guarneri et al. 2000b).

Além do tempo de duração do repasto, da quantidade de sangue ingerida e da taxa de ingestão, o tempo em que ocorre a defecação também é um fator importante na determinação da capacidade vetorial (Trumper & Gorla 1991). Apesar da repleção abdominal facilitar a mecânica das dejeções uma quantidade mínima de sangue ingerido já pode estimular a defecação (Piesman & Sherlock 1983).

Embora a quantidade de sangue ingerido, ou ganho de peso, não esteja necessariamente relacionada com a defecação, por outro, irá refletir na dinâmica populacional, na oviposição, no período de desenvolvimento, na capacidade de resistência ao jejum e na dispersão ativa através do vôo (Schofield, 1985a; Rocha et al. 2004). Estes são fatores importantes para a determinação do potencial vetorial. O ganho de peso proporcional de *T. williami* do grupo MAM, decresceu ao longo dos estádios de desenvolvimento, o que não foi visto em *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*, alimentados em camundongos (Guarneri et al. 2000c, Soares et al. 2000), cujo ganho de peso teve pequena variação entre os estádios. Nos três primeiros estádios ninfais de *T. williami*, o ganho de peso proporcional foi superior ao de *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*. Entretanto, nos estádios N4 e, mais ainda em N5, foi inferior ao destas duas espécies. Da mesma forma, tanto as fêmeas quanto os machos de *T. williami*, tiveram ganho de peso muito inferior ao obtido por machos e fêmeas de *T. infestans* (Rodríguez et al. 2008).

Ao considerar que os estádios N5 e Adulto são os mais importantes na transmissão do *T. cruzi* (Rodríguez et al. 2008), o ganho de peso proporcional aponta que N5 e Adultos de *T. williami* tem menor potencial vetorial que *T. rubida*, *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*, *T. infestans*. No entanto, ao se avaliar a quantidade de sangue ingerida, o *T. williami* obteve, no estágio N5 e na fase adulta, volumes maiores ou muito próximos aos das três últimas espécies e, também, de outras tidas como excelentes vetores, tais como *T. sordida* e *T. patagonica* (Guarneri et al. 2000c, Nattero et al. 2002). Se o ganho de peso

proporcional é desfavorável a capacidade vetorial do *T. williami*, o oposto é dado pela quantidade de sangue ingerida.

Outro ponto que chama a atenção são as diferenças entre os sexos no ganho de peso proporcional e na taxa de ingestão. As fêmeas de *T. williami* ingerem maiores quantidades de sangue em menos tempo e obtêm o dobro do ganho de peso que os machos. Isto sugere que as fêmeas exploram melhor a fonte alimentar do que os machos, o que pode promover aspectos reprodutivos e populacionais.

A hematofagia e a possibilidade de ser infectado por *T. cruzi* não são suficientes para determinar a capacidade vetorial de uma espécie, há outros requisitos necessários associados ao grau de antropofilia e a defecação (Klotz et al. 2009, Tibayrenc 2011, Durán et al. 2014). Alguns aspectos da hematofagia, da taxa de infecção e da antropofilia do *T. williami* vistos anteriormente são similares aos de espécies sabidamente incriminadas na transmissão do *T. cruzi* aos humanos. Assim, para finalizar a avaliação do potencial vetorial do *T. williami* associado ao processo alimentar, fez-se a avaliação do padrão de defecação, dado pelo intervalo de tempo entre o repasto e a defecação. Zeledón et al. (1977) sugeriram que espécies de triatomíneos que defecam dentro de dez minutos após o repasto podem ser considerados vetores potenciais.

Os triatomíneos do grupo AVE tiveram uma frequência decrescente de defecações dentro de dez minutos após o repasto, de acordo com os estádios de desenvolvimento. Esta tendência foi acompanhada pela redução do ganho de peso e da taxa de ingestão, fatores possivelmente associados à perturbação do processo alimentar descrito anteriormente.

Em geral, a proporção de insetos do grupo MAM, que defecou em até 10 minutos após o repasto, foi inferior à relatada em estudos com *T. infestans*, *T. recurva*, *T. protacta* e *T. rubida*, onde todos os insetos defecaram dentro deste período (Canals et al. 1999, Biral dos Santos et al. 2006, Martínez-ibarra et al. 2012). Em ambos os grupos houve um padrão de defecação irregular entre os estádios, sendo os estádios N2 e N3 os que mostraram as maiores frequências de defecações durante o repasto e em até 10 minutos após o término. É

importante ressaltar que no grupo MAM, as N3 apresentaram um padrão de defecação similar ao exibido por N3 de *T. sordida* e *T. infestans* (Diotaiuti et al. 1995).

O padrão de defecação variou entre os sexos apenas no grupo MAM, com maior proporção de fêmeas defecando dentro de 10 minutos após o repasto, o que corrobora com os achados para *Rhodnius ecuadorensis* (Villacís et al. 2008); *T. sordida* (Crocco & Catalá 1996), *T. rubida* (Martínez-ibarra et al. 2012). Porém, a percentagem de fêmeas de *T. williami* que defecou neste período foi inferior a de *T. patagônica*, com 80% (Nattero et al. 2012), e de *T. infestans* (Biral dos Santos et al. 2006), *T. recurva* e *T. rubida* (Martínez-ibarra et al. 2012), com todos os insetos defecando em menos de dez minutos após o repasto.

Há uma grande variação no tempo de defecação entre espécies de triatomíneos e entre os estádios de cada espécie, mas os insetos de uma mesma espécie que ingerem mais sangue em menos tempo, tem mais chances de defecar durante o repasto e, assim, tem maiores oportunidades de transmitir o *T. cruzi* (Trumper & Gorla 1991). Apesar de o padrão de defecação ter o valor reconhecido na definição do potencial vetorial de uma espécie, os hábitos de defecação dos triatomíneos provavelmente influenciam menos na capacidade vetorial do que a densidade da infestação domiciliar, do que a afinidade com o hospedeiro humano e do grau de adaptação ao ambiente doméstico (Piesman & Sherlock 1983).

6.2 Plasticidade Morfológica

A avaliação da influência da fonte alimentar nas características bionômicas do *T. williami* mostrou uma alta plasticidade no desenvolvimento pós-embrionário e na hematofagia. Já a forma como a dieta influenciou na plasticidade morfológica foi claramente demonstrada pelas técnicas de morfometria geométrica, ao se avaliar as diferenças no tamanho e na forma dos insetos.

O dimorfismo sexual identificado no tamanho da cabeça do *T. williami*, com as fêmeas maiores do que os machos, ocorre com frequência entre espécies

de triatomíneos (Vargas et al. 2006, Gaspe et al. 2012, Nattero et al. 2013). Em muitas espécies a variação no tamanho está relacionada com a qualidade nutricional do sangue (Guarneri et al. 2000c, Feliciangeli et al. 2007, Whitman & Agrawal 2009). É interessante notar que o *T. williami* não apresentou variações no tamanho da cabeça em relação à fonte alimentar, diferentemente do que foi observado em *T. infestans*, cujas cabeças eram muito maiores nos insetos alimentados em mamíferos do que naqueles alimentados em aves (Nattero et al. 2013).

A fonte alimentar não interferiu no tamanho mas modificou a forma da cabeça. A falta de associação entre o tamanho e a forma pode indicar mais do que variações no comportamento alimentar do inseto ou do valor nutricional do sangue do hospedeiro, já que o tamanho é considerado mais lábil do que a forma (Dujardin et al. 2014). Há considerações de que as variações no tamanho são mais influenciadas por fatores ambientais, e as variações de forma por fortes componentes genéticos (Dujardin & Slice 2007, Schachter-Broide et al. 2009). Diferentemente, o tamanho da cabeça de *T. williami* mostrou-se mais estável do que a forma, quando exposto às diferentes fontes alimentares. Embora a forma embute a idéia de ser uma característica genética, porém, ela também varia de acordo com as condições ambientais, como mostrado pelo *T. williami*. Este fato corrobora com o estudo de *T. dimidiata*, que apresentou uma variação na forma da cabeça associada à condição ambiental de iluminação (Dujardin et al. 2009).

Os resultados sugerem que as diferenças observadas na forma da cabeça de *T. williami* alimentados em diferentes fontes pode ser uma resposta plástica à interação entre o inseto e seus hospedeiros. Os triatomíneos obtêm o sangue diretamente de arteríolas e vênulas de hospedeiros vertebrados, então a performance alimentar difere bastante entre as espécies, principalmente devido aos fatores relacionados à fisiologia do hospedeiro e do aparelho alimentar do inseto (Sant'Anna et al. 2001, Paim et al. 2011). Além destes fatores, a eficiência alimentar dos triatomíneos é diretamente influenciada pela atividade anti-hemostática da saliva em resposta à hemostase de um hospedeiro em particular, que pode facilitar a manutenção de um fluxo contínuo de sangue durante o repasto (Araújo et al. 2011, Nattero et al. 2013). Muitas biomoléculas da saliva de

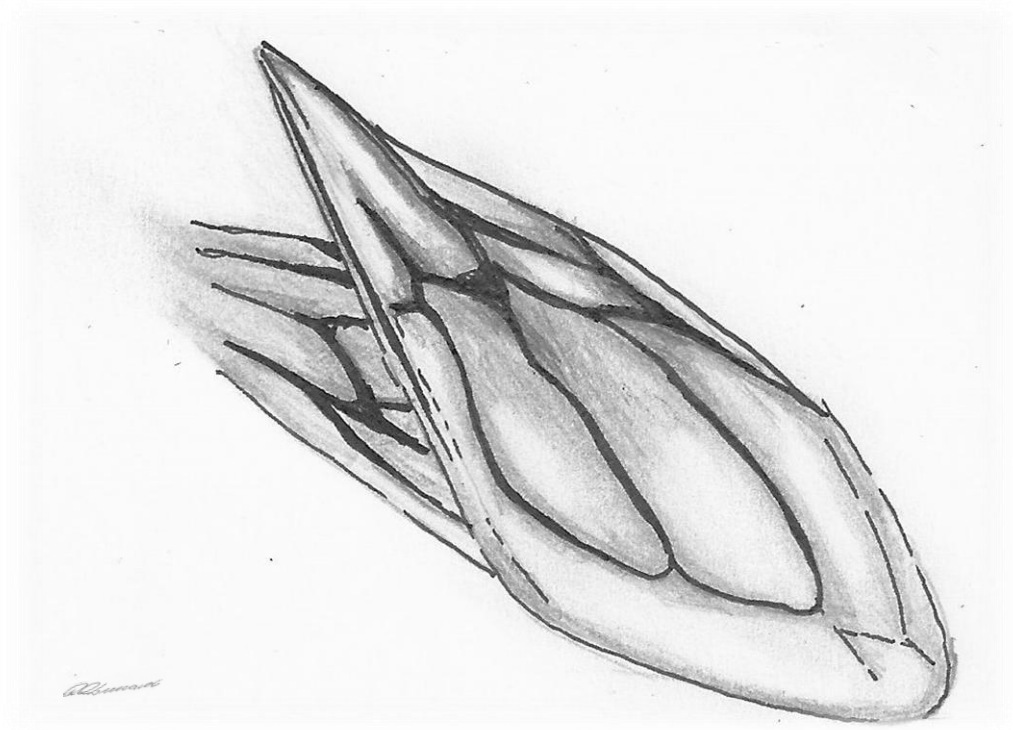
triatomíneos já foram descritas, incluindo anticoagulantes, vasodilatadores, anti-histamínicos, imunossupressores, inibidores do sistema complemento e da agregação plaquetária (Wenk et al. 2010).

A composição da saliva do *T. williami* permanece desconhecida e não suporta, ainda, nenhuma explanação sobre diferenças na ingestão de sangue ou processo alimentar do inseto. Por outro lado, são muito conhecidas as diferenças hemostáticas de aves e mamíferos, embora os mecanismos básicos de hemostase sejam bastante conservados em ambos (Guarneri et al. 2000b). As aves tem trombócitos com função similar às plaquetas dos mamíferos, porém são menos efetivas, já que não respondem com a mesma intensidade de coagulação que a agregação plaquetária induz (Martínez-Ibarra et al. 2003b, Araújo et al. 2011). As aves também carecem de alguns fatores de coagulação, particularmente na via intrínseca de coagulação (Lewis 1996). Como consequência das diferenças nos mecanismos hemostáticos e ainda da viscosidade do sangue, que é mais alta nos mamíferos comparados às aves (Windberger & Baskurt 2007), o processo de sucção em mamíferos pode exigir um maior esforço mecânico muscular dos triatomíneos e exigir uma atividade salivar anticoagulante mais eficiente.

As diferenças nas características físicas do sangue de aves e mamíferos pode afetar a ingestão de sangue pelos triatomíneos, dado que a capacidade de ingestão destes insetos é promovida pela bomba cibarial. A bomba cibarial, cuja musculatura ocupa praticamente toda a cabeça do inseto (Bennet-Clark 1963), cria uma pressão negativa entre a abertura do canal alimentar e o lúmen do compartimento alimentar e, então, a viscosidade do sangue, o tamanho dos eritrócitos e sua capacidade de deformar podem ser diretamente associados ao esforço muscular da bomba cibarial (Kingsolver & Daniel 1995). Como os mecanismos hemostáticos e a viscosidade do sangue interferem na sucção, a plasticidade morfológica observada na cabeça do *T. williami* pode ser devido à adaptação aos seus hospedeiros, com diferente desenvolvimento da musculatura da bomba cibarial. Esta possibilidade foi mostrada em *T. infestans*, que apresentou grandes alterações na forma da cabeça, quando comparados os grupos alimentados em mamíferos e em aves (Nattero et al. 2013).

Outro fator que pode também afetar o repasto dos triatomíneos é o fluxo sanguíneo do vaso canulado, assim, em um mesmo hospedeiro, as performances de repasto podem sofrer grandes variações (Araújo et al. 2009). Não foi objeto deste estudo avaliar o tamanho do vaso canulado, tampouco o fluxo sanguíneo dos vasos, mas admite-se que as diferenças nos vasos das aves e mamíferos utilizados, podem também ter contribuído para as variações encontradas na performance alimentar e na morfologia da cabeça (Forma).

As alterações morfológicas da cabeça do *T. williami* associadas à fonte alimentar e ao sexo, foram suficientemente grandes para permitir a diferenciação da população em grupos. A análise discriminante mostrou que é possível a reclassificação de espécimes externos com relativa segurança dentro dos grupos e isto pode ser útil no seguimento de mudanças dos hábitos alimentares ou dos ecótopos de populações triatomínicas.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de *T. williami* foi possível nas condições de laboratório definidas neste estudo. As altas taxas de eclosão e sobrevivência da espécie conferem a adaptação ao meio artificial em que foi mantida ao longo do experimento.

A fonte alimentar interferiu no desenvolvimento pós-embrionário de *T. williami*, sendo mais favorável a alimentação com sangue de mamíferos, dado que com esta fonte o ciclo mostrou-se mais rápido, com menor mortalidade e com maior facilidade de manipulação do hospedeiro. No entanto a definição da fonte alimentar mais apropriada para a manutenção de colônias de *T. williami* não foi possível com os resultados deste estudo, pois requer que seja avaliada a influência da fonte alimentar nas características reprodutivas da espécie e, então na dinâmica populacional.

O padrão de repasto e de defecação de formas adultas de *T. williami* indicaram uma baixa competência vetorial, porém o terceiro e o quinto estádios ninfais mostraram comportamentos com padrão similar aos apresentados por outras espécies de reconhecida competência vetorial.

Apesar da resistência ao jejum não ter sido objetivo deste estudo, os resultados sugerem que o *T. williami* pode resistir a longos períodos sem alimento. Esse comportamento pode dificultar medidas de controle e aumentar a possibilidade de recolonização de ambientes previamente tratados.

O *T. williami* apresentou um grau de plasticidade morfológica similar à de espécies secundárias, e este atributo pode facilitar os processos de sinantropia. Porém, ainda permanece um desafio testar se a plasticidade do *T. williami* confere uma vantagem para culminar em domiciliação.

Em uma notação epidemiológica, o *T. williami* poderia ser considerado um bom candidato à espécie secundária, mesmo que ainda sejam desconhecidos seus ecótopos e hospedeiros naturais. Os padrões de alimentação, de dejeção e a plasticidade fenotípica aliados à invasão de domicílios e peridomicílios e pode facilitar o processo de colonização do *T. williami*.

8. PERSPECTIVAS

A partir dos resultados deste trabalho, surgiram outras questões sobre o comportamento, o desenvolvimento e a competência vetorial de *T. williami*:

1. A interferência da fonte alimentar encontrada no desenvolvimento pós-embrionário também ocorre no padrão reprodutivo (acasalamento, fecundidade e fertilidade) de *T. williami*?

2. O desenvolvimento pós-embrionário mais rápido e com menor mortalidade no grupo alimentado em camundongos pode sugerir uma associação do *T. williami* com mamíferos em ambiente natural?

3. A competência vetorial de *T. williami* pode colocá-lo como uma espécie secundária na transmissão do *T. cruzi* em Barra do Garças-MT?

Para responder estas questões, já há outros trabalhos sendo realizados por nosso grupo de pesquisa, dentre estes:

- Identificação das fontes alimentares de *T. williami* em ambiente natural, através de análise de DNA de conteúdo intestinal de espécimes silvestres.

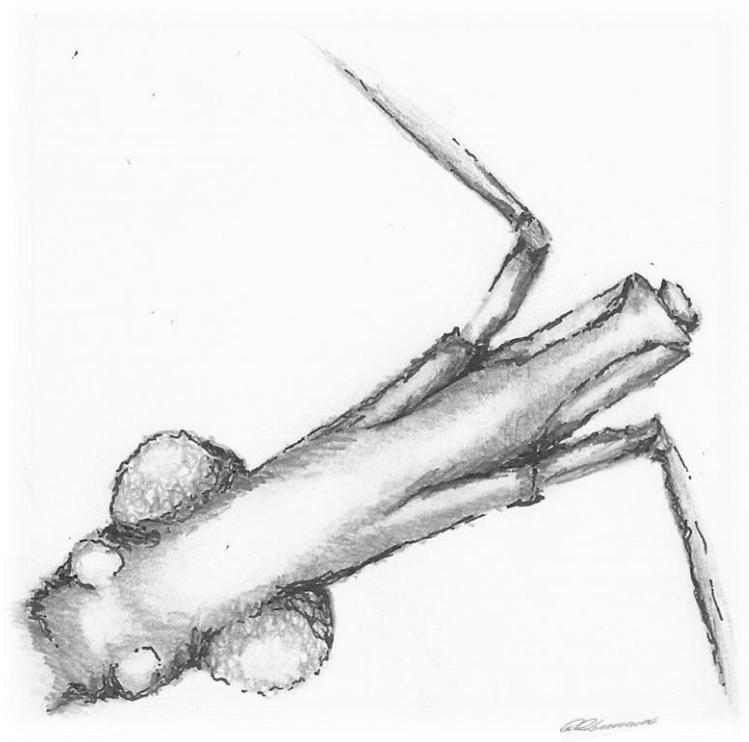
- Avaliação do padrão reprodutivo de *T. williami* alimentado em diferentes fontes alimentares.

- Comparação do desenvolvimento pós-embrionário de *T. williami* mantidos em colônias e em isolamento.

- Caracterização da fauna triatomínica no município de Barra do Garças - MT

- Pesquisa domiciliar e peridomiciliar de triatomíneos em área urbana margeante as áreas de preservação ambiental no município de Barra do Garças - MT.

Ainda como uma extensão deste trabalho e de forma complementar à identificação das fontes alimentares de *T. williami* em ambiente natural, será realizada a morfometria geométrica dos espécimes capturados, com o objetivo de validar o uso desta técnica na discriminação dos insetos, de acordo com as fontes alimentares.



REFERÊNCIAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad-Franch F, Monteiro FA, Jaramillo O N, Gurgel-Gonçalves R, Dias FBS, Diotaiuti L 2009. Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). *Acta Trop.* 110: 159–177.
- Almeida CE, Folly-ramos E, Agapito-souza R, Magno-esperança G, Pacheco RS, Costa JM 2005. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard , 1843) (Hemiptera - Reduviidae - Triatominae) IV : bionomic aspects on the vector capacity of nymphs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100: 231–235.
- Almeida CE, Lima MM, Costa J 2014. Ecologia dos vetores. In: Galvão C (Ed.), *Vetores da doença chagas no Bras.*, Sociedade Brasileira de Zoologia, Curitiba, pp. 210–235.
- Andrade-Neto OA de, Arruda MCC de, Kerkhoff J, Lunardi RR, Arrais-Silva WW 2012. Risk of domiciliation of *Triatoma williami* Galvão, Souza e Lima, 1965 in a municipality of Brazilian Legal Amazon region. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 2: S265–S267.
- Araújo RN, Gontijo N de F, Guarneri AA, Gontijo AF, Soares AC, Pereira MH 2011. Electromyogram of the Cibarial Pump and the Feeding Process in Hematophagous Hemiptera. *Adv. Appl. Electromyogr.*: 137–158.
- Araújo RF, Mendonça VJ, Rosa JA da, Matos JFM, Lima SCR, Figueiredo MA de A 2014. Description of a newly discovered *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) Foci in Ibipeba , State of Bahia , Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 47: 513–516.
- Araújo RN, Soares AC, Paim RMM, Gontijo N de F, Gontijo AF, Lehane MJ, Pereira MH 2009. The role of salivary nitrophorins in the ingestion of blood by the triatomine bug *Rhodnius prolixus* (Reduviidae: Triatominae). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 39: 83–89.

- Arnqvist G, Martensson T 1998. Measurement error in geometric morphometrics: empirical strategies to assess and reduce its impact on measures of shape. *Acta Zool. Acad. Sci. Hungaricae* 44: 73–96.
- Arrais-silva WW, Rodrigues RSV, Moraes LN De, Venere PC, Lunardi RR, Souza IL, Souto PC de S 2011. First report of occurrence of *Triatoma williami* Galvão, Souza e Lima, 1965 naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 in the State of Mato Grosso, Brazil. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 1: 245–246.
- Bargues MD, Klisiowicz DR, Panzera F, Noireau F, Marcilla A, Perez R, Rojas MG, O'Connor JE, Gonzales-Candelas F, Galvão C, Jurberg J, Carcavallo RU, Dujardin J-P, Mas-Coma S 2006. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. *Infect. Genet. Evol.* 6: 46–62.
- Bargues MD, Schofield CJ, Dujardin J-P 2010. Classification and Phylogeny of the Triatominae. In: Telleria J, Tibayrenc M (Eds.), *Am. Trypanos. Chagas Dis.*, Elsevier, London, pp. 117–147.
- Barreto-Santana D, Starling J, Gurgel-Gonçalves R, Cuba CAC 2011. Biologia comparativa e comportamento alimentar de *Rhodnius neglectus* e *Rhodnius robustus* (Triatominae) sob condições de laboratório. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44: 490–495.
- Batista VSP, Fernandes FA, Cordeiro-Estrela P, Sarquis O, Lima MM 2013. Ecotope effect in *Triatoma brasiliensis* (hemiptera: Reduviidae) suggests phenotypic plasticity rather than adaptation. *Med. Vet. Entomol.* 27: 247–254.
- Bennet-Clark HC 1963. Negative Pressures Produced in the Pharyngeal Pump of the Blood-Sucking Bug, *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Biol.* 40: 223–229.
- Biral dos Santos C, Leite GR, Sessa PA, Falqueto A 2006. Dynamics of feeding and defecation in *Triatoma vitticeps* (Stal , 1859) (Hemiptera , Reduviidae , Triatominae) and its potential in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 543–546.

- Bookstein FL 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. *Stat. Sci.*: 181–222.
- Bookstein FL 1989. “Size and shape”: a comment on semantics. *Syst. Biol.* 38: 173–180.
- Bookstein FL 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Braga MV, Pinto ZT, Lima MM 1998. Life Cycle and Reproductive Patterns of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer , 1773) (Hemiptera : Reduviidae), under Laboratory Conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 539–542.
- Cabello DR, Galíndez Girón I 1998. Vital Statistics of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille 1811) (Hemiptera : Reduviidae) under Experimental Conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 257–262.
- Canale DM, Jurberg J, Carcavallo RU, Galvão C, Giron IG, Segura CAM, Rocha D da S, Martínez A 1999. Bionomics of some species. In: Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Jurberg J, Lent H (Eds.), *Atlas Chagas´ Dis. Vectors Am.*, Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro, pp. 839–890.
- Canals M, Solís R, Tapia C, Ehrenfeld M, Cattán PE 1999. Comparison of Some Behavioral and Physiological Feeding Parameters of *Triatoma infestans* Klug , 1834 and *Mepraia spinolai* Porter , 1934 , Vectors of Chagas Disease in Chile. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 687–692.
- Carbajal-de-la-Fuente AL, Cunha V, Rocha N, Lopes CM, Noireau F 2010. Comparative biology of the two sister species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 43: 15–18.
- Carcavallo RU 1999. Climatic Factors Related to Chagas Disease Transmission. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 367–369.
- Carcavallo RU, Jurberg J, Lent H, Noireau F, Galvão C 2000. Filogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposals for Taxonômic Arrangements. *Entomol. y Vectores* 7: 71–72.

- Cardini A, Elton S 2007. Sample size and sampling error in geometric morphometric studies of size and shape. *Zoomorphology* 126: 121–134.
- Cardozo-de-Almeida M, Neves SCT, Almeida CE, Lima NRC, Oliveira MLR de, Santos-Mallet JR dos, Gonçalves TCM 2014. Biology of *Triatoma carcavallo* Jurberg, Rocha & Lent, 1998 under laboratory conditions. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 47: 307–312.
- Carrasco HJ, Segovia M, Londoño JC, Ortegoza J, Rodríguez M, Martínez CE 2014. *Panstrongylus geniculatus* and four other species of triatomine bug involved in the *Trypanosoma cruzi* enzootic cycle: high risk factors for Chagas' disease transmission in the Metropolitan District of Caracas, Venezuela. *Parasit. Vectors* 7: 1–15.
- Chagas C 1909. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1: 159–218.
- Confalonieri UEC, Margonari C, Quintão AF 2014. Environmental change and the dynamics of parasitic diseases in the Amazon. *Acta Trop.* 129: 33–41.
- Cortez MR, Emperaire L, Piccinali R, Gürtler RE, Torrico F, Jansen AM, Noireau F 2007. Sylvatic *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the Andean valleys of Bolivia. *Acta Trop.* 102: 47–54.
- Cortéz MGR, Gonçalves TCM 1998. Resistance to Starvation of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) under Laboratory Conditions (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 549–554.
- Cortez MR, Monteiro FA, Noireau F 2010. New insights on the spread of *Triatoma infestans* from Bolivia-Implications for Chagas disease emergence in the Southern Cone. *Infect. Genet. Evol.* 10: 350–353.
- Costa J, Lorenzo M 2009. Biology, diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines--Chagas disease vectors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104 Suppl: 46–51.

- Costa MJ, Perondini ALP 1973. Resistência do *Triatoma brasiliensis* ao jejum. *Rev. Saude Publica* 7: 207–217.
- Coura JR, Dias JCP 2009. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104: 31–40.
- Crocco LB, Catalá SS 1996. Feeding and Defaecation Patterns in *Triatoma sordida*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91: 409–413.
- Curto de Casas SI, Carcavallo RU, Giron IG, Burgos JJ 1999. Bioclimatic factors and zones of life. In: Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Jurberg J, Lent H (Eds.), *Atlas Chagas' Dis. Vectors Am.*, Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro, pp. 793–838.
- Darwin C 1871. Passage of the Cordillera. In: *Voyag. Beagle*,
- Diotaiuti L, Dias JCP 1987. Estudo comparativo do ciclo evolutivo de *Rhodnius neglectus* alimentados em pombos ou camundongos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 20: 95–99.
- Diotaiuti L, Penido CM, Pires HR, Dias JCP 1995. Dinâmica da Alimentação e da Dejeção do *Triatoma sordida*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 28: 195–198.
- Dryden I, Mardia K 1998. *Statistical Shape Analysis*. John Wiley and Son, Chichester.
- Dujardin J-P 2011. Modern Morphometrics of medically important insects. In: *Genet. Evol. Infect. Dis.*, Elsevier, pp. 473–501.
- Dujardin J-P, Costa JM, Bustamante DM, Jaramillo N, Catalá SS 2009. Deciphering morphology in Triatominae: the evolutionary signals. *Acta Trop.* 110: 101–111.
- Dujardin J-P, Kaba D, Solano P, Dupraz M, McCoy KD, Jaramillo-O N 2014. Outline-based morphometrics, an overlooked method in arthropod studies? *Infect. Genet. Evol.* 28: 704–714.

- Dujardin J-P, Panzera P, Schofield CJ 1999. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 223–228.
- Dujardin J-P, Slice DE 2007. Contributions of Morphometrics to Medical Entomology. In: , pp. 433–446.
- Durán P, Siñani E, Depickère S 2014. Biological cycle and preliminary data on vectorial competence of *Triatoma boliviana* in laboratory conditions. *Acta Trop.* 140: 124–129.
- Emmanuelle-Machado P, Koerich LB, Joukoski DDB, Carvalho-Pinto CJ, Grisard EC, Steindel M 2002. Biology of *Triatoma klugi* Carcavallo , Jurberg , Lent & Galvão 2001 (Heteroptera : Reduviidae) under Laboratory Conditions : Effects of Distinct Blood Sources and Susceptibility to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97: 583–587.
- Ernande B, Dieckmann U 2004. The evolution of phenotypic plasticity in spatially structured environments: Implications of intraspecific competition, plasticity costs and environmental characteristics. *J. Evol. Biol.* 17: 613–628.
- Feliciangeli MD, Sanchez-Martin M, Marrero R, Davies CR, Dujardin J-P 2007. Morphometric evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the State of Barinas (Venezuela). *Acta Trop.* 101: 169–177.
- Forattini OP 1989. Chagas' disease and human behavior. In: Service MW (Ed.), *Demogr. vector-bone Dis.*, CRC Press, Boca Raton-FL, pp. 107–120.
- Fordyce J a 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *J. Exp. Biol.* 209: 2377–2383.
- Forsman A 2014. Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. *Heredity (Edinb)*.: 1–9.
- Galvão C 2003. A Sistemática dos Triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de De Geer ao DNA. *Entomol. y Vectores* 10: 511–530.

- Galvão C, Gurgel-Gonçalves R 2014. Vetores conhecidos no Brasil. In: Galvão C (Ed.), *Vetores da Doença Chagas no Bras.*, Sociedade Brasileira de Zoologia, Curitiba, pp. 88–170.
- Galvão C, Jurberg J 2014. Introdução. In: Galvão C (Ed.), *Vetores da doença chagas no Brasi*, Sociedade Brasileira de Zoologia, Curitiba, pp. 5–14.
- Galvão C, Jurberg J, Lent H 1996. Resistência ao Jejum de *Triatoma nitida* Usinger, 1939 em Laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91: 639–640.
- Galvão C, Justi SA 2015. An overview on the ecology of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). *Acta Trop.*
- Galvão C, Paula AS De 2014. Sistemática e evolução dos vetores. In: Galvão C (Ed.), *Vetores da doença chagas no Bras.*, Sociedade Brasileira de Zoologia, Curitiba, pp. 26–33.
- Galvão AB, Silva e Souza H, Lima RR de 1965. *Triatoma williami* n. sp. (Hemiptera, Triatominae). *Rev. Bras. Malariol. e Doenças Trop.* 17: 363–366.
- García-Jordán N, Berrizbeitia M, Concepción JL, Aldana E, Cáceres A, Quiñones W 2015. Estudio entomológico de vectores transmisores de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la población rural del estado Sucre, Venezuela. *Biomédica* 35.
- Gaspe MS, Schachter-Broide J, Gurevitz JM, Kitron U, Gürtler RE, Dujardin J-P 2012. Microgeographic Spatial Structuring of *Triatoma infestans*(Hemiptera: Reduviidae) Populations using Wing Geometric Morphometry in the Argentine Chaco. *J. Med. Entomol.* 49: 504–514.
- Gomes AB, Silva IG 2000. Influencia da Temperatura na Biologia de triatomínEos. XXI. *Triatoma jurbergi* carcavallo, galvão & lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Patol. Trop.* 29: 85–93.
- Gonçalves TCM, Cunha V, Oliveira E De, Jurberg J 1997. Alguns aspectos da biologia de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola , 1964 , em

- condições de laboratório (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 92: 275–280.
- Gonçalves TCM, Victorio VMN, Jurberg J, Cunha V 1989. Biologia do triatoma vitticeps Stal 1859 em condições de laboratórios (Hemiptera Reduviidae Triatominae) - II. resistencia ao jejum. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84: 131–134.
- Guarneri AA, Carvalho M das G, Pereira MH, Diotaiuti L 2000a. Biological potential of *Triatoma brasiliensis*. *Cad. Saude Publica* 16: 101–104.
- Guarneri AA, Diotaiuti L, Gontijo N de F, Gontijo AF, Pereira MH 2000b. Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans* , *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. *J. Insect Physiol.* 46: 1121–1127.
- Guarneri AA, Pereira MH, Diotaiuti L 2000c. Influence of the Blood Meal Source on the Development of *Triatoma infestans* , *Triatoma brasiliensis* , *Triatoma sordida* , and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera, Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 37: 373–379.
- Guhl F, Pinto N, Aguilera G 2009. Sylvatic triatominae: A new challenge in vector control transmission. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 104: 71–75.
- Gurgel-Goncalves R, Cuba CAC 2009. Predicting the potential geographical distribution of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) based on ecological niche modeling. *J. Med. Entomol.* 46: 952–960.
- Hernández ML, Abrahan LB, Dujardin J-P, Gorla DE, Catalá SS 2011. Phenotypic variability and population structure of peridomestic *Triatoma infestans* in rural areas of the arid Chaco (Western Argentina): spatial influence of macro- and microhabitats. *Vector borne zoonotic Dis.* 11: 503–513.
- Hernández ML, Dujardin J-P, Gorla DE, Catalá SS 2013. Potential sources of *Triatoma infestans* reinfesting peridomiciles identified by morphological characterization in Los Llanos , La Rioja , Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108: 91–97.

- Juarez E 1970. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Triatoma arthurneivai*, em condições de laboratório (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Saude Publica* 4: 13–18.
- Juarez E, Silva EP de C 1982. Comportamento do *Triatoma sordida* em condições de laboratório. *Rev. Saude Publica* 16: 1–36.
- Jurberg J, Costa JM 1989. Estudos sobre a resistencia ao jejum e aspectos nutricionais de *Triatoma lecticularia* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84: 393–399.
- Jurberg J, Rodrigues JMS, Moreira FFF, Dale C, Cordeiro IRS, Lamas Jr VD, Galvão C, Rocha D da S 2014. *Atlas Iconográfico dos Triatomíneos do Brasil (Vetores da Doença de Chagas)*. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
- Justi SA, Russo CAM, Mallet JRDS, Obara MT, Galvão C 2014. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasit. Vectors* 7: 149.
- Kingsolver JG, Daniel TL 1995. Mechanics of food handling by fluid-feeding insects. In: Chapman RF, Boer G De (Eds.), *Regul. Mech. Insect Feed.*, Chapman & Hall, pp. 32–73.
- Klingenberg CP 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 353–357.
- Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A 2002. Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56: 1909–1920.
- Klingenberg CP, McIntyre GS 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution (N. Y.)*: 1363–1375.
- Klink CA, Machado RB 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1: 147–155.

- Klotz SA, Dorn PL, Klotz JH, Pinna JL, Weirauch C, Kurtz JR, Schmidt J 2009. Feeding behavior of triatomines from the southwestern United States: An update on potential risk for transmission of Chagas disease. *Acta Trop.* 111: 114–118.
- Lazzari CR, Pereira MH, Lorenzo MG 2013. Behavioural biology of Chagas disease vectors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108: 34–47.
- Lent H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Museum Nat. Hist.* 163: 123–520.
- Lewis JH 1996. Comparative Haemostasis. In: *Comp. Haemost. Vertebr.*, p. 358.
- Lorosa ES, Andrade RE De, Faria MS, Valente MVMP, Jurberg J 2008. Preferência alimentar de ninfas de 1º estágio de algumas espécies de triatomíneos do “complexo oliveirai” (Hemiptera, Reduviidae) em condições de laboratório. *Rev. Bras. Zootecias* 10: 163–170.
- Lorosa E, Jurberg J, Souza A 2000. Hemolinfa de Dictyoptera na manutenção do ciclo biológico silvestre de *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) e *Triatoma circummaculata*. *Entomol Vect* 7: 287–296.
- Loza-Murguía M, Noireau F 2010. Vectorial Capacity of *Triatoma guasayana* (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) Compared with Two other Species of Epidemic Importance. *Neotrop. Entomol.* 39: 799–809.
- Luitgards-Moura JF, Vargas AB, Almeida CE, Magno-Esperança G, Agapito-souza R, Folly-Ramos E, Costa JM, Tsouris P, Rosa-Freitas MG 2005. A *Triatoma maculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) population from Roraima, Amazon region, Brazil, has some bionomic characteristics of a potential. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 47: 131–137.
- Marassá AM, Veiga-barreiros RM de O, Moraes RHP, Andrade RMG de, Castillo A, Corrêa FM de A 1998. Observações sobre oviposição, eclosão e tempo de vida de *Triatoma matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953 (Hemiptera-

- Reduviidae) em função da alimentação em pombos e coelhos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 31: 361–365.
- Marti G a, Echeverria MG, Waleckx E, Susevich ML, Balsalobre a, Gorla DE 2014. Triatominae in furnariid nests of the Argentine Gran Chaco. *J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol.* 39: 66–71.
- Martínez-Ibarra JA, Alejandre-Aguilar R, Paredes-González E, Martínez-Silva MA, Solorio-Cibrián M, Nogueta-Torres B, Trujillo-Contreras F, Novelo-López M 2007. Biology of three species of North American Triatominae (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) fed on rabbits. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102: 925–930.
- Martínez-Ibarra JA, Alejandre-Aguilar R, Torres-Morales A, Trujillo-García JC, Nogueta-Torres B, Trujillo-Contreras F 2006. Biology of three species of the *Meccus phyllosomus* complex (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) fed on blood of hens and rabbits. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 787–794.
- Martínez-Ibarra JA, Grant-guillén Y, Martínez-grant DM 2003a. Feeding , Defecation , and Development Times of *Meccus longipennis* Usinger , 1939 (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) under Laboratory Conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 899–903.
- Martínez-Ibarra JA, López MN, Hernández R, Guillén YG 2003b. Influence of the Blood Meal Source on the Biology of *Meccus picturatus* Usinger 1939 (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) under Laboratory Conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 227–232.
- Martínez-ibarra JA, Paredes-gonzález E, Ángel-Licón-Trillo, Montañez-Valdez OD, Rocha-Chávez G, Nogueta-Torres B 2012. The biology of three Mexican-American species of Triatominae (Hemiptera : Reduviidae): *Triatoma recurva* , *Triatoma protracta* and *Triatoma rubida*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107: 659–663.
- Mello DA 1976. Biology of Triatominae (Reduviidae, Hemiptera) from North of Formosa County (Goiás - Brazil). I . Length of life cycle of *Triatoma sórdida* (Stal, 1859). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 10: 327–331.

- Moreira CJ de C, Spata MCD 2002. Dynamics of Evolution and Resistance to Starvation of *Triatoma vitticeps* (Stal 1859) (Reduviidae: Triatominae), Submitted to Two Different Regimens of Food Deprivation. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97: 1049–1055.
- Nattero J, Crocco LB, Rodríguez CS 2002. Feeding and Defaecation Behaviour of *Triatoma pagonica* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97: 1063–1065.
- Nattero J, Leonhard G, Rodríguez CS, Crocco LB 2011. Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug). *Acta Trop.* 119: 183–187.
- Nattero J, Malerba R, Rodríguez CS, Crocco LB 2013. Phenotypic plasticity in response to food source in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae). *Infect. Genet. Evol.* 19: 38–44.
- Nattero J, Rodríguez CS, Crocco LB 2012. Effects of blood meal source on food resource use and reproduction in *Triatoma patagonica* Del Ponte (Hemiptera Reduviidae). *J. Vector Ecol.* 38: 127–133.
- Neiva VL, Gumiel M, Lima MM, Gonçalves TCM, Provance DW, Almeida CE, Costa JM 2012. Deposition, Incubation Period and Hatching of Eggs from *Triatoma juazeirensis* Costa & Félix, 2007 and *Triatoma sherlocki* Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira & Barata, 2002, (Hemiptera: Reduviidae) under Laboratory Conditions. *Entomobrasilis* 5: 130–136.
- Noireau F, Carbajal-de-la-Fuente AL, Lopes CM, Diotaiuti L 2005. Some considerations about the ecology of Triatominae. *An. Acad. Bras. Cienc.* 77: 431–436.
- Noireau F, Flores R, Gutierrez T, Abad-Franch F, Flores E, Vargas F 2000. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94: 23–27.
- Obara MT, Otrera VCG, Gonçalves RG, Santos JP dos, Santalucia M, Rosa JA da, Almeida PS de, Barata JMS 2011. 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.* 44: 206–212.
- Paim RMM, Araújo RN, Soares AC, Dhom LC, Tanaka AS, Gontijo N de F, Lehane MJ, Pereira MH 2011. Influence of the intestinal anticoagulant in the feeding performance of triatomine bugs (Hemiptera; Reduviidae). *Int. J. Parasitol.* 41: 765–773.
- Panzer F, Dujardin JP, Nicolini P, Caraccio MN, Rose V, Tellez T, Bermúdez H, Barges MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Pérez R 2004. Genomic Changes of Chagas Disease Vector, South America. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 438–446.
- Paredes-esquivel C, Lecaros E, Mauro A-R, Acosta HS, Castellanos P 2010. Entomological Factors Affecting the Low Endemicity of Chagas Disease in Nazca, Southwestern Peru. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 10: 341–346.
- Pereira MH, Gontijo N de F, Guarneri AA, Sant'Anna MRV, Diotaiuti L 2006. Competitive displacement in Triatominae: the *Triatoma infestans* success. *Trends Parasitol.* 22: 516–520.
- Pereira H, Penido CM, Martins MS, Diotaiuti L 1998. Comparative kinetics of bloodmeal intake by *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, the two principal vectors of Chagas disease. *Med. Vet. Entomol.* 12: 84–88.
- Pessoa GCDá, Pinheiro LC, Ferraz ML, Mello BV de, Diotaiuti L 2015. Standardization of laboratory bioassays for the study of *Triatoma sordida* susceptibility to pyrethroid insecticides. *Parasit. Vectors* 8: 109.
- Piesman J, Sherlock IA 1983. Factors controlling the volume of feces produced by triatomine vectors of Chagas' disease. *Acta Trop.* 40: 351–358.
- Pigliucci M 2005. Evolution of phenotypic plasticity: Where are we going now? *Trends Ecol. Evol.* 20: 481–486.
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *J. Exp. Biol.* 209: 2362–2367.

- Poinar Jr G 2005. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae), the first fossil evidence of a triatomine-trypanosomatid vector association. *Vec Borne Zoon Dis* 5: 72–81.
- Poinar Jr G 2013. *Panstrongylus hispaniolae* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatomine in Dominican amber, with evidence of gut flagellates. *Palaeodiversity* 6: 1–8.
- Reyes M, Angulo V 2009. Life cycle of *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions: production of nymphs for biological tests. *Biomedica* 29: 119–126.
- Rocha D da S, Jurberg J, Carcavallo RU, Presgrave OAF, Cunha V, Galvão C 2001. Influência da temperatura e umidade no desenvolvimento ninfal de *Rhodnius robustus*. *Rev. Saude Publica* 35: 400–406.
- Rocha D da S, Santos CM, Cunha V, Jurberg J, Galvão C 2004. Ciclo Biológico em Laboratório de *Rhodnius brethesi* Matta , 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Potencial Vetor Silvestre da Doença de Chagas na Amazônia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99: 591–595.
- Rodriguero MS, Gorla DE 2004. Latitudinal gradient in species richness of the New World Triatominae (Reduviidae). *Glob. Ecol. Biogeogr.* 13: 75–84.
- Rodrigues VLCC, Ferraz Filho AN, Rocha e Silva EO da 2007. *Triatoma tibiamaculata* (Pinto , 1926): Tábua de vida das ninfas , duração das formas adultas e postura das fêmeas (Hemiptera – Reduviidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40: 443–446.
- Rodríguez CS, Carrizo SA, Crocco LB 2008. Comparison of feeding and defecation patterns between fifth- instar nymphs of *Triatoma patagonica* (Del Ponte , 1929) and *Triatoma infestans* (Klug , 1934) under laboratory conditions. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 41: 330–333.
- Rohlf FJ 2013. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.17. *Dep. Ecol. Evol. State Univ. New York Stony Brook*.

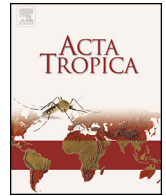
- Rohlf FJ, Corti M 2000. Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. *Syst. Biol.* 49: 740–753.
- Rohlf FJ, Marcus LF 1993. A revolution in morphometrics. *Trends Ecol. Evol.* 8: 129–132.
- Rohlf FJ, Slice DE 1990. Extensions of the Procrustes methods for the optimal superimposition of landmarks. *Syst. Zool.* 39: 40–59.
- Sanchez-Martin MJ, Feliciangeli MD, Campbell-Lendrum D, Davies CR 2006. Could the Chagas disease elimination programme in Venezuela be compromised by reinvasion of houses by sylvatic *Rhodnius prolixus* bug populations? *Trop. Med. Int. Heal.* 11: 1585–1593.
- Sandoval CM, Duarte R, Gutiérrez R, Silva Rocha D Da, Angulo VM, Esteban L, Reyes M, Jurberg J, Galvão C 2004. Feeding sources and natural infection of *Belminus herreri* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from dwellings in Cesar, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99: 137–140.
- Sandoval CM, Joya MI, Gutierrez R, Angulo VM 2000. Cleptohaematophagy of the Triatomine bug *Belminus herreri*. *Med. Vet. Entomol.* 14: 100–101.
- Sant'Anna MRV, Diotaiuti L, Gontijo AF, Gontijo N de F, Pereira MH 2001. Feeding behaviour of morphologically similar *Rhodnius* species: influence of mechanical characteristics and salivary function. *J. Insect Physiol.* 47: 1459–1465.
- Schachter-Broide J, Gürtler RE, Kitron U, Dujardin J-P 2009. Temporal variations of wing size and shape of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations from northwestern Argentina using geometric morphometry. *J. Med. Entomol.* 46: 994–1000.
- Schaefer CW 2003. Triatominae (Hemiptera : Reduviidae): Systematic Questions and Some Others. *Neotrop. Entomol.* 32: 1–10.
- Schaefer CW 2005. Why are the subfamily relationships of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) important? *Entomol. y Vectores* 12: 19–35.

- Schofield CJ 1985a. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. *Ann Soc Belge Med Trop* 65: 149–164.
- Schofield CJ 1985b. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. *Ann Soc Belge Med Trop* 65: 149–164.
- Schofield CJ, Galvão C 2009. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Trop.* 110: 88–100.
- Silva IG, Camargo MF, Santos AH 1996. Ciclo evolutivo de *Triatoma williamsi* , Galvão, Souza e Lima, 1965 em condições de laboratório. *Rev. Goiana Med.* 41: 32–38.
- Slice DE, Bookstein FL, Marcus LF, Rohlf FJ 2007. A Glossary for Geometric Morphometrics. *Imagine* 2009: 531–551.
- Soares RPP, Evangelista L das G, Laranja LS, Diotaiuti L 2000. Population Dynamics and Feeding Behavior of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* , Main Vectors of Chagas Disease in Northeastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95: 151–155.
- Stevens L, Dorn PL, Schmidt JO, Klotz JH, Lucero D, Klotz SA 2011. Kissing Bugs. The Vectors of Chagas. In: Weiss LM, Tanowitz HB, Kirchhoff L V (Eds.), *Adv. Parasitol.*, Elsevier Ltd., London, pp. 169–192.
- Sulbaran JE, Chaves LF 2006. Spatial complexity and the fitness of the kissing bug, *Rhodnius prolixus*. *J. Appl. Entomol.* 130: 51–55.
- Tibayrenc M (Ed.) 2011. *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*. Elsevier.
- Trumper E V, Gorla DE 1991. Density-dependent timing of defecation by *Triatoma infestans*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85: 800–802.
- Vallejo GA, Guhl F, Schaub GA 2009. Triatominae-Trypanosoma cruzi/T. rangeli: Vector-parasite interactions. *Acta Trop.* 110: 137–147.

- Vargas E, Espitia C, Patiño C, Pinto N, Aguilera G, Jaramillo C, BARGUES MD, Guhl F 2006. Genetic structure of *Triatoma venosa* (Hemiptera: Reduviidae): Molecular and morphometric evidence. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 39–45.
- Villacís AG, Arcos-Terán L, Grijalva MJ 2008. Life cycle , feeding and defecation patterns of *Rhodnius ecuadoriensis* (Lent & León 1958) (Hemiptera : Reduviidae : Triatominae) under laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103: 690–695.
- Wagner GP 1984. On the eigenvalue distribution of genetic and phenotypic dispersion matrices - evidence for a nonrandom organization of quantitative character variation. *J. Math. Biol.* 21: 77–95.
- Waleckx E, Salas R, Huamán N, Buitrago R, Bosseno MF, Aliaga C, Barnabé C, Rodriguez R, Zoveda F, Monje M, Baune M, Quisberth S, Villena E, Kengne P, Noireau F, Brenière SF 2011. New insights on the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) brought by the genetic analysis of Bolivian sylvatic populations. *Infect. Genet. Evol.* 11: 1045–1057.
- Wenk P, Lucic S, Betz O 2010. Functional anatomy of the hypopharynx and the salivary pump in the feeding apparatus of the assassin bug *Rhodnius prolixus*. *Zoomorphology* 129: 225–234.
- Whitman DW, Agrawal AA 2009. What is phenotypic plasticity and why is it important. In: Whitman DW, Ananthkrishnan TN (Eds.), *Phenotypic Plast. insects Mech. consequences*, Science Publishers, pp. 1–63.
- Windberger U, Baskurt OK 2007. Comparative hemorheology. In: Baskurt OK, Meiselman HJ (Eds.), *Handb. Hemorheol. Hemodynamics*, IOS Press, pp. 267–285.
- WWF-Brasil 2015. Biomas Brasileiros.
http://www.wwf.org.br/natureza_brasileira/questoes_ambientais/biomas/.
- Zeledón R, Alvarado R, Jirón LF 1977. Observations on the feeding and defecation patterns of three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Trop.* 34: 65–77.

ANEXO

Lunardi RR, Gomes LP, Câmara TP, Arrais-Silva WW 2015. Life cycle and vectorial competence of *Triatoma williami* (Galvão, Souza e Lima, 1965) under the influence of different blood meal sources. *Acta Trop.* 149: 220–226.



Life cycle and vectorial competence of *Triatoma williami* (Galvão, Souza e Lima, 1965) under the influence of different blood meal sources



Rosaline Rocha Lunardi^{a,b}, Letícia Pinho Gomes^a, Thaís Peres Câmara^a, Wagner Welber Arrais-Silva^{a,*}

^a Laboratório de Parasitos e Vetores, Campus Universitário do Araguaia, Universidade Federal de Mato Grosso, Caixa Postal 232, 78600-000 Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil

^b Doutorado em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 February 2015

Received in revised form 20 May 2015

Accepted 25 May 2015

Available online 7 June 2015

ABSTRACT

Triatoma williami is naturally infected by *Trypanosoma cruzi*, the ethiological agent of Chagas disease, the most significant cause of morbidity and mortality in South and Central America. The possibility of domiciliation of *T. williami* increases the risk of human *T. cruzi* vectorial transmission. Despite this, there is a lack of data demonstrating the bionomic aspects, the vectorial competence or the natural ecotope and the wild hosts of *T. williami*. This study describes for the first time the life cycle of *T. williami* under the influence of two blood meal sources and also evaluates the vectorial potential of the species. The development of two groups of hundred triatomines was followed over the nymphal stages and adulthood. Each group was exposed to a sole blood meal source, mammalian or bird. The average egg-to-adult development time in both groups was similar, except by shorter stages of N3 and N4 in triatomines fed on mammals. The group fed on birds needed more blood feedings to suffer the ecdysis and had higher cumulative mortality in the nymphal stages. Although the observed delay at defecation of adults after feeding, our results suggest that *T. williami* in the third and fifth nymphal stages may be good vectors.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Triatomines belong to the Reduviidae family and Triatominae subfamily, and currently have 18 genera and 141 species (Jurberg et al., 2010). These insects are obligatory hematophagous and potential vectors of *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909), the protozoan that causes Chagas disease or American trypanosomiasis.

The bionomic information of many species of insects incriminated in the transmission of the *T. cruzi* is crucial to develop control strategies such as chemical control. *Triatoma williami*, an autochthonous bug of the Brazilian savanna, was firstly found in a rural peridomicile (Galvão et al., 1965) and thereafter, adults were eventually observed in intradomiciles and peridomiciles in urban areas naturally infected by *T. cruzi* (Arrais-Silva et al., 2011). Recently we demonstrated no morphological differences between populations of wild *T. williami* and specimens found in domiciles

and peridomiciles in urban vicinity of wild environment. Despite this, there is a lack of data of bionomic aspects and its vectorial competence or the natural ecotope and wild hosts of *T. williami* (Noireau et al., 2002), although laboratory evidences suggest a feeding eclecticism of *T. williami* preferring birds and rodents (Lorosa et al., 2008).

The bionomic characterization of wild species that possibly may invade anthropic environments is important to evaluate the efficiency of these insects as vectors of *T. cruzi* and also to support the modeling of control strategies (Cardozo-de-Almeida et al., 2014; Durán et al., 2014). In fact, a large number of studies about bionomic and behavioral aspects of the Triatomines suggests an increasing interest in establishing control measures and also reflects their use as an excellent biological models for studies about insect hematophagy and physiology (Lazzari et al., 2013). The life cycle of triatomines varies according to the species, the environmental condition and blood meal source (Carbajal de la Fuente et al., 2010; Schofield, 1985), so the general goals of this study were to describe, for the first time, the biological cycle of *T. williami* under the influ-

* Corresponding author.

ence of different blood meal sources and, specifically, evaluate the vectorial potential associated with feeding and defecation patterns.

2. Materials and methods

Adult specimens of *T. williami* were spontaneously collected between May and August, 2012 in outside of military building, located in a natural reserve, in the municipality of Barra do Garças, Mato Grosso. The captured insects were identified through the external morphological characters, according Lent and Wygodzinsky (1979). They were grouped in colonies with 100 insects each one. They were maintained in a controlled environment with temperature of $27 \pm 1^\circ\text{C}$ and relative humidity of $70\% \pm 10$, fed weekly on quail (*Coturnix coturnix*). From the colony formed with the wild *T. williami* 646 eggs were laid, with 604 (93.5%) hatched eggs and 34 not embryonated eggs (5.3%). Only 8 eggs (1.2%) failed to hatch. The mean incubation period was 23 days with a variation between 20 and 24 days.

The nymphs of the first generation of wild parentals were randomly selected, forming two groups, each one with 100 specimens. The Bird Group (BIR) was fed exclusively on quail and the Mammal Group (MAM) exclusively on mice (*Mus musculus*). The nymphs were individualized in glass tubes ($15 \times 1.5\text{ cm}$) with filter paper inside and its opening covered with a nylon mesh to enable the feeding and ventilation. The nymphs of fourth and fifth stages and adults were transferred individually to transparent plastic jars ($4 \times 6\text{ cm}$), with a filter paper folded inside and covered with nylon mesh.

From the third day after hatching, the nymphs were daily exposed to the food source, for 10 min, until they had the first meal and, from this, the exposure to the food source occurred every seven days. The meal was finished when the insect spontaneously stayed away from the food source. The insect was still observed during 30 min after the meal to evaluate the defecation. The insects were weighted at the beginning and the end of the meal. The time-lapse between the blood-meal presentation and the beginning of the hematophagy, the duration of the blood meal and the time taken to defecation were also checked. Both groups were assessed daily to identify subjects who had died or moulting.

The animals used as food source underwent a complete analgesia, with deep sedation and muscle relaxation, by intraperitoneal (mice) and pectoral intramuscular (quail) vias, with a combination of Xilasina 2% and Ketamine 11.6%. In order to reduce drop in temperature of mice, they were maintained on a styrofoam base padded with double-leaf paper cushion. Birds did not suffer temperature change, and caution was taken to apply anesthesia in contralateral pectoral muscle of surface accessed by insects. In each essay, the animals used as blood meal source were exposed to up to six bugs individualized in glass tubes, twice a week, and then they were not used anymore. The life cycle and the influence of the food source in *T. williami* development were evaluated through the duration, the number of blood meals and mortality at each stage.

The effectiveness of the meal was assessed by the time needed for the beginning of the meal, by the total time of feeding, by the normalised weight gain (WG), by the blood ingestion velocity and by the fasting periods before and after moulting. In addition to the feeding process features, the vectorial potential of *T. williami* was also assessed by defecation pattern, given by the time-lapse between the end of the feeding and the defecation process. The results are presented as mean and medians, compared by *T* test or non-parametric Mann–Whitney test, when the variables had an abnormal distribution. Frequencies were subjected to chi-square test with Yates correction when necessary, or Fisher Test. Differences were considered significant when $p < 0.05$. A free licensed software Bioestat 5.3 was used for the statistical tests (Mamirauá Institute, 2014).

3. Results

The complete lifecycle presented similar duration between the groups fed on mammalian (MAM) and on birds (BIR) (Fig. 1A). The duration of the first two nymphal stages was similar in both groups, but the N1 in MAM group required less blood meals to suffer the ecdysis. The third and fourth stages of the MAM group were shorter and again with fewer blood meals. The duration of the fifth nymphal stage and the adult stage did not differ between the groups, but the MAM adults performed about three times more blood meals (Fig. 1B). There was no variation between groups evaluated according to sex (data not shown) except for the total duration of the cycle of males and females of MAM group, with 501 and 619 days, respectively, while in the BIR group the cycles had 524 and 558 days. The number of feedings made throughout life was similar between the sexes and between the groups, ranging from 19 to 22 blood meals (minimum and maximum, respectively).

The obtained data also allowed us to analyze the spontaneous fasting period before and after the moults (Fig. 1D). The fasting period after hatching was 10 days in the MAM group and 7 days in the BIR group. For all others nymphal stages, there was no significant difference between groups in the number of days between the ecdysis and the first meal. However, for the adult insects, the fasting period was shorter in both sexes of MAM group compared to BIR (approximate 28 and 76 days, respectively). It is noteworthy that throughout the experiment the period of fasting before the moulting in all stages was 14 days, at least.

The mortality related to the nymphal stage is shown in Fig. 1C. In the stages N1 to N4, mortality was similar in both groups. For N5, the mortality was much higher in the BIR group. In this group, only 16% reached the adult stage, a much smaller proportion than that found for the MAM group, in which 43% of the nymphs reached the adult stage. In both groups, the N3 stage had lower mortality than other nymphal stages.

The meantime-lapse between presentation of the blood meal source and the beginning of feeding was between 2 and 3 min in both groups. However, the duration of the meal was longer in all nymphal stages of MAM group compared to the BIR (Table 1). Intra-groups, both MAM and BIR, the duration of the meal was similar in the subsequent nymphal stages, differentiated only between N5 and Adults. There were differences in feeding time of males and females only in the MAM group.

Table 2 describes the WG and blood intake velocity. In all stages, MAM group had greater WG in relation to the BIR group. Likewise, the MAM insects also showed higher blood intake velocity. When we compared the intake velocity among the various stages of each group, the MAM insects showed expressive increase from N1 to N5. Unlike, the BIR insects intake velocity remained almost unchanged throughout its development. In the adult stage, only males and females of the MAM group diverged both in weight gain and in intake velocity. The females took twice the time and had twice the WG of males.

The pattern of defecation was different between groups (Fig. 2). The MAM group had higher frequency of post feed defecation delay until 10 min in relation to the BIR group, and this difference was more pronounced between stages N2, N3 and N5. It should be noted that the occurrence of defecation during hematophagy was also more frequent in the MAM group. In both groups, stage N2 had the highest frequencies of defecation during the meal.

4. Discussion

The hatching egg rate of *T. williami* was close to that achieved by others species in laboratory conditions, as *T. arthurneivai* (92.8%, Juarez, 1970), *T. sordida* (82.5%, Mello 1976), *T. rubrofasciata* (80.5%,

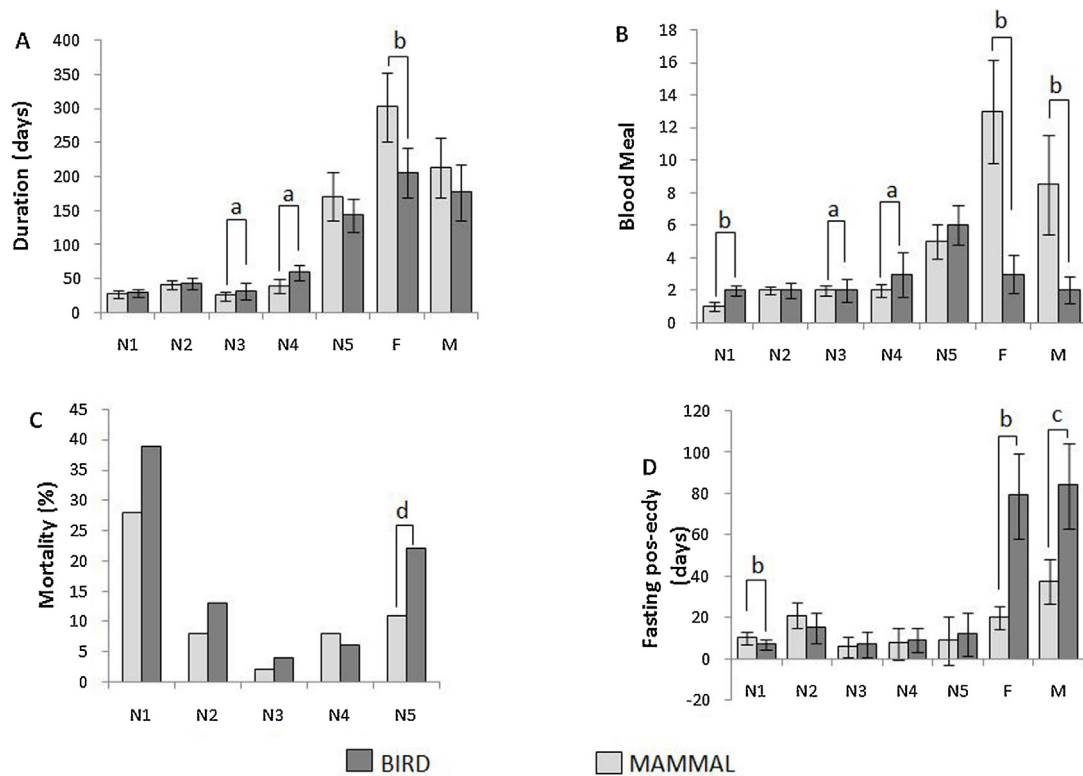


Fig. 1. Bionomic aspects of *Triatoma williami*, according to blood meal source. The groups fed exclusively in bird (*Coturnix coturnix*) or mammal (*Mus musculus*) A- stage duration (median), in days; B- Number of blood meals per stage (median); C- Mortality per stage (%); D- Fasting period pos-ecdy. Letters indicate significant differences intergroup (Mann–Whitney Test: a: $p < 0.0001$; b: $p < 0.01$; c: $p < 0.05$; d: Fisher Test: $p < 0.01$).

Table 1

Time to starting blood meal and feeding time, in minutes (median/quartiles), per instar, according blood meal source.

Instar	Mamalian			Bird		
	n (meals)	Time to starting	Feeding time*	n (meals)	Time to starting	Feeding time*
N1	72 (103)	3 (2–5)	44 (32–57)	61 (108)	3 (2–4)	23(14–31)
N2	65 (102)	3 (1–5)	57 (34–76)	48 (94)	2 (1–5)	24(14–40)
N3	63 (97)	2 (1–5)	57 (41–85)	44 (114)	2(1–4)	35(22–43)
N4	54 (103)	2 (1–5) ^a	68 (46–99)	38 (156)	2(1–3) ^a	40(25–55)
N5	43 (203)	3 (1–6)	54 (31–79)	16 (83)	2 (1–4)	39(26–56)
Female	22 (284)	3 (1–6)	35 (22–50) ^b	(28)	3 (2–5)	25 (13–31)
Male	16 (155)	2 (1–5)	18 (13–31) ^b	(23)	2 (1–3)	28 (19–32)

Equal letters indicate significant difference (Mann–Whitney test. a: $p < 0.01$ b: $p < 0.0001$).

* Significant difference in feeding time in all stages between the groups (Mann–Whitney Test, $p < 0.05$).

Table 2

Intake weight, normalized weight gain (WG) and intake velocity (mg/min), per instar, according blood meal source of *T. williami*.

Instar	Mamalian			Bird		
	Intake weight (mg)	WG ^a	Intake velocity mg/min ^b	Intake weight (mg)	WG ^a	Intake velocity mg/min ^b
	Median (25–75%)	Median (25–75%)	Median (25–75%)	Median (25–75%)	Median (25–75%)	Median (25–75%)
N1	7.2 (5.6–9.4)	6.4 (3.8–8.3)	0.2 (0.1–0.2)	5.7 (2.9–7.5)	3.6 (1.9–6.3)	0.2 (0.1–0.4)
N2	21.4 (15.8–34.9)	6.1 (1.7–9.1)	0.5 (0.3–0.6)	14.5 (2.5–24.9)	2.6 (0.3–5.0)	0.4 (0.2–0.7)
N3	74.3 (49.4–99.8)	5.2 (1.1–6.8)	1.3 (0.7–1.8)	21.8 (2.2–49.7)	0.9 (0.1–3.6)	0.6 (0.1–1.4)
N4	172.6 (123–240)	2.5 (1.0–5.4)	2.5 (1.5–3.6)	23.4 (1.8–93.9)	0.5 (0.03–2.1)	0.7 (0.1–2.0)
N5	211.4 (123.2–397.8)	0.8 (0.4–1.9)	4.7 (2.6–6.9)	34.1 (4.2–158.7)	0.2 (0.03–1.1)	0.8 (0.1–3.4)
Female	168.3 (76.9–276.2)	0.8 (0.5–1.4) ^a	5.9 (3.6–8.6) ^b	15.8 (4.1–74.2)	0.2 (0.05–0.6)	2.4 (0.6–5.9)
Male	77.8 (32.7–131.4)	0.4 (0.2–0.8) ^a	3.1 (1.9–5) ^b	13.8 (2.3–68.4)	0.2 (0.02–0.9)	1.5 (0.1–3.9)

wf: Final weight, wi: initial weight. Intake weight (wf–wi) WG: (wf–wi)/wi. Intake velocity: [(wf–wi)/wi]/time of meal in mg/minute. Equal letters (a and b) indicate significant differences intragroup (Mann–Whitney test. $p < 0.0001$).

^a There was a significant difference in WG in all stages between BIR and MAM (Mann–Whitney Test: $p < 0.0001$).

^b Except to N2, there was significant difference in the intake velocity in all stages between BIR and MAM (Mann–Whitney Test: $p < 0.0001$).

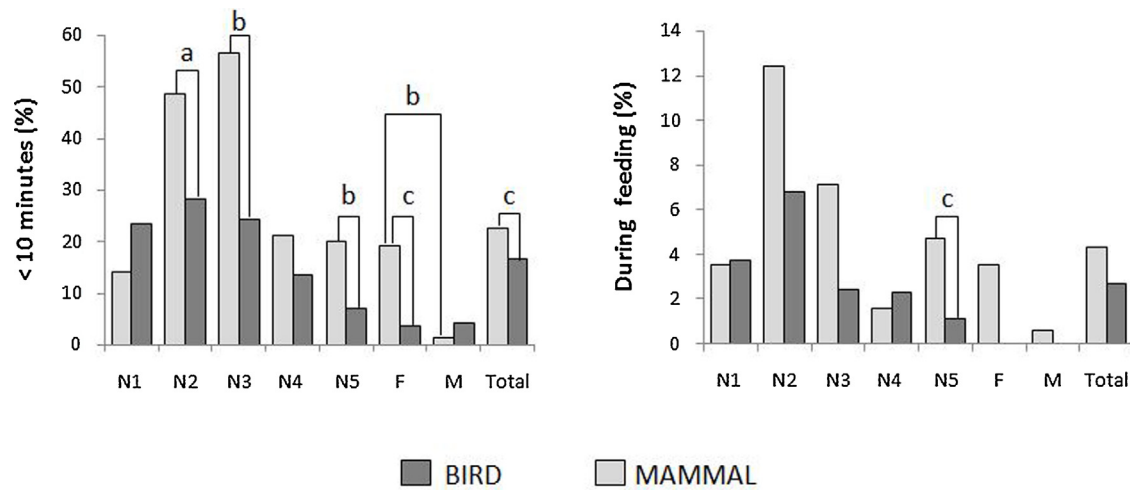


Fig. 2. Defection frequencies of *T. Williamsi*, up to 10 min after the end of blood meal and during the blood meal, according to meal source. The groups fed exclusively in bird (*Coturnix coturnix*) or mammal (*Mus musculus*). Letters indicate significant differences in Fisher Test (p -value: $a < 0,01$; $b < 0,0001$; $c < 0,05$).

Braga et al., 1998) and *T. pseudomaculata* (88.3%, Gonçalves et al., 1997) and was much higher than that found for *T. carvalhoi* species (38.3%, Cardozo-de-almeida et al., 2014) and *T. matogrossensis* (58.7%, Marassá et al., 1998). The high rate of egg hatching of *T. williami* indicates the adequacy of the laboratory conditions where they were kept during the experiment.

In this study, with controlled conditions of temperature and humidity and without competition between individuals, the complete cycle of *T. williami* as well as duration of nymphal stages was similar between the MAM and BIR groups. These developmental times was longer compared to that described for same species by Silva et al. (1996), but it is important to note that in previous study the experimental group was exposed to different food sources, including human blood, and it is known that the nutritional quality of blood interferes with life span (Nattero et al., 2011; Sulbaran and Chaves, 2006). The biological cycle of *T. williami* was as long as the one presented by *Triatoma jubergeri*, a sympatric and synanthropic species belonging to the same subcomplex of *T. williami* (Gomes and Silva, 2000). Conversely, the nymphal development time of *T. williami* obtained in this study was much longer than that observed in species recognised as effective vectors exposed to birds and mammals as blood meal sources (Guarneri et al., 2000b). The biological cycle time represents the actual mean length of a generation time in terms of population dynamics (Cabello and Galíndez, 1998), and therefore, it may suggest inability of *T. williami* to build up significant populations due to the fact that this insect completes only one generation per year. Species with faster cycles, as *T. infestans*, forms large populations in domestic and peridomestic environments, where it generally completes two generations per year (Noireau et al., 2000; Schofield, 1985). There was a trend toward an increasing in the periods between the moultings in the *T. williami* life cycle. However, it was observed that the duration of N3 was shorter in both groups. This reduction in the third stage was not observed in the cycles of *T. arthurineivai* (Juarez, 1970), *T. dimidiata* (Reyes and Angulo, 2009), *T. carvalhoi* (Cardozo-de-almeida et al., 2014), but it occurred with *T. infestans*, *T. pseudomaculata* and *T. sordida* (Guarneri, 2000b).

The number of interactions for blood feeding between the triatomine and the host is proportional to the risk of transmission of *T. cruzi* (Rocha da et al., 2001). The feeding of *T. williami* on birds resulted in a greater number of blood meals between the ecdysis, which in natural conditions could increase the risk of predation during feeding. In an epidemiological scenario, it is relevant the frequency of blood meals on mammals and the observed amount of

meals of MAM group in each stage was close to that described for *T. brasiliensis* fed on mice, mainly in the stages N2, N3, and N4 (Soares et al., 2000). In the first stage, *T. williami* had only one meal, while *T. brasiliensis* needed three blood meals. As for N5, *T. williami* had five blood meals, against only two of *T. brasiliensis*. Also another secondary species, *T. pseudomaculata*, requires at least two blood meals for the moulting to occur (Carbajal de la Fuente et al., 2010; Soares et al., 2000).

The spontaneous fasting period before the *T. williami* ecdysis, both in the MAM and the BIR group, was close to that described for *T. maculata* (Luitgards-Moura et al., 2005), and shorter than that found for *T. rubrovaria* (Almeida et al., 2005). After the moultings, nymphs and even more the adult of *T. williami* fasted for longer periods, when compared to *T. maculata* and *T. rubrovaria*. The spontaneous fasting period after the moulting of *T. williami* adults, especially in the BIR group, exceeded the survival period of male and female compulsory fasting of many species such as *T. brasiliensis*, *T. vitticeps*, *T. nitida*, *T. rubrofasciata* and *T. sordida* (Cortéz and Gonçalves, 1998; Costa and Perondini, 1973; Galvão et al., 1996; Gonçalves et al., 1989; Juarez and Silva de, 1982). According to Cardozo-de-almeida et al. (2014), one of the main barriers for the control of insects through the use of insecticides with residual action is the resistance of insects to fasting. This resistance is an important survival strategy when in adverse situations or food privation (Jurberg and Costa, 1989). Therefore, as *T. williami* proved to be naturally resistant to fasting and spontaneously rejected blood meal for long periods, it is noted that this species has the biological features that can reduce the success of vectorial chemical control.

The mortality pattern of *T. williami* in the nymphal stages was irregular as it happens with many other Triatominae species (Braga et al., 1998; Carbajal de la Fuente et al., 2010; Cardozo-de-Almeida et al., 2014; Rodrigues et al., 2007). The cumulative mortality until the fifth nymphal instar of *T. williami* was higher in BIR group as was also shown by *T. klugi* (Emmanuelle-Machado et al., 2002), *Rhodnius neglectus* (Diotaiuti and Dias, 1987), *T. brasiliensis*, *T. infestans*, *T. pseudomaculata* and *T. sordida* (Guarneri et al., 2000b). The differences observed in mortality between groups were probably the result of nutritional characteristics of the blood of the hosts (Martínez-Ibarra et al., 2006; Nattero et al., 2012), and also may be attributed in part to the difficulty of the insects to feed on bird under experimental conditions.

The time-lapse between presentation of the blood meal source and the beginning of the feeding of nymphs was close to that observed in some species of vector importance: *T. pseudomacu-*

lata (Gonçalves et al., 1997), *T. infestans* (Paredes-esquivel et al., 2010) and *Triatoma rubida* (Martínez-ibarra et al., 2012). Already in adulthood, both females and males of *T. williami* were faster than *T. pseudomaculata* and *Triatoma rubida*. *Rhodnius neglectus* and *R. robustus* adults start the meal faster than nymphs (Barreto-santana et al., 2011), as also as *T. williami*, *T. sordida*, *T. infestans* and *T. guasayana* (Loza-Murguía and Noireau, 2010), although these last three species are more voracious than *T. williami* for accessing the food source in less than one minute.

T. williami had longer blood meals when fed on mammals, compared to other efficient vectors, such as *T. sordida* (Diotaiuti et al., 1995; Loza-Murguía and Noireau, 2010), *T. infestans*, *T. brasiliensis* and *T. pseudomaculata* (Guarneri et al., 2000a; Rodríguez et al., 2008). When fed on birds, *T. williami* had the blood meal in less time, but this reduction may be more associated with the disruption of the food process by the bird than with the intrinsic factors of the vector or the host. Although the birds were anesthetized small muscles spasms occurred during blood meal and *T. williami* showed to be sensitive to any movement of the host and interrupted the meal, often in a definitive way. Similarly, Soares et al. (2000) observed that smooth movements of the host disturbed the feeding of *T. pseudomaculata*, but the movements should be more intense to make *T. brasiliensis* give up the meal source. Despite the different responses, these two species are important vectors of *T. cruzi* in Brazil, which may indicate that the self-protective behavior does not interfere directly in the vector capacity. Also in this sense, Pereira et al. (1998) studied the feeding behavior of *T. infestans* and *Rhodnius prolixus* in anesthetized and non-anesthetized mice and concluded that the host activity affect the food success, and the feeding was much more productive in completely inert animals, just like it happened with *T. williami*.

When considering only the blood factors, it was expected that *T. williami* would have difficulty in the hematophagy on mammals, as observed in other species (Guarneri et al., 2000a; Martínez-Ibarra et al., 2003; Nattero et al., 2012). Regardless of this difficulty, a study about host preferences showed the food eclecticism of *T. williami* with remarkable preference for birds (Lorosa et al., 2008). In field work, immature forms of *T. williami* were found in peridomiciles, commonly allocated in poultry yards, thus the ornithophily suggested by the study about the food preference of *T. williami* and by the ecotopes found in peridomicile may indicate the association of species to the birds is opportunistic, more than adaptive or selective, since insects readily accepted and completed the cycle development faster on mammal feeding.

In nymphal instars, *T. williami* showed similar blood intake velocities to those of *T. brasiliensis* and *T. pseudomaculata* (Guarneri et al., 2000a; Soares et al., 2000). As for in the adult stage, both females and males of *T. williami* showed higher intake velocities than that of the *T. infestans* (Durán et al., 2014). The speed in which the insect has the meal is an important attribute to the vectorial capacity, increasing the probability of survival of the species (Guarneri et al., 2000b). In addition to the meal duration, the amount of ingested blood and the intake velocity, another important factor in determining the vector capacity is the time to occur defecation (Trumper and Gorla, 1991). Although the abdominal repletion facilitates the mechanics of defecations, it can be stimulate by a minimum blood meal (Piesman and Sherlock, 1983).

Although the amount of blood meal ingestion, or WG, is not necessarily related to defecation, it will reflect on the oviposition, development period, fasting resilience and active dispersal by flight (Rocha da et al., 2004) important factors in determining the vectorial potential. The WG of *T. williami* in MAM group decreased along the development stages, unlike what was seen in *T. brasiliensis* and *T. pseudomaculata* fed on mice (Guarneri et al., 2000b; Soares et al., 2000), whose WG had little variation along the stages. In the first three nymphal stages of *T. williami*, the WG was higher than that of

T. brasiliensis and *T. pseudomaculata*, but in the N4 and even more in the N5 stages, it was inferior to the WG of these two species. Likewise, both female and male of *T. williami* had much lower WG than that obtained by the male and female of *T. infestans* (Rodríguez et al., 2008).

Considering that N5 and adult stages are the most important in the transmission of *T. cruzi* (Rodríguez et al., 2008), the WG shows that *T. williami* have less vectorial potential than *T. rubida*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* and *T. infestans*. However, when the amount of ingested blood was assessed, *T. williami* obtained higher or very close volumes in relation to those of the last three species and also to others considered as excellent vectors, as *T. sordida* and *T. patagonia* (Guarneri et al., 2000b; Nattero et al., 2002). If the WG is unfavorable to the vectorial capacity of *T. williami*, the opposite is given by the amount of ingested blood. Interesting to note that there are differences between sexes in WG and intake velocity. The females of *T. williami* ingest greater amounts of blood in shorter time and achieve twice the WG than males. This suggests that the exploitation of the food source by females is better than by males, which may promote reproductive and populational traits.

Since the hematophagy and the possibility of being infected by *T. cruzi* are not sufficient to determine the vectorial capacity of a species, there are other necessary requirements associated with the degree of anthropophily and time-lapse to defecation (Dujardin, 2011; Durán et al., 2014; Klotz et al., 2009). Some aspects of the hematophagy, of the infection rate and of the anthropophily of *T. williami* previously seen are close to those of species that are known to be incriminated in the transmission of *T. cruzi* to humans. Then, to conclude the evaluation of the vector potential of *T. williami* associated with the feeding process, the defecation pattern was assessed. Zeledón et al. (1977) suggest that species that defecate within ten minutes after the blood meal can be considered as potential vectors. Triatomines in BIR group had a decreasing frequency of defecations up to ten minutes after the meal, according to the development stages. This trend was followed by the reduction of WG and of intake velocity, factors possibly associated with disturbance of the feeding process.

In general, the proportion of insects in MAM group that defecated up to 10 min after the meal was lower than that reported in studies with *T. infestans*, *T. recurva*, *T. protacta* and *T. rubida*, in which all insects defecated within this period (Martínez-Ibarra et al., 2012; Santos et al., 2006). In both the BIR and MAM groups there was an irregular defecation pattern between stages, and N2 and N3 stages showed the highest frequencies of defecation during the meal and until 10 min after. It is important to stand out that, in the MAM group, N3 showed a similar defecation pattern to that by N3 of *T. sordida* and *T. infestans* (Diotaiuti et al., 1995).

There is a wide variation in the time of defecation among triatomine species and among the stages of each species, but the insects of the same species that ingest more blood in less time are more able to defecate during the meal and thus have better opportunities to transmit *T. cruzi* (Trumper and Gorla, 1991). Although the defecation pattern has a recognized value in the definition of the vector potential of a species, triatomine defecating habits probably have less influence in the vector capacity than the density of house infestation, the affinity with the host and the degree of adaptation to the domestic environment (Piesman and Sherlock, 1983).

5. Conclusions

The development of *T. williami* was possible in laboratory conditions defined in this study. The high hatching rates and the survival of the species points to adaptation to the artificial environment in which it was maintained throughout the experiment. The food source interfered with the biological cycle of the species, being more favorable to the feeding with mammal, since the biological

cycle proved to be faster with this source, with lower mortality and easy manipulation of the host. However, the definition of the most appropriate blood meal source for the maintenance of the *T. williami* colonies was not possible with this study because it requires evaluation of the blood meal source influence in the reproductive characteristics of the species. The feeding and defecation patterns of adult forms in *T. williami* suggest low vectorial potential, but the nymphal third and fifth stages showed behaviors with similar pattern to those presented by other species of recognized vectorial capacity.

Despite resistance to fasting has not been object of this study, the results suggest that *T. williami* can withstand long periods without food, which makes chemical control measures more difficult, increasing the possibility of re-colonization in previously treated environments.

Acknowledgments

This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso, Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

References

- Almeida, C.E., Folly-Ramos, E., Agapito-souza, R., Magno-Esperança, G., Pacheco, R.S., Costa, J., 2005. *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera – Reduviidae – Triatominae) IV: bionomic aspects on the vector capacity of nymphs. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 100 (3), 231–235.
- Arrais-Silva, W.W., Senatore, R., Rodrigues, V., Moraes, L.N. de, Venero, P.C., Lunardi, R.R., Souza, I.L., Souto, P.C.S., 2011. First report of occurrence of *Triatoma williami* Galvão, Souza e Lima, 1965 naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 in the State of Mato Grosso, Brazil. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 1 (3), 245–246. [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(11\)60,040-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(11)60,040-6)
- Barreto-santana, D., Starling, J., Gurgel-Gonçalves, R., Cuba Cuba, C.A., 2011. *Biologia comparativa e comportamento alimentar de Rhodnius neglectus e Rhodnius robustus* (Triatominae) sob condições de laboratório. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44 (4), 490–495.
- Braga, M.V., Pinto, Z.T., Lima, M.M., 1998. Life cycle and reproductive patterns of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 93 (4), 539–542.
- Cabello, D.R., Galíndez, I., 1998. Vital Statistics of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera: Reduviidae) under experimental conditions. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 93 (2), 257–262.
- Carbajal de la Fuente, A.L., Cunha, V., Rocha, N., Lopes, C.M., Noireau, F., 2010. Comparative biology of the two sister species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 43 (1), 15–18.
- Cardozo-de-almeida, M., Neves, S.C.T., Almeida, C.E., Lima, N.R.C., Oliveira, de, M.L.R., Santos-Mallet, dos, J.R., Gonçalves, TCM, 2014. *Biology of Triatoma carvalhoi* Jurberg, Rocha & Lent, 1998 under laboratory conditions. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 47 (3), 307–312.
- Cortéz, M.G.R., Gonçalves, T.C.M., 1998. Resistance to Starvation of *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) under Laboratory Conditions (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 93 (4), 549–554.
- Costa, M.J., Perondini, A.L.P., 1973. Resistência do *Triatoma brasiliensis* ao jejum. *Revista De Saúde Pública* 7 (3), 207–217. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101973000300003>
- Diotaiuti, L., Dias, J.C.P., 1987. Estudo comparativo do ciclo evolutivo de *Rhodnius neglectus* alimentados em pombos ou camundongos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 20 (2), 95–99.
- Diotaiuti, L., Penido, C.M., Pires, H.R., Dias, J.C.P., 1995. Dinâmica da alimentação e da dejeção do *Triatoma sordida*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 28 (3), 195–198.
- Dujardin, J.P., 2011. Modern Morphometrics of Medically Important Insects. In *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*. Elsevier, http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384890-1_16-9, pp. 473–501.
- Durán, P., Siñani, E., Depickère, S., 2014. Biological cycle and preliminary data on vectorial competence of *Triatoma boliviana* in laboratory conditions. *Acta Trop.* 140, 124–129.
- Emmanuelle-Machado, P., Koerich, L.B., Joukoski, D.D.B., Carvalho-Pinto, C.J., Grisard, E.C., Steindel, M., 2002. *Biology of Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent & Galvão 2001 (Heteroptera: Reduviidae) under laboratory conditions: effects of distinct blood sources and susceptibility to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 97 (4), 583–587.
- Galvão, A.B., Silva e Souza, H., Lima de, R.R., 1965. *Triatoma williami* n. sp. (Hemiptera, Triatominae). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais* 17 (4), 363–366.
- Galvão, C., Jurberg, J., Lent, H., 1996. Resistência ao jejum de *Triatoma nitida* Usinger. 1939 *Em Laboratório* 91 (5), 639–640.
- Gomes, A.B., Silva, I.G., 2000. Influência da Temperatura na biologia de triatomíneos. XXI. *Triatoma jurbergi* carcavallo, galvão & lent, 1998 (Hemiptera, Reduviidae). *Revista de Patologia Tropical* 29 (1), 85–93.
- Gonçalves, T.C.M., Cunha, V., Oliveira De, E., Jurberg, J., 1997. Alguns aspectos da biologia de *Triatoma pseudomaculata* Corrça & Espinola, 1964, em condições de laboratório (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 92 (2), 275–280.
- Gonçalves, T.C., Victorio, V.M., Jurberg, J., Cunha, V., 1989. *Biologia do Triatoma vitticeps* Stal 1859 em condições de laboratório (Hemiptera Reduviidae Triatominae) II. resistencia ao jejum. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 84 (1), 131–134.
- Guarneri, A.A., Diotaiuti, L., Gontijo, N.F., Gontijo, A.F., Pereira, M.H., 2000a. Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. *J. Insect Physiol.* 46, 1121–1127.
- Guarneri, A.A., Pereira, M.H., Diotaiuti, L., 2000b. Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera:Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 37 (3), 373–379.
- Juarez, E., 1970. Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. *Revista De Saúde Pública* 4, 147–166.
- Juarez, E., Silva de, E.P.C., 1982. Comportamento do *Triatoma sordida* em condições de laboratório. *Revista de Saúde Pública* 16 (suppl), 1–37.
- Jurberg, J., Barbosa, H.S., Galvão, C., Rocha, da, D.S., Silva, MBA, 2010. Descrição de ovos e ninfas de *Triatoma klugi* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Iheringia Série Zologia* 100 (1), 43–54. <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212010000100006>
- Jurberg, J., Costa, J.M., 1989. Estudos sobre a resistencia ao jejum e aspectos nutricionais de *Triatoma lecticularia* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 84 (3), 393–399.
- Klotz, S.A., Dorn, P.L., Klotz, J.H., Pinna, J.L., Weirauch, C., Kurtz, J.R., Schmidt, J., 2009. Feeding behavior of triatomines from the southwestern United States: An update on potential risk for transmission of Chagas disease. *Acta Trop.* 111, 114–118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.03.003>
- Lazzari, C.R., Pereira, M.H., Lorenzo, M.G., 2013. Behavioural biology of Chagas disease vectors. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 108, 34–47. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-0276130409> (Suppl 1).
- Lent, H., Wygodzinsky, P., 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 163, 123–520.
- Lorosa, E.S., De, Andrade R.E., Faria, M.S., Valente, M.V.M.P., Jurberg, J., 2008. Preferência alimentar de ninfas de 1º estágio de algumas espécies de triatomíneos do complexo oliveirai (Hemiptera, Reduviidae) em condições de laboratório. *Revista Brasileira De Zociências* 10 (2), 163–170.
- Loza-Murguía, M., Noireau, F., 2010. Vectorial capacity of *Triatoma guasayana* (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) compared with two other species of epidemic importance. *Neotrop. Entomol.* 39 (5), 799–809.
- Luitgards-Moura, J.F., Vargas, A.B., Almeida, C.E., Magno-esperança, G., Agapito-souza, R., Folly-ramos, E., Costa, J., Tsouris, P., Rosa-Freitas, M.G., 2005. *A Triatoma maculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) population from Roraima, Amazon region, Brazil, has some bionomic characteristics of a potential. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 47 (3), 131–137.
- Marassá, A.M., Veiga-Barreiros, de, R.M.O., Moraes, R.H.P., Andrade, De, R.M.G., Castillo, A., Corrêa, de, F.M.A., 1998. Observações sobre oviposicao, eclosão e tempo de vida de *Triatoma matogrossensis* Leite & Barbosa, 1953 (Hemiptera-Reduviidae) em função da alimentação em pombos e coelhos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 31 (4), 361–365.
- Martínez-Ibarra, J.A., Alejandro-Aguilar, R., Torres-morales, A., Trujillo-garcía, J.C., Nogueira-Torres, B., Trujillo-Contreras, F., 2006. Biology of three species of the *Meccus phyllosomus* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) fed on blood of hens and rabbits. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 101 (7), 787–794.
- Martínez-Ibarra, J.A., López, M.N., Hernández, R., Guillén, Y.G., 2003. Influence of the blood meal source on the biology of *Meccus picturatus* Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98 (2), 227–232.
- Martínez-Ibarra, J.A., Paredes-González, E., Ángel-Licón Trillo, Montañez-Valdez, O.D., Rocha-Chavez, G., Nogueira-torres, B., 2012. The biology of three Mexican-American species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): *Triatoma recurva*, *Triatoma protracta* and *Triatoma rubida*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 107 (5), 659–663.
- Mello, D.A., 1976. Biology of Triatominae (Reduviidae, Hemiptera) from north of Formosa County (Goiás – Brazil). I. Length of life cycle of *Triatoma sordida* (Stal, 1859). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 10 (6), 327–331.
- Nattero, J., Crocco, L.B., Rodríguez, C.S., 2002. Feeding and defaecation behaviour of *Triatoma pagonica* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 97 (7), 1063–1065.
- Nattero, J., Leonhard, G., Rodríguez, C.S., Crocco, L., 2011. Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug). *Acta Trop.* 119 (2–3), 183–187. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.05.015>

- Nattero, J., Rodríguez, C.S., Crocco, L., 2012. Effects of blood meal source on food resource use and reproduction in *Triatoma patagonica* Del Ponte (Hemiptera Reduviidae). *J. Vector Ecol.* 38 (1), 127–133.
- Noireau, F., dos Santos, S.M., Gumiel, M., Dujardin, J.-P., dos Santos Soares, M., Carcavallo, R.U., Jurberg, J., 2002. Phylogenetic relationships within the oliveirai complex (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae). *Infect. Genet. Evol.* 2 (1), 11–17, [http://dx.doi.org/10.1016/S1567-1348\(02\)59-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-1348(02)59-X)
- Noireau, F., Flores, R., Gutierrez, T., Abad-Franch, F., Flores, E., Vargas, F., 2000. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 94 (1), 23–27, [http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203\(00\)90426-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90426-7)
- Paredes-esquivel, C., Lecaros, E., Mauro, A.-R., Acosta, H.S., Castellanos, P., 2010. Entomological factors affecting the low endemicity of chagas disease in Nazca, Southwestern Peru. *Vector-borne Zoonotic Dis.* 10 (4), 341–346.
- Pereira, H., Penido, C.M., Martins, M.S., Diotaiuti, L., 1998. Comparative kinetics of bloodmeal intake by *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus*, the two principal vectors of Chagas disease. *Med. Vet. Entomol.* 12 (1), 84–88.
- Piesman, J., Sherlock, I.A., 1983. Factors controlling the volume of feces produced by triatomine vectors of Chagas' disease. *Acta Trop.* 40 (4), 351–358.
- Reyes, M., Angulo, V., 2009. Life cycle of *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions: production of nymphs for biological tests. *Biomedica* 29 (1), 119–126.
- Rocha da, D.S., Jurberg, J., Carcavallo, R.U., Presgrave, O.A.F., Cunha, V., Galvão, C., 2001. Influência da temperatura e umidade no desenvolvimento ninfal de *Rhodnius robustus*. *Revista De Saê De Pêblica* 35 (4), 400–406.
- Rocha da, D.S., Santos, C.M., Cunha, V., Jurberg, J., Galvão, C., 2004. Ciclo Biológico em Laboratório de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), potencial vetor silvestre da Doença de Chagas na Amazônia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99 (October), 591–595.
- Rodríguez, V.L.C.C., Ferraz Filho, A.N., Rocha e Silva, E.O., 2007. *Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926): Tábua de vida das ninfas, duração das formas adultas e postura das fêmeas (Hemiptera-Reduviidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40 (4), 443–446.
- Rodríguez, C.S., Carrizo, S.A., Crocco, L.B., 2008. Comparison of feeding and defecation patterns between fifth-instar nymphs of *Triatoma patagonica* (Del Ponte, 1929) and *Triatoma infestans* (Klug, 1934) under laboratory conditions. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 41 (4), 330–333.
- Santos, C.B., Leite, G.R., Sessa, P.A., Falqueto, A., 2006. Dynamics of feeding and defecation in *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) and its potential in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 101 (5), 543–546.
- Schofield, C.J., 1985. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. *Annales De La Société Belge De Médecine Tropicale* 65, 149–164.
- Silva, I.G., Camargo, M.F., Santos, A.H., 1996. Ciclo evolutivo de *Triatoma williami*, Galvão, Souza e Lima, 1965 em condições de laboratório. *Revista Goiana De Medicina* 41, 32–38.
- Soares, R.P.S., Evangelista das, L.G., Laranja, L.S., Diotaiuti, L., 2000. Population dynamics and feeding behavior of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata*, main vectors of Chagas disease in Northeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95 (2), 151–155.
- Sulbaran, J.E., Chaves, L.F., 2006. Spatial complexity and the fitness of the kissing bug, *Rhodnius prolixus*. *J. Appl. Entomol.* 130 (1), 51–55, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0418.2005.01027.x>
- Trumper, E.V., Gorla, D.E., 1991. Density-dependent timing of defecation by *Triatoma infestans*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 800–802.
- Zeledón, R., Alvarado, R., Jirón, L.F., 1977. Observations on the feeding and defecation patterns of three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Trop.* 34 (1), 65–77.