

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Filogeografia de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemiptera,  
Reduviidae, Triatominae)**

**Stefanie Barbosa Potkul Soares**

Vitória, ES  
Março, 2020

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Filogeografia de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemiptera,  
Reduviidae, Triatominae)**

**Stefanie Barbosa Potkul Soares**

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rocha Leite

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal.

Vitória, ES  
Março, 2020

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos e proteção diária, e que me permitiu chegar até aqui.

Agradeço em especial à memória de minha mãe, Sandra Barbosa, pelo amor incondicional, apoio, carinho, por ter cuidado tão bem de mim e por ter me ajudado a me tornar a pessoa que eu sou. Obrigado por me guiar em todos os meus caminhos.

Ao meu pai, José Geraldo Potkul Soares, pelo apoio, ensinamentos, cuidado e auxílio na minha formação pessoal e acadêmica.

À minha irmã, Lara Barbosa Potkul Soares, por estar ao meu lado em todos os momentos, pela amizade, apoio e por ter paciência comigo nos momentos mais estressantes.

Agradeço também a toda minha família, meus avós, tios, primos pelo apoio e por estarem sempre à disposição para ajudar nas horas que precisei.

Aos meus colegas de sala e amigos, pela amizade, risadas e apoio em todos os momentos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Rocha Leite, que me orientou neste trabalho, sempre com muita boa vontade e paciência. Agradeço pelos ensinamentos e dicas relacionados à área acadêmica.

Aos membros da comissão examinadora deste trabalho: Dra. Ana Carolina Loss Narcisa Imaculada Brant Moreira e Prof. Dra. Valéria Fagundes. E a suplente, Prof. Dra. Narcisa Imaculada Brant Moreira.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, por compartilharem o conhecimento, contribuindo direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

À UFES, por fornecer todo o suporte necessário para a minha formação.

À FAPES, pelo suporte financeiro a essa pesquisa, por meio da bolsa de Mestrado.

## Resumo

A doença de Chagas é considerada uma das doenças negligenciadas da América Latina e seu agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi*, transmitido por insetos hematófagos, conhecidos como barbeiros, que pertencem à subfamília Triatominae. Dentro dessa subfamília, inclui-se *Panstrongylus megistus*, considerado um dos principais vetores da doença de Chagas. Sua importância epidemiológica para esta doença se deve à sua alta capacidade de domiciliação, sendo frequentemente encontrada nos ambientes domiciliares. Porém, essa capacidade de domiciliação apresenta diferenças entre regiões, pois em alguns locais, a espécie é considerada silvestre. Uma das possibilidades para explicar esse fato é por meio da filogeografia, que estuda os processos que influenciam a distribuição geográfica de linhagens de espécies ou de populações de uma espécie. Desse modo, com base nos padrões filogeográficos de *P. megistus*, o estudo tem como objetivo correlacionar as diferentes capacidades de domiciliação das populações de *Panstrongylus megistus* a partir de seus padrões filogeográficos. Para isso foram utilizados os marcadores moleculares DNA mitocondrial, representado pelo gene Citocromo b Oxidase (Cytb) e sequências intergênicas de rDNA, contendo gene 5.8S, Espaçador Interno Transcrito 1(ITS1) e 2(ITS2). Analisou-se 16 sequências de Cytb e 26 sequências de rDNA, provenientes de populações diferentes, obtidas no banco de dados do GenBank. Foram realizadas análises filogenéticas de Inferência Bayesiana, diversidade haplotípica, redes de haplótipos, AMOVA, análise de  $F_{st}$  e teste de Mantel. Os resultados apresentaram fraca estrutura genética associada à distribuição geográfica das populações. Além disso, as populações analisadas apresentaram baixa diversidade e variância genética entre si, o que pode ser explicada por uma expansão recente das populações a partir de uma população ancestral, original da Mata Atlântica. A dispersão ativa e passiva da espécie justifica sua ampla distribuição geográfica pelo país, o que levou populações da espécie para regiões de condições ambientais diferentes das quais a espécie é habituada. Devido a isso, algumas populações encontraram nos domicílios condições microclimáticas

favoráveis, além de fonte alimentar, que favoreceram a adaptação dessas populações ao ambiente domiciliar, se separando das populações silvestres. O desmatamento causado por ação antrópica também influenciou na capacidade da domiciliação de algumas populações, devido à destruição dos ecótopos naturais da espécie e redução de fontes alimentares. Estudos futuros com maior número de populações analisadas e marcadores moleculares podem apresentar informações mais completas e bem resolvidas quanto aos padrões filogeográficos da espécie.

**Palavras-chave:** *Panstrongylus megistus*, filogeografia, distribuição geográfica, domiciliação, dispersão.

## Abstract

Chagas disease is considered one of the neglected tropical diseases of Latin America and its etiological agent is *Trypanosoma cruzi*, transmitted by hematophagous bugs, known as kissing bugs, which belong to the subfamily Triatominae. Within this subfamily, there is *Panstrongylus megistus*, one of the main vectors of Chagas disease in Brazil. Its epidemiological importance for Chagas disease is due to its high domiciliation capacity, commonly found in domestic environments. However, its domiciliation capacity is different between regions, because in some areas, this species is considered sylvatic. One of the possibilities to explain this fact is phylogeography, which is the study of the processes that influence geographical distribution of genealogical lineages. Thereby, based on the phylogeographical patterns of *Panstrongylus megistus*, this thesis aims to correlate the different domiciliation capacities of *P. megistus* populations. The phylogeographic analyses was based on fragments of the mitochondrial gene Cytochrome b (Cytb) and ribosomal DNA intergenic region (rDNA), comprising complete internal transcribed spacer (ITS)-1, 5.8S, and ITS-2 sequences. 16 sequences of cytb and 26 sequences of rDNA, from different populations, were analysed. All the sequences were obtained from GenBank. Phylogenetic analyses of Bayesian Inference, haplotype diversity, haplotype network, AMOVA,  $F_{st}$  analysis and Mantel test were performed. The analyses showed poor genetic structure associated to geographical distribution of the populations. Besides, the analyses showed poor diversity and genetic variance between populations, which suggests a recent population expansion from an ancestral population, originated in the Atlantic Forest. Active and passive dispersion explains the species' wide geographical distribution in Brazil, which led some populations to spread to regions with different environmental conditions. Thereby, some populations found in the domiciles, favourable microclimatic conditions and food source, which favoured the adaptation of these populations to the domiciles, becoming isolated from other sylvatic populations. Deforestation

caused by human activities has also played an important role on the domestication of some populations, because of the destruction of natural ecotopes and reduction of food sources. Future research with bigger number of populations analysed and molecular markers can present more complete and resolved information regarding phylogeographical patterns of *P. megistus*.

**Keywords:** *Panstrongylus megistus*, phylogeography, geographical distribution, domestication, dispersion.

## Lista de Figuras

Figura 1. Agrupamento das sequências de Cytb conforme o compartilhamento de biomas e climas pelas populações, de acordo com as respectivas localidades...22.

Figura 2. Agrupamento das sequências de rDNA conforme o compartilhamento de biomas e climas pelas populações, de acordo com as respectivas localidades...23.

Figura 3. A - Distribuição geográfica dos haplótipos de Cytb de *P. megistus* de cada localidade amostrada. Linhas transversais no mapa separam as populações de acordo com os grupos previamente estabelecidos. B – Rede de haplótipos baseada nas sequências de Cytb. O tamanho dos círculos é proporcional às frequências dos haplótipos. Cada população é representada por uma cor.....25.

Figura 4. Árvore de Inferência Bayesiana construída a partir das sequências de Cytb. Os círculos coloridos são correspondentes às cores dos haplótipos de cada população.....27.

Figura 5. Padrão filogeográfico das populações de *P. megistus* a partir das sequências de Cytb. As cores dos ramos representam os agrupamentos formados na filogenia.....28.

Figura 6. A - Distribuição geográfica dos haplótipos de rDNA de *P. megistus* de cada localidade amostrada. Linhas transversais no mapa separam as populações de acordo com os grupos previamente estabelecidos. B – Rede de haplótipos baseada nas sequências de rDNA. O tamanho dos círculos é proporcional às frequências dos haplótipos. Cada população é representada por uma cor.....30.

Figura 7. Árvore de Inferência Bayesiana construída a partir das sequências de rDNA. Os círculos coloridos são correspondentes às cores dos haplótipos de cada população.....32.

Figura 8. Padrão filogeográfico das populações de *P. megistus* a partir das sequências de rDNA. As cores dos ramos representam os agrupamentos formados na filogenia.....33.



## **Lista de Tabelas**

|                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1. Lista das sequências de Cytb e rDNA obtidas no banco de dados online GENBANK..... | 18. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

## **Sumário**

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| Introdução .....                 | 11 |
| Objetivos .....                  | 16 |
| Metodologia .....                | 17 |
| Resultados .....                 | 24 |
| Discussão .....                  | 35 |
| Conclusão .....                  | 43 |
| Referências Bibliográficas ..... | 45 |

## Introdução

---

A Doença de Chagas é uma infecção crônica e potencialmente fatal causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) (PEREIRA *et al.*, 2013). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que entre 6-7 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo, principalmente na América Latina, onde é endêmica e continua sendo um dos principais problemas na saúde pública, sendo classificada como uma doença tropical negligenciada (DIAS, SILVEIRA, SCHOFIELD, 2002; WHO, 2019). Apesar de a transmissão vetorial ser considerada a forma habitual de transmissão, a transmissão por via oral tem sido responsável pela maioria dos casos de surtos da forma aguda da doença nos últimos anos no país (MAGALHÃES-SANTOS, 2014).

A infecção causada por *T. cruzi* ocorria entre mamíferos e triatomíneos silvestres, depois passou a acometer animais domésticos e seres humanos, sendo considerada uma enfermidade do meio rural (WHO, 2012). Porém o desmatamento e avanço da urbanização para regiões rurais, fizeram com que a doença ocorresse em regiões cada vez mais próximas aos centros urbanos. Isso se deve à invasão de triatomíneos aos domicílios com possível formação de colônias, no caso de algumas espécies, e manutenção de reservatórios no ambiente peridomiciliar (LEITE DIAS *et al.*, 2016).

Os hemípteros hematófagos responsáveis pela transmissão do *T. cruzi*, popularmente conhecidos como barbeiros, pertencem à subfamília Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae). Esta subfamília possui cerca de 150 espécies de triatomíneos, agrupadas em 5 tribos e 15 gêneros com distribuição na região Neotropical (JUSTI e GALVÃO, 2017; DOS SANTOS SOUZA *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2009). No Brasil, já foram registradas 68 espécies de triatomíneos, sendo que 13 são consideradas espécies de relevância epidemiológica para a Doença de Chagas (BRASIL, 2019). Todas as espécies têm hábito de vida silvestre originalmente, e vivem associados a aves, mamíferos e répteis que servem como fonte de alimento. A alteração de ecótopos silvestres

com a invasão humana interferiu diretamente no ciclo epidemiológico da doença de Chagas e, com isso, pelo menos cinco espécies adquiriram a habilidade de formar colônias no ambiente domiciliar (Burmeister, 1835) (LEITE, DOS SANTOS, FALQUETO, 2011; SILVEIRA *et al.*, 1984).

O gênero *Panstrongylus* é agrupado na tribo Triatomini, composto por mais nove gêneros (GALVÃO e DE PAULA, 2014). O gênero *Panstrongylus* é composto por 14 espécies viventes e uma espécie fóssil, e apresenta ampla distribuição geográfica pela região Neotropical, estendendo-se desde o México até a Argentina (AYALA, MATTEI e MATTEI, 2014). Todas as espécies do gênero estão associadas a buracos terrestres e buracos em árvores (GAUNT e MILES, 2000). Dentre as espécies desse gênero, três possuem importância epidemiológica em relação à doença de Chagas: *Panstrongylus lutzi*, *Panstrongylus geniculatus* e *Panstrongylus megistus* (BRASIL, 2019).

*Panstrongylus megistus* foi a primeira espécie de triatomíneo utilizada para a descrição da doença de Chagas por Carlos Chagas, em 1909, devido à sua infecção por *T. cruzi* (RIBEIRO *et al.*, 2016). É uma espécie amplamente distribuída pelo território brasileiro, com registros de ocorrência em 24 estados, além de outros países da América do Sul, como Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia (RIBEIRO CASTRO *et al.*, 2018). Sua área de ocorrência abrange principalmente a região da Mata Atlântica, além de regiões de Cerrado e Caatinga (PATTERSON, BARBOSA, FELICIANGELI, 2009).

*Panstrongylus megistus* teria tido sua origem nas florestas do domínio tropical atlântico e sua distribuição geográfica ampla por outros domínios do território sul americano pode estar relacionada à dispersão ativa e passiva, assim como ocorre com outras espécies de triatomíneos que possuem ampla distribuição geográfica (FORATTINI, 2006). Representa uma espécie com grande importância epidemiológica em relação à Doença de Chagas, sendo considerada um dos principais vetores. Isso se deve a sua ampla distribuição, altas taxas de infecção por *T. cruzi*, além de possuir capacidade de domiciliação.

O processo de domiciliação dos triatomíneos é considerado um processo evolutivo gradual e de grande importância epidemiológica para medidas de controle vetorial em relação à Doença de Chagas (SCHOFIELD, DIOTAIUTI e DUJARDIN, 1999). Entretanto, os mecanismos envolvidos nesse processo ainda não foram elucidados. Alguns estudos sugerem que alterações ambientais têm grande influência na invasão de domicílios e formação de colônias nos mesmos por triatomíneos (LORENZO *et al.*, 2000; FORATTINI, 2006). Já outros estudos relacionam essa adaptação ao ambiente doméstico a uma simplificação genética, com perda de genes (ALMEIDA, LIMA e COSTA, 2014). Assim, parte de uma população silvestre ao chegar ao peridomicílio ou domicílio, acaba se isolando da população original, expande-se e sofre o efeito fundador. Então, ocorre a seleção de genótipo para o ambiente domiciliar, com perda de genes associados ao hábito silvestre, levando ao surgimento de novos indivíduos cada vez mais adaptados ao ambiente doméstico (SCHOFIELD, DIOTAIUTI e DUJARDIN, 1999).

A capacidade de domiciliação de *P. megistus* varia de acordo com a região, sendo caracterizada como: silvestre da região Sul do Brasil até grande parte do estado de São Paulo (SP); e sinantrópica da região norte-nordeste de SP até o Nordeste do Brasil (VENDRAMI, JUNIOR, MARRELLI, 2014; ARAGÃO, 1961; FORATTINI *et al.*, 1977). O estado de SP é onde se situa uma linha hipotética, proposta por Aragão (1961), em que marca a divisão das formas de *P. megistus*, no que se refere à capacidade de domiciliação da espécie. Estudos já mostraram que populações silvestres de *P. megistus* tem a capacidade de formar colônias em ambiente domiciliar, o que indica uma capacidade de adaptação ao ecótopo artificial, desde que apresentem condições similares às condições ideais para a ocorrência da espécie (ROSA, JUSTINO e BARATA, 2003; FORATTINI *et al.*, 1979; FORATTINI *et al.*, 1977).

Ainda não há uma explicação conclusiva para essa diferença na capacidade de invasão de ecótopos artificiais entre populações de *P. megistus*, embora vários estudos já tenham tentado relacionar esse fato a questões fisiológicas, etológicas e climáticas (BARBOSA *et al.*, 2004; BARBOSA *et al.*, 2001; BARBOSA *et al.*, 2003; KOPP *et al.*, 2009).

Existem poucos estudos, até o momento, que utilizaram uma abordagem filogenética para estudar as diferenças populacionais da espécie. Isso se deve principalmente às dificuldades de se obter os recursos genéticos necessários para as análises, o que é uma dificuldade para os estudos filogenéticos para os triatomíneos em geral (JUSTI e GALVÃO, 2017). Um dos meios de explicar essa variedade no padrão de domiciliação de *P. megistus* é por meio da análise filogeográfica de populações da espécie.

O termo filogeografia surgiu no fim dos anos 1980 e é definida como o estudo das propriedades que caracterizam a distribuição geográfica de linhagens genealógicas (AVISE *et al.*, 1987). O desenvolvimento de estudos filogeográficos acompanhou o desenvolvimento de novos métodos de sequenciamento genético, que permitiu melhor entendimento da sistemática e padrões evolutivos das espécies, principalmente com a utilização de marcadores moleculares, como genes do DNA mitocondrial (mtDNA) (PICCINALI *et al.*, 2009). O uso de genes mitocondriais é vantajoso devido à herança uniparental (materna) e rápida taxa de evolução. Ao utilizarem genes do mtDNA, estudos filogeográficos dão melhores informações sobre padrões intraespecíficos de variações geográficas do que métodos não moleculares (ARBOGAST, KENAGY, 2001). Além disso, muitos estudos utilizam DNA ribossômico nuclear (rDNA) para inferir relações filogenéticas, sendo ótimos marcadores para classificação de espécies e inferências filogenéticas. Os Espaçadores Internos Transcritos 1 e 2 (ITS 1 e 2) são úteis para resolver relações entre táxons próximos, que divergiram recentemente (< 50 milhões de anos), como é o caso de *P. megistus* (MARCILLA *et al.*, 2001; BARGUES *et al.*, 2006).

Em razão da utilização de ambos os tipos de marcadores moleculares, foi realizado um estudo filogeográfico de diferentes populações de *P. megistus* por meio da análise de mtDNA, tendo como marcador sequências do gene citocromo b oxidase (Cytb), e rDNA, tendo como marcador sequências da região intergênica.

Fatores biogeográficos das espécies tem papel importante na estrutura genética das populações e isso permitiu o desenvolvimento de hipóteses filogeográficas

que justifiquem a estrutura filogeográfica de espécies (AVISE *et al.*, 2000). No caso de doenças transmitidas por vetores, entender a história filogeográfica das espécies tem grande importância epidemiológica e pode levar ao desenvolvimento de novas medidas de controle vetoriais para essas doenças. As análises filogeográficas poderão apresentar resultados que comprovem a divisão das populações do Norte e Sul do país quanto às diferenças nas capacidades de domiciliação de *P. megistus*, como formação de clados de indivíduos provenientes de regiões geograficamente próximas nas filogenias e agrupamentos de indivíduos das mesmas regiões nas redes de haplótipos.

Assim sendo, estudos filogeográficos, como esse, são importantes para esclarecer a diversificação das populações de *P. megistus* e apresentar uma hipótese para a diferença nas capacidades de domiciliação de suas populações. Além disso, há importância epidemiológica, pois, os resultados obtidos poderão auxiliar no planejamento e execução de medidas de controle da vigilância epidemiológica.

## Objetivos

---

### OBJETIVO GERAL:

Investigar a influência da estrutura filogenética nas diferentes capacidades de domiciliação de *P. megistus*.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analisar a diversidade e a estruturação genética de *P. megistus* e inferir a relação filogenética entre indivíduos da espécie de diferentes regiões do Brasil.
- Apresentar uma hipótese filogeográfica para *P. megistus*.
- Inferir sobre os possíveis processos responsáveis pela distribuição geográfica da diversidade genética de *P. megistus* e sua relação com a capacidade em colonizar e se manter no ambiente antrópico.



### OBTENÇÃO DAS SEQUÊNCIAS

Todas as sequências moleculares utilizadas para a análise foram obtidas por meio do banco de dados do GenBank (NCBI) (Tabela 1). As sequências escolhidas são do gene mitocondrial Citocromo b Oxidase (Cytb) e sequências intergênicas de rDNA, contendo gene 5.8S, Espaçador Interno Transcrito 1 (ITS1) e 2 (ITS2). Analisou-se 18 sequências de Cytb e 26 sequências intergênicas de rDNA, provenientes de populações diferentes. Para grupo externo foram utilizadas duas sequências para cada marcador. No caso de Cytb, foram escolhidas sequências de *Triatoma delpontei* (KC249248) e *Triatoma infestans* (GU807595). Já para as sequências de rDNA, foram escolhidas sequências de *Triatoma delpontei* (AJ576060) e *Mepraia* sp. (FN396534).

Tabela 1. Lista das sequências de Cytb e rDNA obtidas no banco de dados online GENBANK

| Município            | Estado | Latitude | Longitude | Cytb     | rDNA     |
|----------------------|--------|----------|-----------|----------|----------|
| -                    | RN     | -        | -         | JX088624 | -        |
| Almino Afonso        | RN     | -6,1540  | -37,7626  | JX088619 | -        |
| Boca da Mata         | AL     | -9,6657  | -36,1810  | JX088620 | -        |
| Simão Dias           | SE     | -10,7539 | -37,8273  | -        | HF678472 |
| São Felipe           | BA     | -12,8373 | -39,0946  | JX088627 | HF678474 |
| Pitangui             | MG     | -19,5876 | -44,8865  | KC249232 | -        |
| Belo Horizonte       | MG     | -19,9023 | -43,9599  | -        | HF678475 |
| Campos Gerais        | MG     | -21,1407 | -45,4512  | JX088615 | -        |
| Ribeirão Preto       | SP     | -21,2105 | -47,8210  | JX088623 | -        |
| Cássia dos Coqueiros | SP     | -21,2627 | -47,1439  | JX088617 | -        |
| Varginha             | MG     | -21,5577 | -45,4093  | JX088618 | HF678477 |
| Araraquara           | SP     | -21,7909 | -48,1808  | JX088622 | HF678473 |
| S. João da Boa Vista | SP     | -21,9777 | -46,8018  | JX088621 | HF678471 |
| Mogi Guaçu           | SP     | -22,2316 | -47,0288  | JX088616 | HF678465 |
| Arapongas            | PR     | -23,4405 | -51,4276  | JX088625 | HF678462 |
| Londrina             | PR     | -23,5142 | -51,1100  | -        | HF678468 |
| Siqueira Campos      | PR     | -23,6387 | -49,7925  | -        | HF678453 |
| Tomazina             | PR     | -23,7248 | -49,9621  | -        | HF678456 |
| Santana do Itararé   | PR     | -23,7502 | -49,6322  | -        | HF678459 |
| Wenceslau Braz       | PR     | -23,8551 | -49,7840  | -        | HF678463 |
| Goioxim              | PR     | -24,1142 | -51,5934  | -        | HF678452 |
| Rio Branco do Sul    | PR     | -24,1143 | -49,1850  | -        | HF678458 |
| Castro               | PR     | -24,4732 | -50,0420  | -        | HF678457 |
| Cerro Azul           | PR     | -24,4933 | -49,1541  | -        | HF678464 |
| Palmitópolis         | PR     | -24,5022 | -53,2764  | -        | HF678467 |
| Campo Magro          | PR     | -25,2208 | -49,2703  | -        | HF678461 |
| Piraquara            | PR     | -25,2638 | -49,3440  | -        | HF678466 |
| Rebouças             | PR     | -25,3622 | -50,4137  | -        | HF678460 |
| Rio Azul             | PR     | -25,4358 | -50,4745  | -        | HF678459 |
| Curitiba             | PR     | -25,4776 | -49,2877  | JX088626 | HF678460 |
| Três Passos          | RS     | -27,2731 | -53,5549  | KC249230 | -        |

|                       |    |          |          |          |                                  |
|-----------------------|----|----------|----------|----------|----------------------------------|
| Santa Rosa            | RS | -27,5216 | -54,2855 | -        | HF678454<br>HF678455<br>HF678470 |
| Florianópolis         | SC | -27,5791 | -48,5083 | -        | HF678476                         |
| Senador Salgado Filho | RS | -28,1490 | -54,3322 | -        | HF678469                         |
| Boa Vista do Cadeado  | RS | -28,3560 | -53,4747 | KC249229 | -                                |
| Nova Prata            | RS | -28,4549 | -51,3630 | KC249228 | -                                |
| Salvador Sul          | RS | -29,2612 | -51,2927 | KC249231 | -                                |

## ALINHAMENTO E ANÁLISES FILOGENÉTICAS

As sequências de Cytb apresentavam entre 341 e 562 bp. O alinhamento das sequências de Cytb foi feito no programa ClustalX e editadas manualmente no programa MEGA 7.0. As sequências intergênicas de rDNA apresentavam entre 1.432 e 1.521 bp. O alinhamento das sequências intergênicas de rDNA foi realizado no programa MAFFT v.7, utilizando a opção Q-INS-1, que considera a estrutura secundária do RNA.

As análises filogenéticas foram realizadas para as sequências de Cytb e rDNA separadamente. O programa DNAsp v.5 foi utilizado para calcular o número e diversidade de haplótipos nas populações de *P. megistus*, além da diversidade nucleotídica (LIBRADO e ROZAS, 2009). A construção da rede de haplótipos foi feita pelo programa Network 5, utilizando o método Median Joining.

A escolha do melhor modelo evolutivo foi feita pelo programa jModelTest 2 para inferência Bayesiana, utilizando o critério de informação Bayesiano (BIC). O modelo evolutivo escolhido foi HKY+G, para ambos os marcadores moleculares. As análises filogenéticas foram realizadas no programa MrBayes 3.2.6, para inferência Bayesiana. As análises Bayesianas foram realizadas com duas corridas de quatro corridas, três aquecidas e uma a frio, por 1.000.000 gerações, com 2.000 árvores amostradas. Cerca de 25% das amostras foram descartadas durante as primeiras gerações. Como indicação de bom suporte cladístico, foi

utilizada a probabilidade posterior Bayesiana (BPP) > 95%, indicando alta probabilidade das árvores estarem corretas (HUELSENBECK e RONQUIST, 1997).

## DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL

Para o cálculo da variância genética dentro e entre as populações de *P. megistus* foi feita uma análise de variância molecular (AMOVA). Além disso, também se avaliou a diferenciação genética entre os pares de populações com base na estatística  $F$ , utilizando os valores de  $F_{st}$  obtidos nas comparações par a par entre as sequências. Para o cálculo de AMOVA e  $F_{st}$  foi utilizado o programa Arlequin v. 3.5. O método  $F_{st}$  utiliza as variâncias das frequências alélicas para estimar a diferença entre populações. O valor de  $F_{st}$  varia de 0 a 1 e quanto mais próximo a 1, mais diferentes, geneticamente, são as populações (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2013).

Para o cálculo de  $F_{st}$  e AMOVA foram previamente estabelecidos agrupamentos relativos a cada marcador. Esses grupos foram classificados de acordo com o bioma e clima correspondente a localidade de cada sequência. A caracterização climática de cada localidade foi baseada na classificação climática de Koppen (ALVARES *et al.*, 2013). Já a caracterização de bioma foi feita por meio de mapeamento no programa QGIS, utilizando *shapefiles* dos biomas obtidos no site do Ministério do Meio Ambiente (<http://mapas.mma.gov.br/mapas/aplic/probio/datadownload.htm?/>).

As populações foram separadas em três agrupamentos: Grupo Nordeste, correspondente às populações de Alagoas, Bahia, Rio Grande do Norte e Sergipe; Grupo Sudeste, com populações de Minas Gerais e São Paulo; e Grupo Sul, composto por populações do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figuras 1 e 2). O grupo Nordeste, de ambos os marcadores, foi composto por populações de clima Tropical e bioma Caatinga. A população da Bahia situa-se na Mata Atlântica, porém por ser uma zona de transição do bioma com a Caatinga, e

possuir clima equivalente às demais populações, foi incluída no grupo Nordeste. O grupo Sudeste, de ambos marcadores, foi composto por populações de clima Subtropical Úmido com Inverno Seco, e bioma Cerrado. As populações de Varginha (MG), Pitangui (MG), Belo Horizonte (MG), Campos Gerais (MG) e Cássia dos Coqueiros (SP) situam-se numa região de Mata Atlântica, porém por estarem numa área de transição do bioma com o Cerrado, e possuírem clima equivalente às demais populações, foram incluídas nesse grupo. O grupo Sul, de ambos marcadores, foi composto por populações de clima Subtropical Úmido Oceânico e sem estação seca, e bioma Mata Atlântica.

No programa Alleles in Space foi realizado o teste de Mantel, que verifica a relação entre as distâncias genéticas e geográficas entre populações, testando a hipótese do isolamento por distância. O teste correlaciona matrizes de distância genética e geográfica, visando encontrar um padrão de distribuição espacial para as variações genéticas (DINIZ-FILHO *et al.*, 2013). A correlação do teste foi feita utilizando 1.000 permutações.

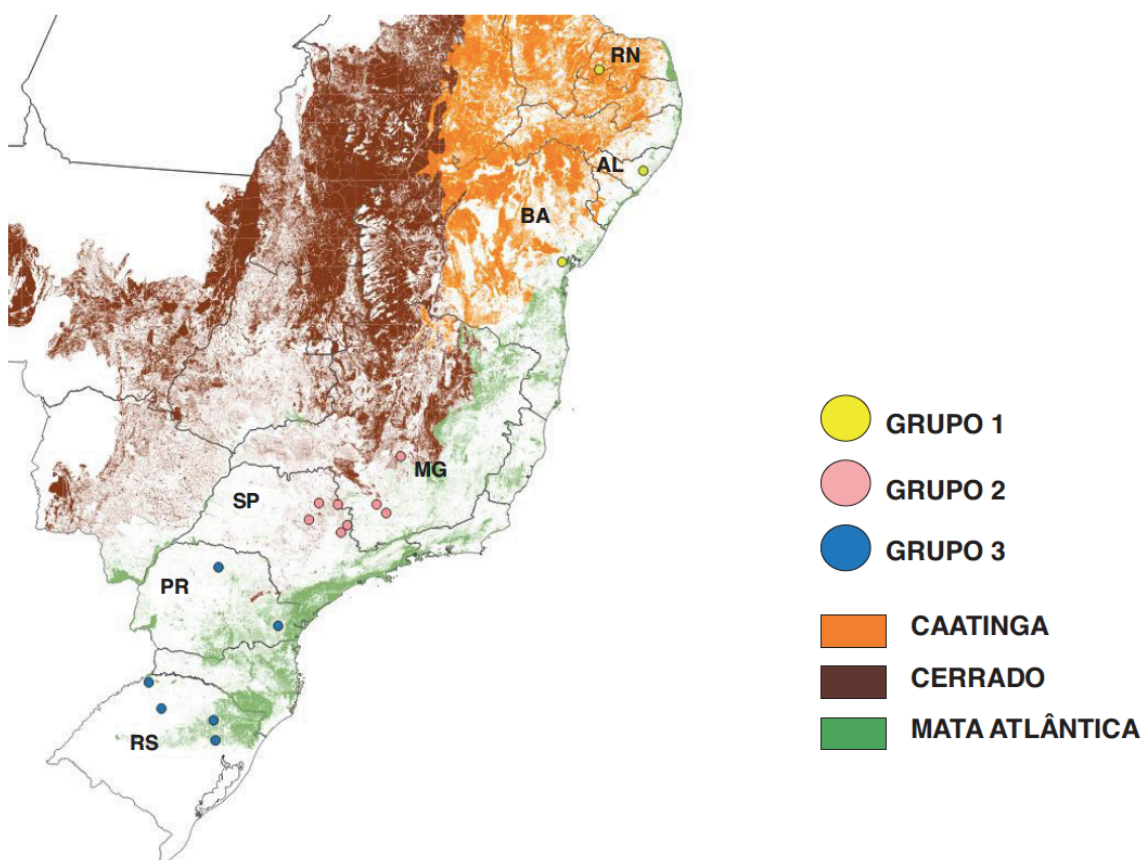


Figura 1. Agrupamento das sequências de Cytb conforme o compartilhamento de biomas e climas pelas populações, de acordo com as respectivas localidades.

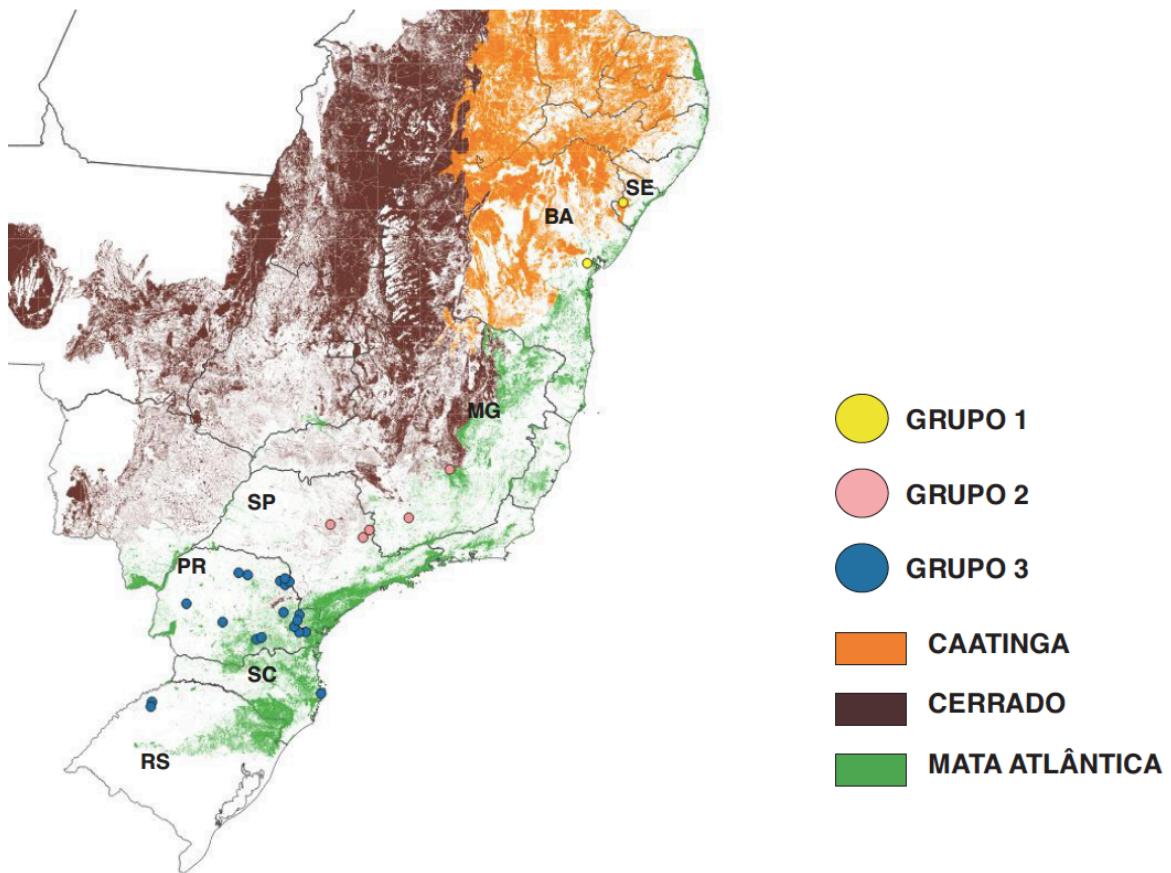


Figura 2. Agrupamento das sequências intergênicas de rDNA conforme o compartilhamento de biomas e climas pelas populações, de acordo com as respectivas localidades.

### ANÁLISES FILOGENÉTICAS

#### CITOCROMO B OXIDASE (Cytb)

Foram encontrados 12 haplótipos a partir das 18 amostras analisadas (Figura 3). A maioria dos haplótipos eram exclusivos das localidades de origem, sendo que somente três (H1, H2 e H7) eram compartilhados entre diferentes localidades. Os haplótipos H12, H9, H10 e H11 foram exclusivos de amostras do Rio Grande do Sul (RS); os haplótipos H8 e H6 foram exclusivos de amostras de São Paulo; os haplótipos H4 e H5 foram exclusivos de sequências de Minas Gerais (MG); e o haplótipo H3 foi exclusivo da sequência da Bahia. O haplótipo H1 foi o que teve maior compartilhamento, com sequências do Rio Grande do Norte (RN), Paraná (PR) e São Paulo. Esse haplótipo apresentou conexão com o H3 e H8. O haplótipo H2 esteve presente nas amostras do Rio Grande do Norte e Alagoas (AL). Esse haplótipo apresentou uma conexão com o haplótipo H7, que compreende as sequências de São Paulo e Minas Gerais. H7 apresentou também uma conexão com H5. Em relação aos índices de diversidade entre as populações, o índice de diversidade haplotípica ( $H_d$ ) foi de 0.935 e a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) foi de 0.02407.



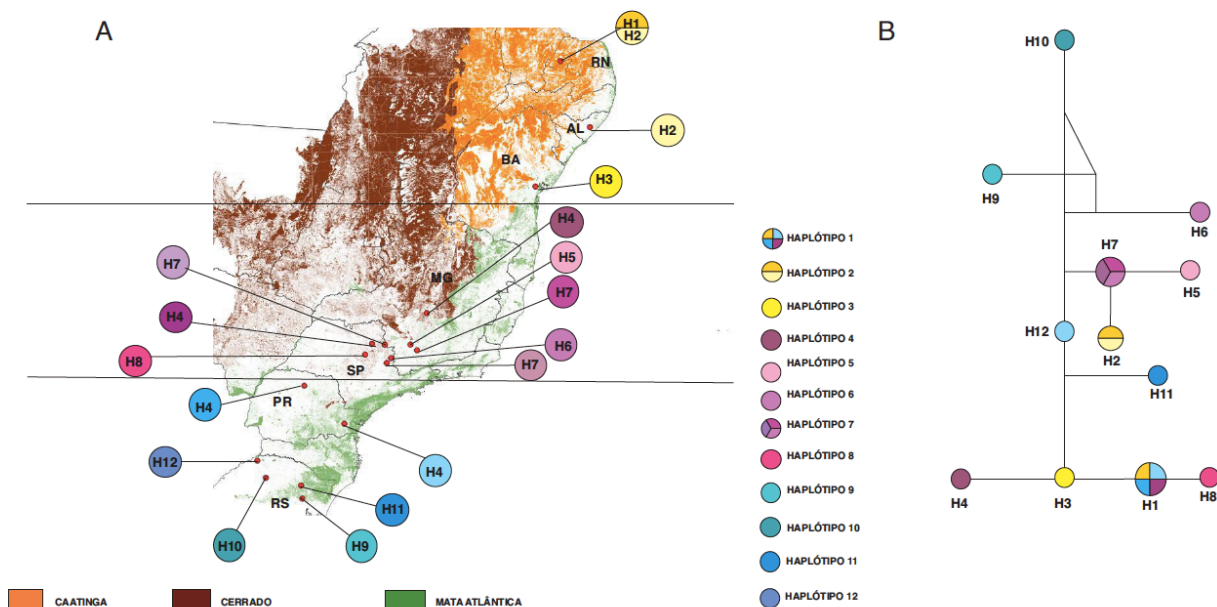


Figura 3. A - Distribuição geográfica dos haplótipos de *Cytb* de *P. megistus* de cada localidade amostrada. Linhas transversais no mapa separam os indivíduos de acordo com os grupos previamente estabelecidos. B – Rede de haplótipos baseada nas sequências de *Cytb*. O tamanho dos círculos é proporcional às frequências dos haplótipos. Cada haplótipo é representada por uma cor.

A árvore filogenética de Inferência Bayesiana resultou, com valores de bootstrap robustos ( $> 95\%$ ), em politomias (Figura 4 e 5). Não sendo conclusiva a relação entre os espécimes de *P. megistus*. O que se pode observar é que não houve um agrupamento dos indivíduos de localidades próximas. O espécime da Bahia ficou próximo às populações do Paraná, Rio Grande do Norte, Ribeirão Preto (SP) e Araraquara (SP). Dentro das politomias é possível observar a formação de um clado com a amostra de Três Passos (RS) e outro clado, formado pela sequência de Nova Prata (RS) e uma politomia contendo sequências de Boa Vista do Cadeado (RS), Salvador do Sul (RS), Cássia dos Coqueiros (SP), Mogi Guaçu (SP), São João da Boa Vista (SP), Campos Gerais (MG), Varginha (MG), Boca da Mata (AL) e Almino Afonso (RN). Notou-se que as amostras de Boca da Mata e Almino Afonso formaram um clado nessa politomia.

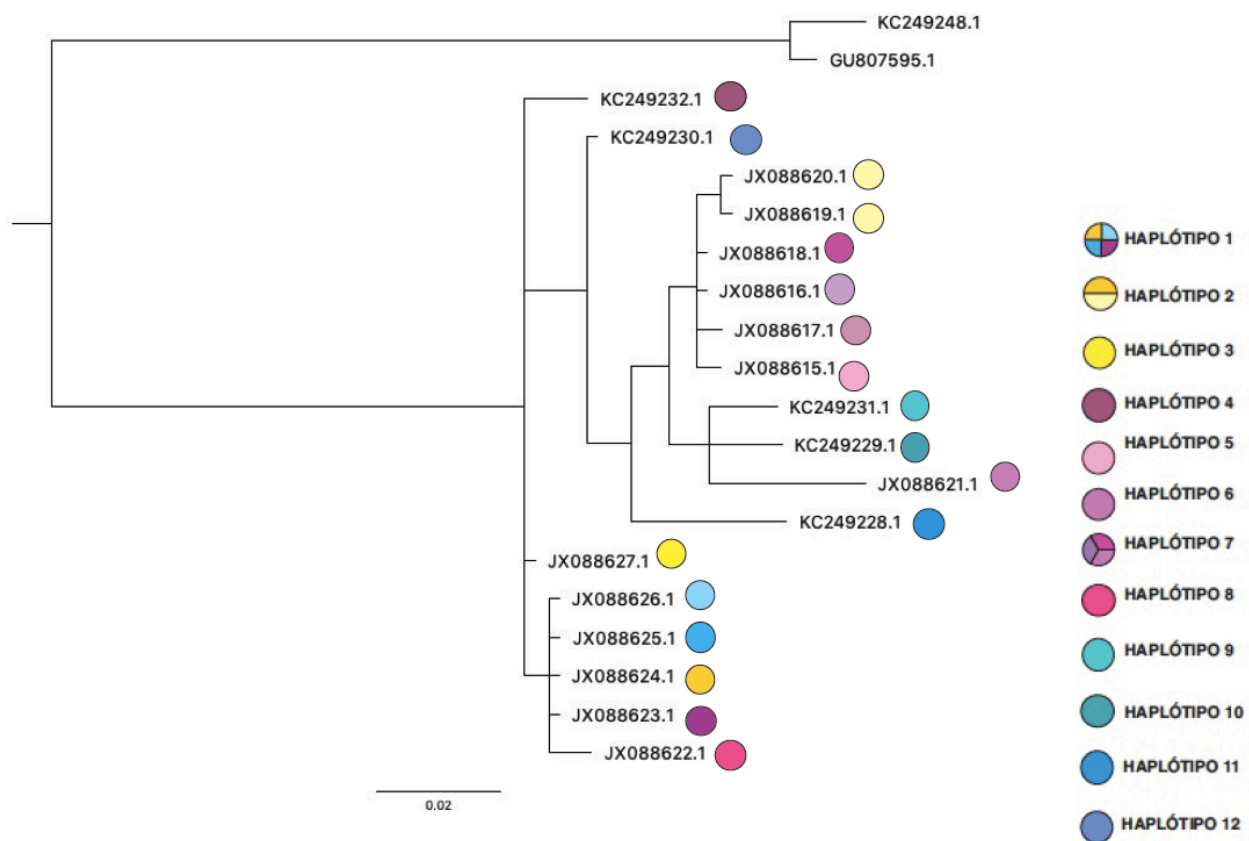


Figura 4. Árvore de Inferência Bayesiana construída a partir das sequências de Cytb. Os círculos coloridos são correspondentes às cores dos haplótipos de cada localidade.

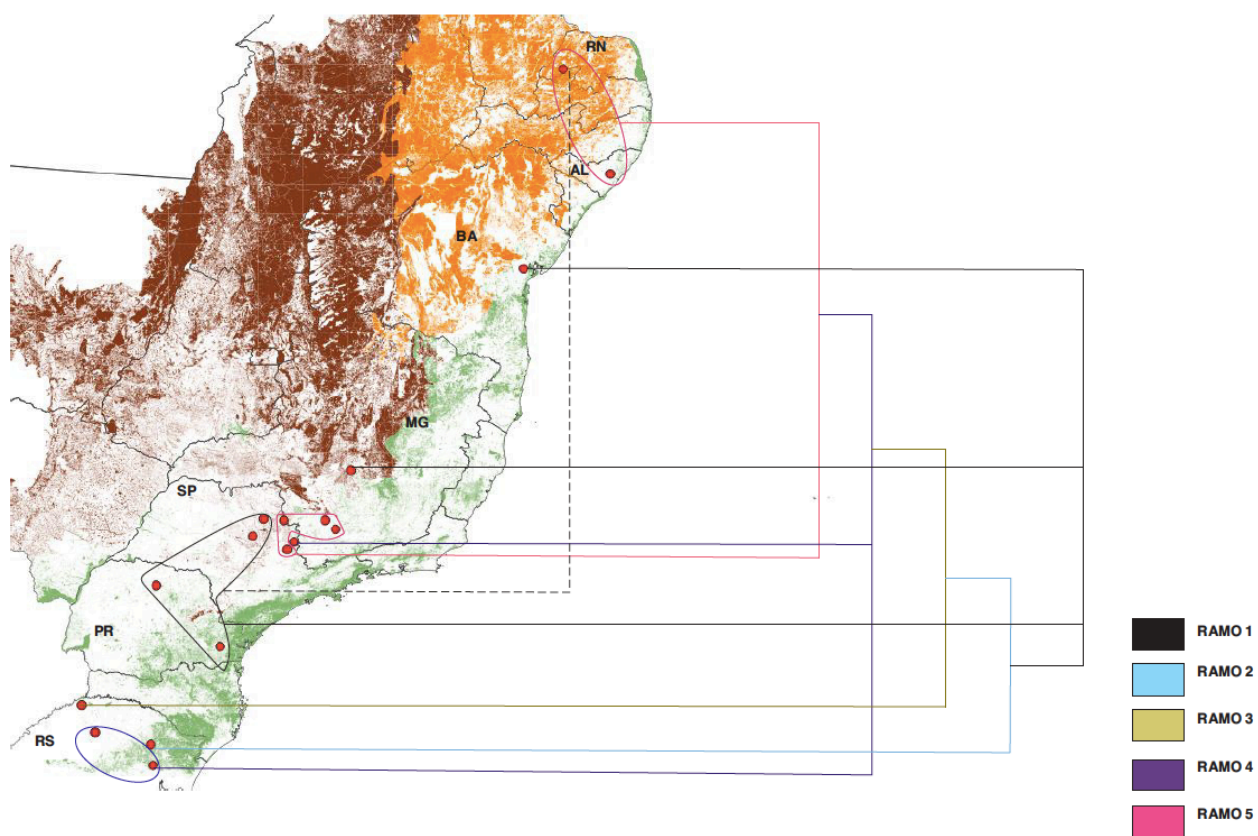
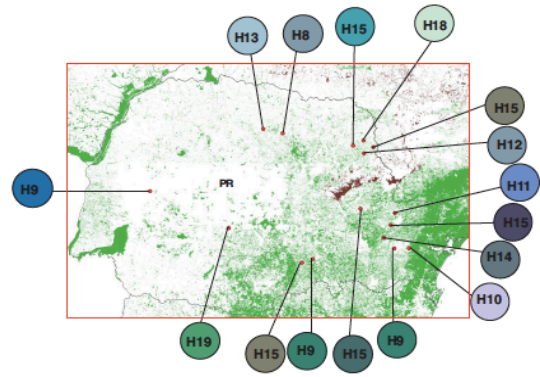
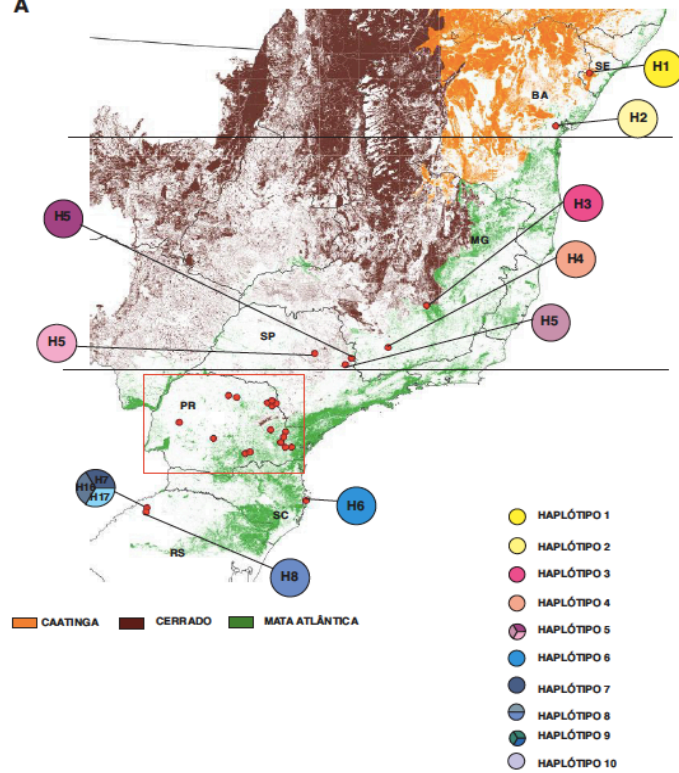


Figura 5. Padrão filogeográfico de *P. megistus* a partir das sequências de Cytb. As cores dos ramos representam os agrupamentos formados na filogenia.

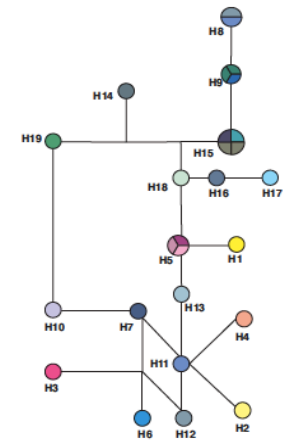
## SEQUÊNCIAS INTERGÊNICAS DE rDNA

Foram encontrados 19 haplótipos a partir das 26 amostras analisadas (Figura 6). A maioria dos haplótipos eram exclusivos das localidades de origem, assim como as amostras de Cytb, sendo que somente quatro (H5, H8, H9 e H15) eram compartilhados entre diferentes localidades (Figura 7). Os haplótipos H4 e H3 foram exclusivos de amostras de Minas Gerais; H6 foi exclusivo da sequência de Santa Catarina; H2 foi exclusivo da sequência da Bahia; H1 foi exclusivo da sequência de Sergipe; H10, H11, H12, H13, H14, H18 e H19 foram exclusivos de amostras do Paraná; e H7, H16 e H17 foram exclusivos de sequências de Santa Rosa (RS). O haplótipo H5 foi compartilhado pelas amostras de São Paulo e Piraquara (PR). Esse haplótipo apresentou três conexões com os haplótipos H1, H13 e H18, respectivamente. O haplótipo H8 foi compartilhado por Londrina (PR) e Senador Salgado Filho (RS), e apresentou uma conexão com o haplótipo H9. O haplótipo 9 foi compartilhado com três amostras do Paraná, apresentado duas conexões com os haplótipos H8 e H15, respectivamente. O haplótipo H15 foi o que apresentou um compartilhamento com o maior número de populações. Foi compartilhado com quatro sequências de diferentes localidades do Paraná. Quanto aos índices de diversidade entre as populações, o índice de diversidade haplotípica ( $H_d$ ) foi de 0.966 e a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) foi de 0.00377.

A



B



Assim como no caso de Cytb, a árvore filogenética de Inferência Bayesiana também resultou em politomias (Figuras 7 e 8). Houve a formação de um pequeno clado contendo duas sequências de Santa Rosa (RS) e uma grande politomia compreendendo as demais sequências. Dentro dessa politomia é possível observar que as sequências do Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo ficaram mais próximas na filogenia. Foi possível observar a formação de um pequeno clado com as sequências de Goioxim e Palmitópolis, ambas do Paraná. Além disso, pode-se observar a formação de um clado com a sequência de Campo Magro (PR) e uma politomia contendo sete amostras do Paraná e uma do Rio Grande do Sul. Essa sequência do Rio Grande do Sul, Senador Salgado Filho, formou um pequeno clado com a de Londrina (PR).

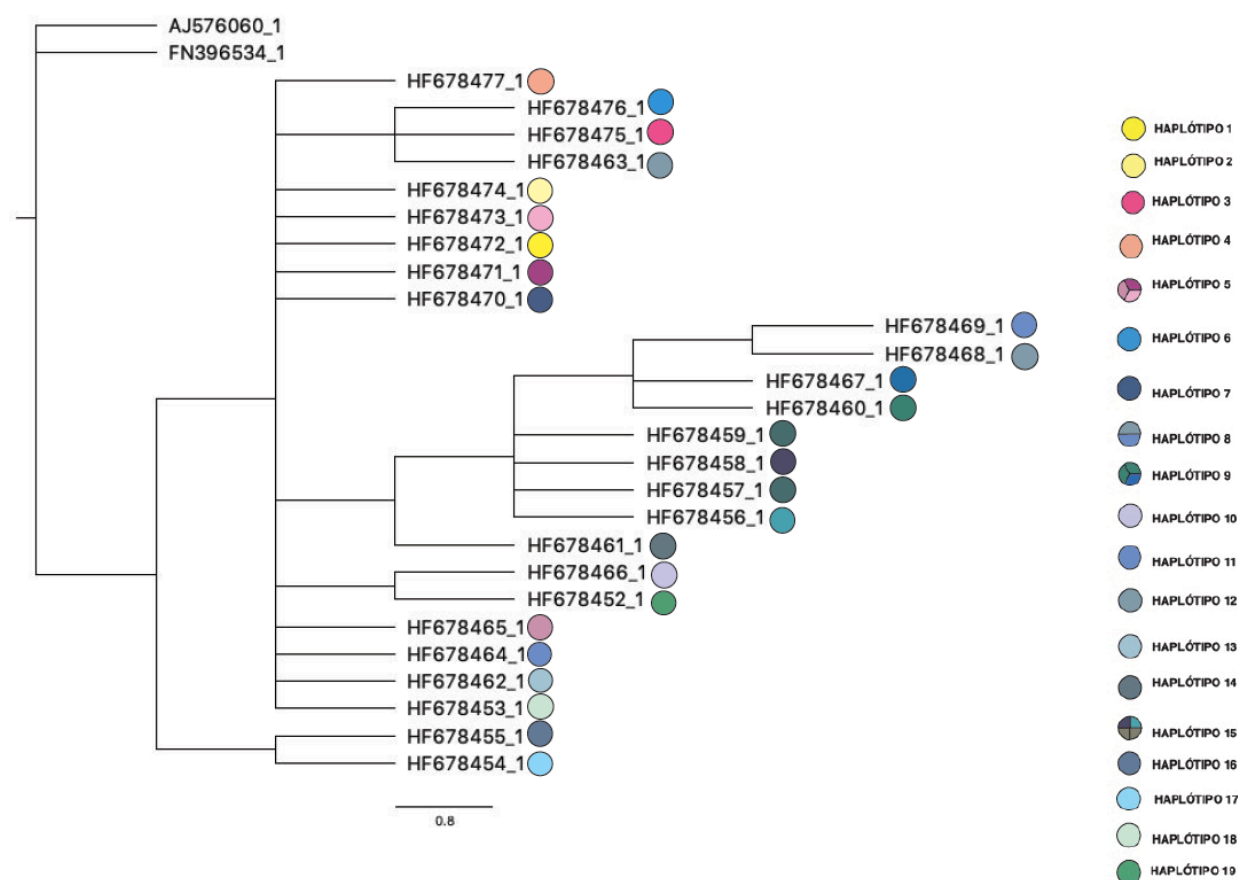


Figura 7. Árvore de Inferência Bayesiana construída a partir das sequências intergênicas de rDNA. Os círculos coloridos são correspondentes às cores dos haplótipos de cada localidade.



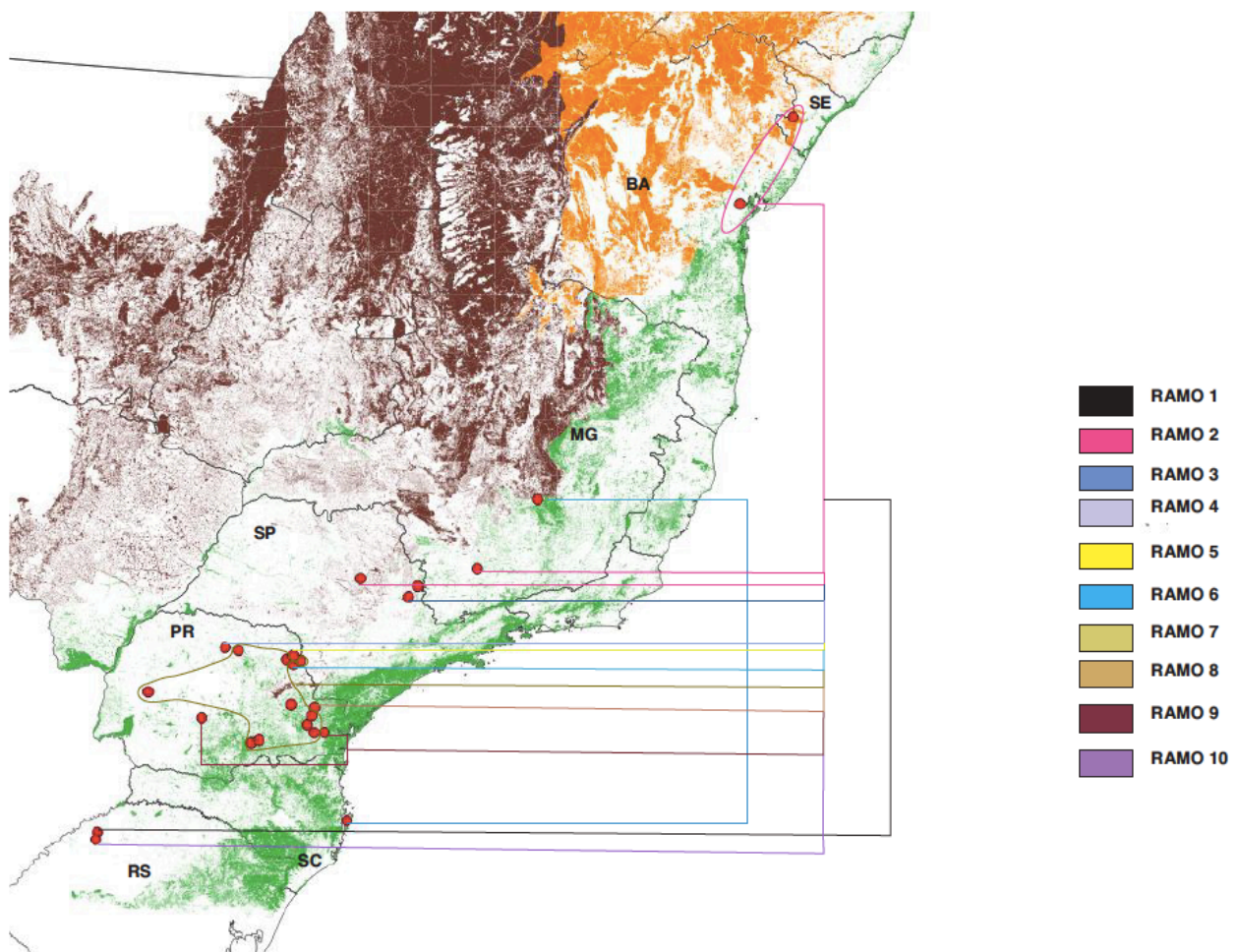


Figura 8. Padrão filogeográfico de *P. megistus* a partir das sequências de rDNA. As cores dos ramos representam os agrupamentos formados na filogenia.

## DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO POPULACIONAL

### CITOCROMO B OXIDASE (Cytb)

A AMOVA mostrou que 71,38% da variância dos dados ocorreu devido às diferenças dentro dos grupos e 28,62%, entre os grupos. Em relação aos valores de  $F_{st}$ , o valor encontrado para o Grupo 1 em relação ao Grupo 2 foi  $-0.11048$  ( $P>0,05$ ), o que não indica uma diferença significativa. Quanto ao Grupo 2 em relação ao Grupo 3, o valor de  $F_{st}$  foi de  $0.036802$  ( $P>0,05$ ), um valor baixo, indicando também que não há diferença significativa. Já no caso do Grupo 1 em relação ao Grupo 3, o valor foi de  $0.030314$  ( $P>0,05$ ).

O teste de Mantel não indica que há uma relação significativa entre a distância genética e geográfica entre todos os indivíduos. O valor do teste foi de  $0,0213$  ( $P>0,05$ ).

### SEQUÊNCIAS INTERGÊNICAS DE rDNA

Os valores de AMOVA foram negativos entre os grupos, indicando falta de estruturação. Em relação aos valores de  $F_{st}$ , o valor encontrado para o Grupo 1 em relação ao Grupo 2 foi de  $-0,16239$  ( $P>0,05$ ), o que não indica uma diferença significativa. Quanto ao grupo 1 em relação ao Grupo 3, o valor de  $F_{st}$  foi de  $0,00143$  ( $P>0,05$ ), um valor baixo, indicando também que há diferença significativa. Assim como, a relação do Grupo 2 com o Grupo 3, o que corresponde ao baixo valor de  $F_{st}$  de  $0,17041$  ( $P>0,05$ ).

Assim como aconteceu com Cytb, o teste de Mantel também não indica relação significativa entre a distância genética e geográfica entre os indivíduos amostrados. O valor do teste foi de  $-0,1475$  ( $P>0,05$ ).

## Discussão

---

As topologias das filogenias de ambos os marcadores moleculares apresentaram várias politomias, gerando incertezas sobre as relações entre os indivíduos de *P. megistus*. No caso da filogenia de Cytb, a formação de um clado com amostras de Rio Grande do Norte e Alagoas, associado a uma politomia com amostras do Sudeste, já havia sido observado em um estudo anterior (VENDRAMI *et al.*, 2014). Porém, uma das duas amostras do RN ficou distante desse agrupamento, associada a outras do Sudeste e Bahia. Já no caso da filogenia de sequências intergênicas de rDNA, houve o agrupamento de amostras do RS e SE, dentro de uma politomia formada por amostras de MG, SP, SC e PR, o que já havia sido observado em estudos anteriores (KOPP *et al.*, 2000; CAVASSIN *et al.*, 2014). A formação de clados e politomias por indivíduos tão distantes geograficamente indica que existe pouca diferença genética entre elas, sendo populações muito próximas geneticamente. Pela distribuição das populações nas filogenias parece não haver uma relação entre a diferença genética e geográfica das mesmas, o que não explica as diferenças na capacidade de domiciliação entre as populações da espécie.

Com relação aos haplótipos, houve um compartilhamento quanto os indivíduos mais próximos geograficamente, com características climáticas e biomas similares, no caso da rede de haplótipos de sequências intergênicas de rDNA. Como é o exemplo de quatro amostras do Paraná, compartilharem o mesmo haplótipo. No caso da rede de haplótipos do marcador Cytb, aconteceu o contrário. O haplótipo com maior abrangência foi compartilhado por indivíduos geograficamente distantes e distintos (PR, RN e SP). Em ambos os marcadores, as redes haplotípicas apresentaram pouco compartilhamento de haplótipos, indicando uma exclusividade haplotípica. Além disso, ambos os marcadores também apresentaram altos índices de diversidade haplotípica e baixos índices de diversidade nucleotídica, o que indica pouca diferença de nucleotídeos. Isso sugere que os indivíduos dessas localidades provêm de populações que podem ter sofrido uma expansão ou contração recente, efeito gargalo (DORN *et al.*, 2017). A baixa diversidade genética entre os grupos, assim como a baixa variância

genética entre eles, também não indica uma explicação genética para as diferentes formas de domiciliação da espécie. Ao testar a hipótese de isolamento por distância, utilizando o teste de Mantel, os resultados não evidenciam uma relação entre as distâncias genéticas e geográficas.

Em algumas espécies de triatomíneos, como *Triatoma maculata* e *Triatoma braziliensis*, já foram observadas diferenças genéticas entre populações domiciliadas, peridomiciliares e silvestres. BORGES *et al.* (2005) investigou a diversidade genética entre populações de *Triatoma braziliensis*, com diferentes capacidades de domiciliação, por meio de análise do poliformismo do DNA amplificado aleatoriamente (RAPD). Já GARCÍA-ALZATE *et al.* (2014) avaliou a dispersão de populações de *Triatoma maculata* através de ecótopos silvestres, peridomiciliares e domiciliados, utilizando análise filogenética por meio de Cytb e região do gene  $\beta$ -tubulina. Em ambos os estudos mostram uma diferença genética, porém a simplificação genética entre as populações (o que poderia justificar a domiciliação de algumas populações) não é evidente, visto que pode haver fluxo gênico entre as populações, que podem se deslocar entre habitats. Além disso, em um estudo de FITZPATRICK *et al.* (2008), utilizando análise filogenética por meio de Cytb e microssatélites, comprovou que populações silvestres de *Rhodnius prolixus* são capazes de colonizar o ambiente doméstico.

*Triatoma infestans* é considerada a espécie de maior importância epidemiológica com relação à doença de Chagas devido à sua alta capacidade de domiciliação. Assim como *P. megistus*, estudos já tentaram explicar filogeograficamente diferenças entre as populações silvestres e sinantrópicas de *T. infestans*. Em um estudo realizado com populações da Bolívia, utilizando análise filogenética por meio de microssatélites, foram encontradas diferenças genotípicas entre populações silvestres e domiciliadas (RICHER *et al.*, 2007). Já em outro estudo realizado com populações de alguns países sul-americanos, com a utilização de DNA mitocondrial Citocromo oxidase 1 (COI) como marcador molecular, populações silvestres e domiciliadas do Chile não se segregaram na reconstrução filogeográfica (TORREZ-PÉREZ *et al.*, 2011). Assim sendo, ainda não há um padrão filogeográfico conclusivo para explicar as diferentes capacidades de domiciliação dessa espécie, assim como é o caso de *P. megistus*.

Triatomíneos são altamente capazes de se adaptarem a alterações ambientais, principalmente as relacionadas à ação antrópica, e essa capacidade de adaptação é creditada à combinação de fatores genéticos e epigenéticos (FLORES-FERRER *et al.*, 2018). Fatores epigenéticos são considerados os principais determinantes de variação fenotípica não herdável e são sensíveis a qualquer tipo de estresse (i.e mudanças climáticas, inseticidas e pestes), acelerando respostas adaptativas dos organismos. Alterações epigenéticas induzidas por mudanças ambientais geram variação genética, levando à rápida adaptação a adversidades (REY *et al.*, 2016). Alguns estudos relacionam a resistência a inseticidas de populações silvestres de *T. infestans* a fatores genéticos, que levam ao aumento da variabilidade genética e, conseqüentemente, resistência de algumas populações (DEPICKÉRE *et al.*, 2012; PESSOA *et al.*, 2015).

A aparente falta de estrutura filogeográfica de *P. megistus* pode ser resultado de plasticidade fenotípica, que envolve respostas fenotípicas a diferentes condições ambientais em organismos geneticamente semelhantes (ZAMUDIO, BELL e MASON, 2016). Estudos já demonstraram que há diferenças morfológicas, métricas e, até mesmo, genéticas em espécies de triatomíneos em transição do hábito silvestre para domiciliado (DUJARDIN, PANZERA e SCHOFIELD, 1999). Em relação à *P. megistus*, um estudo já mostrou que diferentes populações possuem alterações morfológicas e fisiológicas entre si. Populações mais ao norte do país se desenvolvem mais rápido, as fêmeas são maiores e depositam mais ovos do que as populações da região sul do país (BARBOSA *et al.*, 2001). Essas diferenças entre as populações refletem as diferenças na capacidade de domiciliação das mesmas, visto que populações mais ao Norte são consideradas sinantrópicas e as populações do Sul, silvestres.

É notável a presença da espécie nas regiões de Mata Atlântica, visto que a maioria das amostras se encontravam nesse bioma. As demais amostras são de regiões de outros biomas, Cerrado e Caatinga, porém são localidades próximas a regiões de Mata Atlântica, podendo ser consideradas áreas de transição de biomas, como pode ser observado no caso das populações de SE e BA. São áreas de características morfoclimáticas bem similares, o que possibilitou a dispersão de *P. megistus* para essas regiões. *P. megistus* é uma espécie característica de regiões com alto nível de umidade, clima tropical e subtropical úmido, sendo a aridez considerada um fator limitante à sua

distribuição (ARAGÃO, 1961). A presença de espécimes de *P. megistus* nos domicílios em áreas mais áridas pode estar relacionada como um fator de fuga e abrigo em relação ao clima mais seco e quente. O fato de os domicílios servirem de abrigo às populações de triatomíneos é devido às características microclimáticas desse habitat, que o torna favorável para colonização dos barbeiros, como ocorre com *Triatoma brasiliensis*, por exemplo. Essa espécie é adaptada a climas secos e quentes, com baixa amplitude térmica. A invasão dessa espécie aos domicílios cearenses se deve ao fato de as fendas das paredes das casas possuírem parâmetros climáticos similares aos refúgios nos pedregulhos selvagens (LORENZO *et al.*, 2000).

A capacidade dos triatomíneos de invadir e colonizar domicílios pode ser considerada uma pré-adaptação de algumas espécies, como *P. megistus*, a esse ambiente (ARAGÃO, 1983). Em razão de alterações ambientais no seu habitat natural, os barbeiros invadem os domicílios em busca de condições mais favoráveis para sobrevivência e reprodução. Além de possuírem características microclimáticas favoráveis, como maior umidade e menor temperatura do que o ambiente externo, a presença de fonte alimentar também contribui para a domiciliação dos triatomíneos. No caso de *P. megistus*, sua presença em áreas com verão chuvoso e inverno seco apresenta domiciliação mais intensa, principalmente em regiões de domínio tropical atlântico (FORATTINI, 2006).

Barbosa *et al.* (2006) atribui a ocorrência da espécie nessa diversidade de ambientes a mudanças paleovegetais no Quaternário que levaram a expansão e retração da mata atlântica, formando pequenos “refúgios” da mesma em regiões de diferente vegetação original, o que favoreceu sua dispersão para locais mais distantes. Assim sendo, a espécie se dispersou por meio desses refúgios florestados a partir do seu centro de endemismo original (Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro), estabelecendo novas populações (FORATTINI, 2006). A capacidade de adaptação de *P. megistus* a regiões de condições morfoclimáticas adversas indica a resiliência da espécie e pode estar relacionada à sua capacidade de domiciliação. Além disso, deve-se levar em consideração a influência das mudanças climáticas recentes na distribuição das espécies. O aumento das temperaturas nas regiões de baixa latitude e longitude aumentam as taxas de sobrevivência, desenvolvimento e reprodução de parasitos e

vetores, como mosquitos e barbeiros (OSTFELD, 2009). Inclusive, pode-se aumentar as taxas de transmissão de doenças transmitidas por vetores, devido à migração deles para outras regiões, expandindo sua distribuição geográfica e se aproximando mais das populações humanas.

A divisão dos grupos foi similar à divisão proposta por Aragão (1961) em relação à capacidade de domiciliação da espécie de acordo com a região de ocorrência, com um agrupamento de populações da região sul do país (silvestres), um agrupamento de populações da região nordeste do país (sinantrópicas), além de um agrupamento com populações de regiões próximas ao estado de SP. Ao analisarmos a diversidade genética entre os grupos de populações de ambos os marcadores, eles apresentaram valores baixos, indicando pequena diferenciação genética entre as populações. O que corrobora com a hipótese de expansão recente das populações, a partir de uma população ancestral.

A ação antrópica também tem influência na capacidade de domiciliação devido à invasão humana aos ambientes silvestres, com o avanço do desmatamento e queimadas. Essas alterações causadas pelo homem acabam destruindo o habitat natural e limitando a fonte alimentar dessas espécies, obrigando algumas populações a procurarem outro ambiente favorável para se alimentarem e reproduzirem. A proximidade dos domicílios aos ecótopos silvestres permitiu à invasão dos barbeiros, em busca de habitats alternativos, e que chegam atraídos principalmente pela luz das casas. A presença de animais domésticos também é um fator importante para a formação de colônias no peridomicílio, em razão de ali haver fonte alimentar para os barbeiros (FORATTINI *et al.*, 1977). A redução dos ecótopos naturais da espécie reduz também a disponibilidade de hospedeiros vertebrados que são fonte alimentar dos barbeiros. Resquícios de vegetação, como palmeiras, próximos das casas podem se tornar refúgio de mamíferos, como gambás e ratos, que se proliferam em ambientes modificados pelo homem. As populações de barbeiros nas palmeiras se alimentam do sangue desses mamíferos e se expande até chegar ao seu limite de capacidade, o que leva os barbeiros a invadirem o peridomicílio, em busca de novas fontes alimentares (ABAD-FRANCH e MONTEIRO, 2007). A adaptação dessas populações ao ambiente domiciliar pode ter levado a um isolamento genético dessas populações em relação a

populações silvestres, o que poderia justificar uma diferença na capacidade de domiciliação entre essas populações, como no caso de *P. megistus*.

A dispersão dos triatomíneos para além dos seus centros de endemismo, como *P. megistus*, se deve à dispersão ativa dos mesmos e também por meio de dispersão passiva. A dispersão passiva é considerada um dos principais meios de dispersão dos barbeiros, principalmente em longas distâncias, e pode ocorrer em conjunto com a migração humana ou através de animais silvestres. Esse transporte “acidental” da espécie via migrações humanas pode ter se iniciado a milhares de anos, junto com tribos indígenas e continuado até os dias atuais. Sabe-se que a relação entre triatomíneos e humanos data de milhares de anos atrás, pelo menos há 4,5 mil anos no Brasil (LIMA *et al.*, 2008). Essa afirmação já foi comprovada por autópsias de múmias chilenas infectadas por *T. cruzi*, datadas do período pré-colombiano (ROTHHAMMER *et al.*, 1985). Essa relação está diretamente relacionada à invasão e adaptação de triatomíneos ao ambiente doméstico. Há hipóteses de que os barbeiros se tornaram adaptados aos domicílios por meio de animais silvestres, que invadiam plantações e acabavam sendo trazidos para as casas ou por meio de migrações humanas ao ambiente silvestre, que traziam barbeiros para os domicílios nas suas roupas, por exemplo (CORTEZ, MONTERIO e NOIREAU, 2010).

No caso de *P. megistus*, acredita-se que sua dispersão e domiciliação pode ter relação com o desmatamento da Mata Atlântica, considerada o centro de endemismo da espécie. Além disso, a construção de casas com baixa infraestrutura e saneamento básico, próximas às regiões desmatadas favoreceram a invasão desses ambientes pelos barbeiros (FORATTINI, 2006). Fatores socioeconômicos também possuem influência na invasão de ecótopos artificiais por espécies de triatomíneos, visto que a maioria dos domicílios próximos aos ecótopos naturais dos barbeiros possui condições precárias, casas mal construídas, como casas de pau a pique, evidenciando a baixa condição econômica dessas populações (SILVEIRA, 2000).

Alguns experimentos em galinheiros em uma região de São Paulo, não apresentaram formação de colônias de *P. megistus*. Possivelmente, por não apresentarem condições microclimáticas favoráveis para a espécie (FORATTINI *et al.*, 1977; FORATTINI *et al.*,



1983). No estado do Espírito Santo já houveram tentativas de formar colônias a partir de espécimes silvestres da espécie, porém não obtiveram sucesso. Apesar de ser uma espécie constantemente encontrada nos domicílios, não demonstra capacidade de formar colônias nas regiões desse estado (dados não publicados).

Outros estudos realizados anteriormente já tentaram correlacionar a distribuição genética e geográfica das populações de *P. megistus*, sem chegar a resultados muito conclusivos. Este trabalho, no entanto, realizou uma análise filogeográfica mais profunda e abrangente com os dados disponíveis para compreender como os padrões filogeográficos da espécie se correlacionam com suas diferentes capacidades de domiciliação. Neste estudo foram realizadas análises filogeográficas com dois marcadores moleculares e maior número de populações de diferentes localidades. Para a análise filogenética, foi utilizado o método de Inferência Bayesiana, que tem sido bastante aplicado em estudos filogeográficos atualmente. Além disso, foi realizado o teste de Mantel buscando correlacionar as distâncias genéticas e geográficas, de modo a testar a hipótese de isolamento por distância.

O fato de não ter encontrado um padrão filogeográfico para justificar as diferentes capacidades de *P. megistus* pode estar relacionado aos marcadores moleculares utilizados na análise. Apesar de Cytb ser amplamente utilizado em análises filogenéticas, é um marcador com baixa taxa de mutação, o que pode explicar a baixa diversidade genética encontrada para a espécie (GARCÍA *et al.*, 2013). Além disso, a utilização de sequências intergênicas de rDNA como marcador, também não se mostrou tão eficaz como esperado para estudar a diversidade intraespecífica na espécie. A utilização de marcadores moleculares com taxas de mutação maiores e profundidade temporal compatíveis com a espécie, como microssatélites, podem levar a resultados mais conclusivos.

Uma hipótese filogeográfica para explicar a distribuição genética e geográfica das populações de *P. megistus* seria que uma população ancestral da espécie originária da Mata Atlântica, se expandiu e migrou, utilizando os corredores de Mata Atlântica formados durante o período de glaciação do quaternário, até chegar em regiões mais distantes, estabelecendo-se e formando outras populações nessas áreas. Além disso,

essa migração teve influência antrópica, em conjunto com as migrações humanas para as diversas partes do Brasil, o que justifica o registro de ocorrência dessa espécie em locais tão distantes do seu centro de endemismo, mata atlântica. As ações antrópicas no ambiente, levando a mudanças ambientais drásticas no ecótopo silvestre dessa espécie, aparentemente tiveram papel fundamental para o desenvolvimento da capacidade de domiciliação de algumas populações da espécie em algumas regiões do país. Tendo em vista que o ambiente doméstico serve como um abrigo de condições microclimáticas favoráveis para essas populações, que “fogem” do clima mais seco e quente provocado pelas alterações ambientais causadas pelo homem.

## Conclusão

---

As análises realizadas neste estudo não apontam uma explicação genética para a diferença na capacidade de domiciliação de *P. megistus*. As árvores filogenéticas não apresentaram uma relação filogenética conclusiva entre as populações de diferentes localidades. As redes de haplótipos apresentaram muitos haplótipos exclusivos e pouco compartilhamento de haplótipos entre as diferentes populações, o que pode ser justificado por uma recente expansão populacional a partir de uma população ancestral. As análises de estrutura populacional indicaram baixa diversidade e variância genética entre as populações. Ao testar a hipótese de isolamento por distância, por meio do teste de Mantel, não se obteve relação entre as distâncias genéticas e geográficas. Assim sendo, não se observou um padrão filogeográfico para explicar as diferenças na capacidade de domiciliação de *P. megistus*.

A dispersão ativa e passiva da espécie permitiu que ela se expandisse além da sua distribuição original, Mata Atlântica. Em detrimento disso, sua presença em locais com características ambientais distintas a que a espécie estava habituada, levou algumas populações a invadirem os domicílios e se adaptarem a eles, se separando das populações silvestres, principalmente nas regiões mais ao norte do país. Além disso, o desmatamento causado por ações antrópicas também influenciou na domiciliação de algumas populações da espécie, que, em razão da destruição do seu hábitat natural, invadiram e se adaptaram aos domicílios devido as características microclimáticas favoráveis dos mesmos e presença de fonte alimentar, representada pelos animais domésticos e pelas próprias pessoas.

Por ser um estudo que utilizou dados secundários, não se obteve a quantidade de amostras desejadas inicialmente, devido à baixa disponibilidade das sequências disponíveis para a espécie e para os triatomíneos, em geral. Novos estudos com utilização de mais marcadores moleculares e maior número de amostras possibilitarão entender melhor a filogeografia de *P. megistus* e relacioná-la com as capacidades de domiciliação da espécie. Além disso, outros estudos analisando as fontes alimentares e

graus de antropofilia de diferentes populações da espécie podem testar a hipótese proposta por Aragão (1983), de que a presença de fontes alimentares nos domicílios é um dos fatores responsáveis para promover a colonização desses ambientes pelos barbeiros. Nesse contexto, outras abordagens utilizando modelos de dinâmica populacional, analisando variáveis como: abundância, dispersão, fertilidade e sobrevivência das populações da espécie, podem ajudar a explicar as diferentes capacidades de domiciliação das populações de *P. megistus*. Ademais, tais estudos fornecerão informações epidemiológicas importantes para o combate à transmissão vetorial da doença de Chagas.

## Referências Bibliográficas

---

ABAD-FRANCH, F., MONTEIRO, F. A. Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae): implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, supl. 1, p. 57-70, Oct. 2007.

ALMEIDA, C. E., LIMA, M. M., COSTA, J. Ecologia dos vetores. In: GALVÃO, C., org. Vetores da doença de chagas no Brasil [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, pp. 210- 235. Zoologia: guias e manuais de identificação series.

ARBOGAST, B. S, KENAGY, G. J. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. **Journal of Biogeography**, v. 28, p. 819–825, 2001.

ARAGÃO, M. B. Aspectos climáticos da doença de Chagas. II — Área de ocorrência do *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835). **Rev. bras.Malar.**, v.13, p.171-93, 1961.

ARAGAO, Mario B. Domiciliação de triatomíneos ou pré-adaptação à antropofilia e à ornitofilia?. **Rev. Saúde Pública, São Paulo**, v. 17, n. 1, p. 51-55, Feb. 1983.

AVISE, J. C. *et al.* Intraspecific Phylogeography : The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics Source. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 489–522, 1987.

AVISE, J. Phylogeography. The history and formation of species. **Harvard University Press**. 2000.

AYALA, J. M., MATTEI, R., MATTEI, R. Descripción de la hembra de *Panstrongylus martinezorum* Ayala, 2009 (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) con comentarios sobre la distribución geográfica de la especie en el estado Amazonas, Venezuela. **Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa**, v. 54, p. 383–389, 2014.

BARBOSA, S. E. *et al.* Variability of the salivary proteins of 20 Brazilian populations of

*Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Acta Tropica** v. 92, n. 1, p. 25–33, 2004.

BARBOSA, S. E. *et al.* Experimental Evidence for a Demographic Cline in *Panstrongylus megistus* Populations. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** v. 96, n. 6, p. 773–775, 2001.

BARBOSA, S. E. *et al.* Interpopulation variability among *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae) from Brazil. **Journal of Medical Entomology** v. 40, n. 4, p. 411–420, 2003.

BARGUES, M. D. *et al.* Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. **Infection, Genetics and Evolution** v. 6, n. 1, p. 46–62, 2006.

BORGES, E. C., *et al.* Dynamic between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) at the municipality of Independência, northeastern Brazil. **Acta Trop**, v. 93, p.119-126, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças de Chagas Aguda e distribuição espacial dos triatomíneos de importância epidemiológica. Boletim epidemiológico, Brasília, DF, v. 50, n. 2, p. 1-0, 2019.

CAVASSIN, F. B. *et al.* Genetic Variability and Geographical Diversity of the Main Chagas' Disease Vector *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Triatominae) in Brazil Based on Ribosomal DNA Intergenic Sequences. **Journal of Medical Entomology** v. 51, n. 3, p. 616–628, 2014.

CORTEZ, M. R., MONTEIRO, F. A., NOIREAU, F. New insights on the spread of *Triatoma infestans* from Bolivia - Implications for Chagas disease emergence in the Southern Cone. **Infect Genet Evol**, v.10, p. 350–353, 2010.

DEPICKERE, S. *et al.* Susceptibility and resistance to deltamethrin of wild and domestic populations of *Triatoma infestans* (Reduviidae: Triatominae) in Bolivia: new

discoveries. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 8, p. 1042-1047, Dec. 2012.

DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C.; SCHOFIELD, C. J. The Impact of Chagas Disease Control in Latin America - A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro**, v. 97, n. 5, p. 603–612, 2002.

DINIZ-FILHO, J. A. F. *et al.* Mantel test in population genetics. **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 4, p. 475–485, 2013.

DORN, P. L. *et al.* The diversity of the Chagas parasite, *Trypanosoma cruzi*, infecting the main Central American vector, *Triatoma dimidiata*, from Mexico to Colombia. **PLoS Negl. Trop. Dis**, v.11, e0005878, 2017.

DOS SANTOS SOUZA, E. *et al.* Description of *Rhodnius marabaensis* sp. n. (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from Pará State, Brazil. **ZooKeys**, v. 621, p. 45–62, 2016.

DUJARDIN, J. P., PANZERA, P., SCHOFIELD, C. J. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, supl. 1, p. 223-228, Sept. 1999.

FITZPATRICK, S. *et al.* Molecular genetics reveal that silvatic *Rhodnius prolixus* do colonize rural houses. **Plos Negl Trop Dis**, v. 2, e210, 2008.

FLORES-FERRER, A. *et al.* Evolutionary ecology of Chagas disease; what do we know and what do we need? **Evol Appl**, v. 11, p. 470–487, 2018.

FORATTINI, O. P. *et al.* Aspectos ecológicos da Tripanossomíase americana: VIII - Domiciliação de *Panstrongylus megistus* e sua presença extradomiciliar. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 73-86, Mar. 1977.

FORATTINI, O. P. *et al.* Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana: X - Dados populacionais das colônias de *Panstrongylus megistus* e de *Triatoma sordida*

espontaneamente desenvolvidas em ecótopos artificiais. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo , v. 11, n. 3, p. 362-374, Sept. 1977 .

FORATTINI, O. P. *et al* . Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana: XVI - dispersão e ciclos anuais de colônias de *Triatoma sordida* e de *Panstrongylus megistus* espontaneamente desenvolvidas em ecótopos artificiais. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo , v. 13, n. 4, p. 299-313, Dec. 1979.

FORATTINI, O. P. *et al*. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana: XIX - desenvolvimento da domiciliação triatomínea regional, em centro de endemismo de *Panstrongylus megistus*. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo , v. 17, n. 6, p. 436-460, dez. 1983.

FORATTINI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo , v. 40, n. 6, p. 964-998, Dec. 2006.

GALVÃO, C., DE PAULA, A. S. Sistemática e evolução dos vetores. In: Galvão, C. Vetores da doença de chagas no Brasil. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, p. 26-32. 2014.

GARCÍA, B.A. *et al*. Molecular Population Genetics and Evolution of the Chagas' Disease Vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Curr. Genomics**, v.14, p. 316-323, 2013.

GARCÍA-ALZATE, R. *et al*. *Triatoma maculata*, the vector of *Trypanosoma cruzi*, in Venezuela. Phenotypic and genotypic variability as potential indicator of vector displacement into the domestic habitat. **Front Public Health**, v. 2, p.170, 2014.

HUELSENBECK, J. P., RONQUIST, F. Bayesian Analysis of Molecular Evolution using MrBayes. **Statistical Methods in Molecular Evolution**, p. 1–53, 1997.

JUSTI, A. S., GALVÃO, C. The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. **Trends Parasitology**, v. 33, n.1, p. 42–52, 2017.

KOPP, R. L. *et al*. Phenetic analysis of *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835



(Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in the state of paraná-Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 52, n. 2, p. 349–357, 2009.

LEITE DIAS, J. V. *et al.* Spatial distribution of triatomines in domiciles of an urban area of the Brazilian Southeast region. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** v. 111, n. 1, p. 43–50, 2016.

LEITE, G. R.; DOS SANTOS, C. B.; FALQUETO, A. Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest. **Journal of Biogeography** v. 38, n. 4, p. 651–663, 2011.

LIBRADO, P., ROZAS, J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451–1452, 2009.

LIMA, V. S. *et al.* Chagas disease in ancient hunter-gatherer population, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v.14, p.1001–1002, 2008.

LORENZO, M. G. *et al.* Aspectos microclimáticos del hábitat de *Triatoma brasiliensis*. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, supl. 2, p. S69-S74, 2000.

MAGALHÃES-SANTOS, I. F. Transmissão oral da doença de Chagas: breve revisão. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, v. 13, n.2, p. 226-235, 2014.

MENDONÇA, V. J. *et al.* Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (Hemiptera: Reduviidae:Triatominae) inferred from two mitochondrial genes suggests its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v. 81, n. 5, p. 858–864, 2009.

OSTFELD, R. S. Climate change and the distribution and intensity of infectious diseases. *Ecology*, v. 90, n. 4, p. 903–905, 2009.

PATTERSON, J. S.; BARBOSA, S. E.; FELICIANGELI, M. D. On the genus *Panstrongylus* Berg 1879 : Evolution, ecology and epidemiological significance. **Acta Tropica**, v. 110, p. 187–199, 2009.

PEREIRA, J. M. *et al.* Climatic factors influencing triatomine occurrence in Central-West

Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** v. 108, p. 335–341, 2013.

PESSOA, G. C. D. *et al.* History of insecticide resistance of Triatominae vectors. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 48, n. 4, p. 380-389, Aug. 2015.

PICCINALI, R. V. *et al.* Molecular Population Genetics and Phylogeography of the Chagas Disease Vector *Triatoma infestans* in South America. **Journal of Medical Entomology** v. 46, n. 4, p. 796–809, 2009.

REY, O. *et al.* Adaptation to global change: a transposable element–epigenetics perspective. **Trends Ecol. Evol.**, v. 31, p. 514–526, 2016.

RIBEIRO, A. R. *et al.* Trypanosoma cruzi isolated from a triatomine found in one of the biggest metropolitan areas of Latin America. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 49, n. 2, p. 183-189, Apr. 2016 .

RIBEIRO CASTRO, M. A. L. *et al.* First report of Panstrongylus megistus (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the State of Acre and Rondônia, Amazon, Brazil. **Acta Tropica** v. 182, p. 158–160, 2018.

RICHER, W. *et al.* Active dispersal by wild *Triatoma infestans* in the Bolivian Andes. **Trop Med Int Health**, v. 12, p. 759–764, 2007.

ROSA, J. A.; JUSTINO, H. H. G.; BARATA, J. M. S. Diferença no tamanho de cascas de ovos de colônias de Panstrongylus megistus. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo , v. 37, n. 4, p. 528-530, Aug. 2003 .

ROTHHAMMER, F. *et al.* Chagas' disease in pre-Columbian South America. **Am J Phys Anthropol**, v.68, p. 495-498, 1985.

SCHOFIELD, C. J., DIOTAIUTI, L., DUJARDIN, J. P. The process of domestication in triatominae. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro , v. 94, supl. 1, p. 375-378, Sept. 1999.

SILVEIRA, A. C. Current situation with Chagas disease vector control in the Americas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. 35–42, 2000.

TORRES-PÉREZ, F. *et al.* Statistical phylogeography of Chagas disease vector *Triatoma infestans*: testing biogeographic hypotheses of dispersal. **Infect Genet Evol**, v.11,p. 167–174, 2011.

TURCHETTO-ZOLET, A. C. *et al.* Guia prático para estudos filogeográficos. p. 105, 2013.

VENDRAMI, D. P., JUNIOR, W. C., MARRELLI, M. T. Analysis of mitochondrial cytochrome B oxidase gene suggests passive dispersal of the *Panstrongylus megistus* population in Brazil. **Journal of vector ecology: journal of the Society for Vector Ecology** v. 39, n. 2, p. 441–444 , 2014.

WHO (World Health Organization). Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. **WHO: technical report of the TDR Disease Reference Group on Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis and Leishmaniasis**. Geneva: World Health Organization; 2012.

WHO (World Health Organization). Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em <<https://www.who.int/chagas/disease/en/>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

ZAMUDIO, K. R., BELL, R. C., MASON, N. A. Phenotypes in phylogeography: Species' traits, environmental variation, and vertebrate diversification. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 113, p.8041–8048, 2016.