

Proc. 292/80

JOSIMAR RIBEIRO DE ALMEIDA



CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL ELETROFORÉTICO DE ISOENZIMAS DO
METABOLISMO INTERMEDIÁRIO DE TRIATOMÍNEOS (HEMIPTERA, RH
DUVIIDAE) COM ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE SUA ECOLOGIA
ALIMENTAR

Dissertação apresentada à Coordenação de
Pós-Graduação em Biologia da Universidade
Federal do Rio de Janeiro, para a obtenção
do grau de Mestre em Zoologia.

Rio de Janeiro

1980

Ao
Prof. Johann Becker
pelo estímulo e
constante orientaçāc

/

a Sueley, Marina, Wanda e João

ABREVIACÕES

AcPh	-	Fosfatase Acida
ADH	-	Álcool Desidrogenase
AiPh	-	Fosfatase Alcalina
ADN	-	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	--	Ácido Etilenodiamino Tetracético
EST	-	Esterase
GAL.DH	-	Galactose Desidrogenase
GOT	-	Transaminase Glutamica Oxalo-Acética
IPO	-	Indofenol Oxidase
LAP	-	Leucyl Amino Peptidase
ME	-	Mobilidade Eletroforética
MDH	-	Desidrogenase Málica
NBT	-	Nitro Blue Tetrazolium
NAD	-	Niacina Adenina Dinucleotídeo
ODH	-	Octanol Desidrogenase
PVP	-	Polyvinylpyrrolidone
SOR.DH	-	Sorbital Desidrogenase
TRIS	-	Tris (Hidroximetil)-Aminometano

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram, de alguma forma, à realização deste trabalho:

ao Dr. Woodruff W. Benson, a quem devo minha iniciação em pesquisa científica, e muito deste trabalho;

ao Prof. Ricardo Iglesias Rios, pelo estímulo recebido durante o curso de graduação;

aos Departamentos de Bioquímica e Genética da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por terem facilitado recursos materiais;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de Aperfeiçoamento e Pós-Graduação;

ao Departamento de Biologia da Universidade de São Paulo, nas pessoas do Dr. André Luiz Paranhos Perondini e Dra. Lyria Mori pela orientação nas técnicas de eletroforese.

ao Instituto Oswaldo Cruz, na pessoa do Prof. José Ju
berg e ao Instituto Nacional de Endemias Rurais, na pessoa da
Dra. Alina Perlowagora Szumlewicz por terem cedido os triaromi
neos.

a todo corpo docente do curso de Pós-Graduação em
Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial
aos Profs.: Ana Timotheo, Hugo de Souza Lopes, Isolda Rocha e
Silva, Janira M. Costa, José Juberg, Luiz Soledad Otero, Newton
D. Santos e Roger Arlé, pelo que contribuíram para a minha for
mação;

ao Prof. José Dias Vilhena, amigo inseparável, pelos
trabalhos fotográficos;

aos Profs. e companheiros, Paulo Cesar Cassino e Yo
shito Mizuguchi, da U.F.R.R.J.; pela leitura e sugestões à dis
sertação;

a Prof.^a Nylma Freire de Magalhães pela revisão de por
tuguês;

a Diva Monteiro da Silva pelos serviços de datilogra
fia;

aos parentes e amigos que souberam entender minha au
sência em função do trabalho.

Í N D I C E

I.	INTRODUÇÃO -----	1
II.	MATERIAL E MÉTODOS -----	17
	A. Material -----	17
	B. Métodos -----	19
III.	RESULTADOS -----	25
	Desidrogenase Octanólica -----	25
	Desidrogenase Alcóolica -----	26
	Galactose Desidrogenase -----	27
	Sorbital Desidrogenase -----	27
	Desidrogenase Málica -----	27
	Indofenol Oxidase -----	28
	Fosfatase Ácida -----	29
	Fosfatase Alcalina -----	29
	Transaminase Glutamica Oxaloacética -----	29
	Leucyl Amino Peptidase (old) -----	31
	Leucyl Amino Peptidase (new) -----	31

	Alfa e Beta Esterases -----	32
	Proteínas Gerais -----	34
IV.	DISCUSSÃO -----	36
V.	CONCLUSÃO -----	41
VI.	RESUMO -----	45
VII.	ABSTRACT -----	48
VIII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	50
IX.	APÊNDICE -----	74

I. INTRODUÇÃO

A condição primária para que espécies diferentes possam existir simpatricamente é a existência de diferenciação ecológica entre elas. Duas espécies não podem ocupar o mesmo nicho ecológico, ao mesmo tempo, na mesma área geográfica. Este processo de competição, provavelmente, é uma das forças mais importantes na história evolutiva das espécies, levando-as a um ajuste evolutivo, que permite a coexistência das mesmas (Princípio da exclusão competitiva; HARDIN, 1960).

A divergência entre espécies por meio de seleção natural, processo responsável pela remoção dos genes mal adaptados e difusão dos genes dos indivíduos mais aptos, é fundamentalmente um processo genético. Portanto, caracterizar o número e os tipos de variações genéticas existentes nas populações, é de alta importância, já que a capacidade adaptativa de uma população é grandemente influenciada pelo número e qualidade das variações genéticas de que dispõe. Consequentemente, a estrutura de uma população, bem como sua variabilidade

dade gênica, são fatores básicos para se entender o comportamento de tais populações em relação ao local que habitam (CHETVERIKOV, 1926; RABINOVICH, 1972) e, principalmente, para se interpretar as propensões a ocuparem ambientes modificados (BIRCH, 1970).

As espécies de Triatomíneos são geralmente consideradas, na bibliografia pertinente, como sendo domiciliares, peri-domiciliares e silvestres, de acordo com o local onde estejam vivendo (MACHADO, 1952; LOBO, 1954; DIAS, 1955 e LUCENA, 1956). As silvestres são, no sentido mais amplo do termo, espécies como *Rhodnius brethesi*, somente encontrado, em plena vida selvagem, em piassabais do Rio Negro (LENT, 1948), *Panstrongylus geniculatus* encontrado em tocas de tatu, *Triatoma rugulosa*, ocorrente em bromeliáceas e o *Rhodnius pictipes*, na Floresta Amazônica (PESSOA, 1962). Por sua vez, somente poucos exemplares de espécies domiciliares, como o *Triatoma infestans* e *Rhodnius prolixus*, são encontrados fora do ecótopo humano, mesmo assim nos seus arredores, de um certo modo, testemunhando a adaptação do ambiente natural ao nicho habitacional humano (TORREALBA, 1953; GAMBOA, 1961, 1963). Segundo LUCENA (1962), "ao lado dos estados silvestres e domiciliares, em que as espécies, vivem, nutrem-se e reproduzem-se, respectivamente, na natureza e na habitação humana; observam-se outras modalidades adaptativas caracterizadas pela ocorrência esporádica e exclusiva de formas aladas no domicílio, e pela ocorrência de formas aladas e larvas de modo abundante em estado silvestre. Esta seqüência

cia adaptativa é observada, por exemplo, em *Panstrongylus lutzi*, *Triatoma melanocephala*, *Triatoma vitticeps*, *Triatoma arthuri*, *Triatoma rubrovaria* e *Triatoma sordida*".

De acordo com PESSOA (1962), "Espécie estritamente doméstica, encontrada em toda área mesotermal da América, provavelmente o *T. infestans* foi a primeira espécie a adaptar-se à vivenda humana, desde a época em que os habitantes dos Andes se congregaram formando suas primeiras aldeias". Quanto ao *R. prolixus* e *P. megistus*, PESSOA (1962) admite ser, respectivamente, a primeira uma espécie essencialmente domiciliar e a segunda, uma espécie semi-domiciliar. Sendo encontrada somente em biótopos naturais na Ilha de Santa Catarina (LEAL, 1961), sómente em biótopos artificiais em Minas Gerais e Salvador (FREITAS, 1960) e, colonizando, numa mesma região, como no Nordeste brasileiro e em São Paulo, ora biótopos naturais, ora artificiais (CORREA, 1954 e ARAGÃO, 1961).

Para PESSOA (1962) "a politipia na distribuição geográfica de triatomíneos, suscita a divisão do território brasileiro em três regiões epidemiológicas de acordo com as diversas características ecológico-evolutivas das espécies: regiões em que ocorram apenas triatomíneos silvestres, regiões em que se encontram espécies silvestres e peri-domiciliares, e, regiões nas quais hajam os três tipos adaptativos".

Retomando o caso do *P. megistus*, cita BARRETO (1963, 1964b) que as raças ecológicas adaptadas à vida silvestre ocupam a parte sul do país; enquanto raças ecológicas adaptadas

às habitações humanas ocorrem no Nordeste e Centro do Brasil, e na região Centro-Leste encontram-se as raças peri-domiciliares.

Segundo PESSOA (1974), o "Fenômeno da Domiciliação" em Triatomíneos é explicado pelo fato de certas populações destes hemípteros terem apresentado mutações, algumas seletivamente favoráveis à infestação dos domicílios humanos em que havia condições ecológicas propícias a este processo (nicho e habitat vazios, microclima adequado, proteção contra a irradiação solar e umidade excessiva durante as chuvas, e também da dessecação do sol à pino). É possível que este "comportamento invasivo" seja devido ao desenvolvimento, de origem genética, de estímulos de natureza olfativa, que os façam ser atraídos para um novo ambiente, cindindo a população em grupos relacionados com um hospedeiro particular. "Nas áreas em que a Tripanossomose americana se dissemina através de triatomíneos domiciliados, semi-domiciliados e silvestres, se eles pertencerem a raças ecológicas de uma mesma espécie, cindidas apenas espacialmente, e portanto, fazendo parte da mesma população, não será possível a erradicação destes hemípteros, exclusivamente pelo combate domiciliar. Isto porque haverá constante transferência de insetos peri-domiciliados e silvestres para o ecótopo humano, colonizando-o, assim que cessar o efeito do biocida aplicado" (PESSOA, 1974). Por exemplo "em zonas submetidas a tratamento antitriatomíneo, onde a desinsetização não alcançou a totalidade das casas (ficando dentro da área vivendas infeste).

tadas), observou-se a reinfestação das moradias tratadas cerca de 3 meses após a desinsetização" (PESSOA, 1962). Outro caso é a eliminação de populações domiciliares de *T. infestans* que está resultando inclusive na substituição por *T. sordida* (FORATTINI, 1971b). Mesmo porque a "eliminação ou desaparecimento do vetor principal ou hospedeiro intermediário ou de ambos em uma dada área geográfica de zoonose, não conduz necessariamente ao desaparecimento do foco. Já que outros hospedeiros e vetores vicariantes, alguns parapátricos, podem adquirir a infecção e mantê-la" (BARRETO, 1967c).

Um outro exemplo do "Fenômeno da Domiciliação" ocorreu com hemípteros do gênero *Cimex* sp., dos quais duas espécies domiciliaram-se provavelmente no final do último período glacial, quando o homem se refugiou em caverna, freqüentadas por morcegos e andorinhas. Enquanto outros cimicídeos apenas esporadicamente são encontrados nas habitações humanas; e, inclusive, alimentando-se do sangue humano. É o caso do *Cimex columbarius*, que vive em ninhos de pombos, e do *Haematosiphon inodora*, espécie que parasita galinha (PESSOA, 1962).

Sabendo-se que:

1. A comparação de espécies estreitamente relacionadas em termos de suas características biológicas é, principalmente, importante quando as várias populações envolvidas são simpátricas, aliás, fato comum entre os triatomíneos, possibilitando hipotetizações a respeito de estratégias adaptativas.

vas das diferentes espécies (JOHNSON, 1973).

2. "A distribuição de uma espécie animal depende das barreiras existentes aos meios de dispersão utilizados pela espécie e principalmente da sua adaptabilidade; porquanto a dispersão de uma espécie não ocorre em todas as direções com igual sucesso, assim como a própria capacidade de dispersão das espécies é desigual" (HESSE, 1951).

Concluímos que estes conhecimentos, em relação às populações de espécies de vetores de uma endemia da gravidade da Doença de Chagas no Brasil, são de alto valor e potencialmente podem representar subsídios para conhecimento do controle destes insetos.

No entanto, as adaptações nestas populações não têm sido interpretadas em termos de genes, provavelmente, dada a dificuldade que existia de se observar diferenças genéticas a este nível, entre espécies ou entre populações destas espécies. Com o desenvolvimento da técnica de eletroforese em gel de amido (SMITHIES, 1955; POULIK, 1957; OGITA, 1968; NERENBERG, 1969) e técnicas histoquímicas de coloração (McMANUS, 1960; GOMORI, 1967), isto tornou-se possível através da detecção de proteínas, produtos primários dos genes (GORDON, 1949; HUNTER & MARKERT, 1957; BIER, 1959; SHAW, 1969a).

As variações na mobilidade eletroforética das enzimas podem ser resultantes de alterações na carga elétrica e essas alterações, geralmente são oriundas de substituições, de

leções ou adições na seqüência de aminoácidos que constituem os polipeptídeos, que é determinada pelos codons dos genes estruturais, ou seja, quando existem dois alelos diferentes no mesmo locus, cada um (se a diferença não é redundante) resulta na produção de uma proteína com uma estrutura primária diferente. Se a diferença nucleotídica no DNA resulta numa diferença em carga elétrica na proteína, essa proteína terá uma taxa de migração diferente no gel eletroforético, e pode ser distinguida. Para substituições simples existe uma probabilidade em torno de 25% para se obter uma mudança de carga. Aquelas mutações redundantes não têm interesse direto, pelo fato das proteínas codificadas serem idênticas. Quando alelos resultam na produção de proteínas que diferem em vários aminoácidos, existe uma probabilidade, bem maior que 25%, da técnica de eletroforese poder separá-las (SHAW, 1969b).

As proteínas, estudadas desta maneira, não mostram dominância fenotípica, e o genótipo é correspondente ao fenótipo. Os loci gênicos são identificados em termos de taxas de migração das proteínas, e quando polimórficos (mais de um alelo segregando num locus), é usada a taxa de migração da forma proteica mais frequente (HUBBY, 1966; LEWONTIN, 1966).

Daí se estudar variabilidade genética ao nível de genes através do Método do Zimograma (WRIGHT, 1961; SHAW, 1969b; SMITH, 1970; BREWER, 1970, GOTTLIEB, 1971; BUSH, 1972; HOPKINSON, 1974).

Inclusive este método é utilizado na determinação

da distribuição de alguns compostos ou grupos de compostos relacionados entre espécies. Já que a presença de compostos idênticos ou muito afins, entre algumas espécies, pode ser interpretada como uma indicação filogenética e, quando características bioquímicas são usadas desta maneira, passam a ter significado próximo ao de caracteres morfológicos e, portanto, com aplicação em Taxonomia (MICHENER, 1957a,b; THROCKMORTON, 1962; WHITTAKER, 1962).

Um outro aspecto da ecologia de triatomíneos é que a crescente ocupação e exploração do ambiente pelo homem, modificando-o pode, algumas vezes, inadvertidamente, criar condições ecológicas favoráveis para a transmissão de doenças. Os focos naturais de infecção, como parte de uma biogeocenose, podem permanecer estáveis, sendo esta estabilidade condição necessária à existência daqueles focos. Todavia o equilíbrio ecológico pode, temporariamente ou definitivamente, ser destruído. E a redução ou desaparecimento de focos naturais pode também levar à substituição de zonas florestais equilibradas ecologicamente por um complexo de mosaicos de terras cultivadas, antropicamente transformados em pastagens. "No ambiente extra-domiciliar a vegetação densa não é favorável ao aumento populacional de Triatomíneos, provavelmente devido à competição que sobre elas exercem outras populações, principalmente as de predadores. Com as modificações em áreas abertas enseja a diminuição ou o desaparecimento desta competição, as espécies triatomínicas encontram nos ecótopos remanescentes

oportunidade para o aumento populacional, sendo ubiquistas, estas espécies são dotadas de valência ecológica que lhes permitem habitar amplas variedades de ecótopos" (FORATTINI, 1971a,b,c).

As alterações das características dos focos naturais podem também determinar o deslocamento de hospedeiros vertebrados e vetores para novas áreas indenes, com criação de novos focos, num processo de radiação adaptativa. Tendo como consequência um aumento na concentração de hospedeiros e vetores em áreas bioclimaticamente favoráveis, com formação de novas cadeias alimentares.

Alguns hospedeiros silvestres podem invadir os biótopos artificiais criados pelo homem (DIAS, 1942; DEANE, 1947; FERRIOLI, 1965; FUNAYAMA, 1973). Por exemplo, gambás do gênero *Didelphis*, que segundo indicações na bibliografia, constituem importante hospedeiro natural de *Trypanosoma cruzi* (BARRETO, 1967b,d; LENT, 1979), com freqüência invadem anexos das habitações humanas e nelas se instalaram. Ainda que temporariamente, passam, então, a servir como fonte de infecção a Triatomíneos, vetores sinantrópicos (BARRETO, 1964b; LENT, 1979). Deve-se atentar também para a capacidade de deslocamento dos Triatomíneos. Eles "deslocam-se entre ecótopos naturais e destes para as habitações humanas, neste último caso tratam-se especificamente das espécies domiciliadas. O exame de ecótopos artificiais representados por casa e anexos mostra nítida invasão por parte dos triatomíneos. Os anexos do ambiente domí-

liar, destinados aos animais domésticos, são facilmente colonizados por Triatomíneos, tais ambientes representam locais de concentração, a partir de focos extra-domiciliares. À semelhança do que se verificou para outros grupos de insetos, admite-se, por comprovação, a movimentação ativa dos Triatomíneos, à procura de ecótopos mais estáveis" (FORATTINI, 1969, 1971b,c,1972, 1974).

O poder invasivo sofre influência do estado alimentar, de modo que a intromissão em determinado biótopo está nas inter-relações de abrigo-distância-alimento, em *R. prolixus*, por exemplo, as palmeiras fornecem abrigo adequado. Contudo, durante a estação seca, são escassos os vertebrados que freqüentam tais biótopos, o que faz diminuir consideravelmente a probabilidade de obter alimento. Daí o incremento da movimentação em direção aos ecótopos artificiais, onde as fontes alimentares são mais abundantes (GOMEZ-NUNEZ, 1969).

Os fatores de dispersão passiva são evidenciados no caso do transporte através de lenha colhida extra-domiciliarmente e levada para as habitações. As larvas de primeiros estádios podem ser transportadas entre as penas de pardais (*Passer domesticus*) que nidificam nos forros e telhados das casas onde ocorre a colonização do inseto. Este mecanismo garantiria a transferência de uma casa a outra. Quanto à dispersão ativa, a movimentação destes hemípteros não deve ser unicamente a locomoção sobre superfícies, mas também através de vôo, com auxílio de vento. Com o uso da técnica de marcação radio-

tiva (D'ASCOLI, 1966; GOMEZ-NUNEZ, 1963, 1969), foi comprovada a existência de dispersão própria por parte do *R. prolixus* e por técnica de colonização em ecótopo artificial FORATTINI (1971a) determinou, para *T. sordida* e *R. neglectus*, fenômeno semelhante. Também estudando "a mobilidade de *T. arthurneii* vai, em seus ecótopos naturais (anfractuosidades em granito róseo) associado alimentarmente a lagartos *Tropidurus torquatus* detectou a maior freqüência de deslocamento por parte dos adultos e ninfas de 4º e 5º instar" (FORATTINI, 1972).

O conhecimento da dinâmica populacional e das adaptações (principalmente no aspecto alimentar) destes vetores da Doença de Chagas é indispensável para um bom planejamento do manejo profilático em relação à transmissão da doença.

Os dados existentes para Triatomíneos, relativos à especialização para explorar recursos alimentares disponíveis, são muito limitados. Indicações da importância da fonte de sangue (tipo de hospedeiro) no desenvolvimento de *T. infestans* foram apresentados em estudos de MAYER (1955); CORREA (1962); JUAREZ (1970) e BRASILEIRO (1974). Estes autores demonstram que "o ecletismo alimentar destes insetos permite que qualquer animal homeotermo, e até mesmo animais de sangue frio, lhes sirvam de fonte de nutrição. Com o primeiro repasto regulando o tempo e a porcentagem das primeiras mudas, enquanto os repastos seguintes vão diminuindo de importância". "As durações totais de ciclos evolutivos de Triatomíneos alimentados em diferentes hospedeiros (galinha, gambá e cachorro), não diferiram

significativamente entre si" (CORREA, 1962).

Alguns perfis eletroforéticos e cromatográficos foram determinados por WIGGLESWORTH (1958); BENOIT (1959); SANDE (1960); TOLEDO (1969); CANDIDO (1977); CHANDELIER (1976, 1979) e MORETTI (1977). Entretanto, estes dados são isolados. Por outro lado, a biologia destes hemípteros, tem sido exaustivamente estudada por: NEIVA (1913, 1916, 1932, 1936, 1941); LARROUSE (1927); BUSTON (1932); URIBE (1926); WIGGLESWORTH (1940); NICOLE (1942); LWOFF (1945); NEGHME (1949); PELLEGRINO (1951); PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ (1953, 1968); ROMANA (1954); HACK (1955); GOODCHILD (1955); WYGODZINSKI (1955); PESSOA (1959); WOOD (1959, 1964); RYCKMAN (1962), PINTO DIAS (1965); DAVEY (1965); FRIEND (1965); HAYS (1965); ANDERSON (1968); DANILOV (1968); ZELEDON (1970); RABINOVICH (1972); BENSON (1975) e LENT (1979). Bem como a distribuição geográfica em algumas regiões citadas em BARRETO (1964a,b, 1966, 1968, 1969, 1971 e 1975); SEABRA (1943); MIRANDA (1943); COUTINHO (1952); LOPES DA SILVA (1954), JÖRG (1955); ARAGÃO (1955, 1956, 1961); BUSTAMANTE (1953, 1957); Di PRIMIO (1953, 1957); CARVALHO (1956, 1959); LUCENA (1957, 1958, 1959); SILVA (1964); COURA (1966); FORATTINI (1970) e LENT (1979). A respeito deste enfoque, os vários pesquisadores concordam que entre "os fatores climáticos que limitam a distribuição das espécies de Triatomíneos, figura a temperatura em primeiro lugar, seguida da umidade".

Segundo LUCENA (1962) "superpondo-se a distribuição de algumas espécies de Triatomíneos ao mapa isotérmico do Bra-

sil e analisando o quadro delineado, pode-se ter algumas conclusões:

1. Há espécies que suportam variações de temperatura muito amplas (menor que 16°C e maior que 26°C).

2. Outros Triatomíneos vivem sujeitos à temperaturas de menos amplitude, seja no sentido das máximas ou das minimas.

3. Um grupo numeroso desenvolve-se em temperatura mais estável, de amplitude inferior a 8°C.

4. As espécies viventes em temperaturas de maior amplitude são mais numerosas porque adaptaram-se a mais amplo espaço territorial (*P. megistus*, *T. sordida* e *T. infestans*). Ao contrário, a maioria das espécies limita-se a ambientes ecológicos restritos".

"Não se deve inferir que as isotermas necessariamente sejam causa exclusiva da distribuição das espécies, ela pode ser influenciada pela umidade e outros fatores" (LUCENA, 1962).

"A umidade extrema de 80% é compatível com o desenvolvimento da maioria das espécies. Se bem que se observe o afastamento dos Triatomíneos da orla marítima, onde a umidade relativa do ar é superior a 80%, ou a ocorrência de poucas espécies em baixo índice populacional. Algumas espécies ocupam, preferencialmente, a área em que a umidade não ultrapassa 70%.

É plenamente admissível que a umidade exerce uma ação limitante bastante acentuada sobre a distribuição dos Triatomíneos cujas espécies acomodam-se distintamente ao maior ou menor teor de vapor d'água no ar" (LUCENA, 1962).

"Os Triatomíneos, em geral, ocupam duas vastas e distintas áreas territoriais, uma das quais não possui nenhuma das espécies dominantes na outra. Com efeito, o *P. megistus*, *T. sordida* e o *T. infestans* não se encontram na região Amazônica, os quais se espalham pelo resto do país. Ao contrário, *R. robustus*, *R. brethesi*, *Panstrongylus rufotuberculatus* e *Panstrongylus lignarius* são espécies endêmicas naquela região, ao lado de *Panstrongylus geniculatus*, *Triatoma rubrofasciata* e *R. pictipes*, que também se encontram fora dela. Verifica-se, inequivocamente, a existência de dois centros de dispersão, um na zona Central (Minas Gerais e norte de São Paulo), outro na zona Nordeste, assim como a ocorrência de duas zonas de influência, uma ao norte da Província Ocidental, outra na zona Sul" (LUCENA, 1962).

As investigações de propriedades da bioquímica alimentar entre espécies afins filogeneticamente, oferecem nova dimensão aos estudos de Ecologia, Evolução e até mesmo Taxonomia (LEWONTIN, 1960; KIMURA, 1968, 1971). O fato de características bioquímicas, entre as espécies afins, poderem ser analisadas em termos de enzimas abre a possibilidade de se reconhecer genótipos não detectáveis por outros métodos.

Segundo SELANDER (1970), ao contrário do conceito

clássico de Genética, da existência de um "wild-type" (tipo - selvagem) em que quase todos os loci são homozigóticos, sabe-se que numa população natural a maior parte dos loci são polimórficos, e num indivíduo, aproximadamente 10% dos seus loci são heterozigóticos. Sendo boa parte desta heterozigosidade adaptativa, muito embora na maioria dos casos não seja conhecida a natureza das adaptações.

Realizando estudos em várias espécies de *Drosophila*, JOHNSON (1971) verificou que a diversidade das enzimas é maior quanto maior a diversidade das espécies e da localização geográfica. Também foram detectados padrões eletroforéticos com freqüências diferentes, para *T. infestans*, entre populações geograficamente diferentes (TOLEDO, 1969). Algumas relações semelhantes entre os fatores alimentares (adaptações a diferentes regimes alimentares) e variabilidade dos padrões enzimáticos, foi encontrada no himenóptero *Pagomyrmex barbatus* (JOHNSON, 1966).

De interesse especial são as enzimas envolvidas com o processamento de alimentos (ALMEIDA *et alii*, 1979), e outros fatores (especialmente comportamentais) relacionados com a escolha dos hospedeiros e de resistência à biocidas (ALMEIDA *et alii*, 1978).

No presente trabalho objetivamos caracterizar o perfil eletroforético de alguns sistemas isoenzimáticos (com funções no metabolismo digestivo e intermediário) da hemolinfa de

Triatomíneos e, relacionar com alguns aspectos da sua ecologia alimentar, ou seja, procuramos relacionar características genéticas e bioquímicas, estudadas através da técnica de eletroforese de isoenzimas, com algumas implicações no plano alimentar. É possível, que além disso, estes dados forneçam subsídios, ainda que preliminares, para a Sistemática de nível beta na subfamília Triatominae (LEONE, 1947, 1964; SOKAL, 1962.; SIBLEY, 1962; HOYER, 1964; USINGER, 1966 e Vanzolini, 1970.

II. MATERIAL E MÉTODOS

A. MATERIAL

Os insetos usados neste trabalho foram Triatomíneos adultos e larvas das espécies: *Rhodnius prolixus* Stal, 1859, *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835, *Triatoma infestans* (KLUG, 1834), *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Rhodnius neglectus* LENT, 1954, *Triatoma sordida* (STÅL, 1859), *Triatoma dimidiata* (LATREILLE, 1811), *Triatoma arthurneivai* LENT & MAR TINS, 1940, *Triatoma platensis* Neiva, 1913, *Triatoma vitticeps* Stål, 1859, *Triatoma pseudomaculata* Correa & Espinola, 1964 e *Triatoma macromelasoma* Galvão, 1956.

Todas as colônias, cada qual com 40 casais, foram mantidas em endocruzamento, de modo a minimizar a variabilidade da amostra, facilitando a análise de zimogramas. As colônias eram oriundas do Instituto Oswaldo Cruz, onde estavam em regime semelhante por aproximadamente quinze gerações.

Em nosso laboratório, as colônias eram mantidas em

frascos de vidro transparente com 25 cm de altura e 20 cm de diâmetro, cujo fundo era forrado por papel de filtro, além disso havia um suporte, também de papel de filtro sanfonado, no qual os insetos podiam subir para se alimentar e procurar microclima mais adequado. Os frascos eram fechados por tecido de malha fina atado por vários elásticos.

Para a alimentação destes hematófagos escolhemos Cavia porcellus, Mus musculus, Columba livia e Gallus gallus, porque, provavelmente, fazem parte das inúmeras fontes naturais de alimentação para os Triatomíneos silvestres e peri-domésticos. Separamos quatro lotes com dez casais cada um para os quatro tipos de fonte alimentar.

Na alimentação, os frascos contendo os Triatomíneos eram colocados em baixo de um suporte de madeira com o centro aberto em tela, acima da qual colocávamos o hospedeiro em decúbito dorsal, imobilizado por uma lona que se estendia de uma extremidade a outra do suporte. Raspávamos os pelos ou penas, conforme o caso, na região do animal em contato com o centro telado do suporte. Isso permitia um fácil acesso e grande superfície de alimentação para os Triatomíneos. A alimentação era feita em ambiente de semi-obscuridade, durante 30 minutos. Tais condições de repasto mostraram-se satisfatórias porque o estado de repleção normalmente era atingido.

Durante o período de experimento, as variações dos fatores físicos, para criação dos insetos, estiveram assim determinadas: Temperatura $\bar{X} = 30$ $\bar{X}_{max}=33$ $\bar{X}_{min}=26$, Umidade relativa

tiva $\bar{X}=75\%$, $X_{max}=80\%$, $X_{min}=70\%$ e Luminosidade com 12 horas de fotoperíodo.

B. MÉTODOS

A análise da estrutura de proteínas é extremamente difícil, entretanto, proteínas diferentes incluindo aquelas que diferem por um único amino-ácido, muitas vezes têm cargas elétricas diferentes, e, portanto, movimentam-se com taxas diferentes quando colocadas num campo elétrico. Com essas diferenças na migração podemos dizer que as informações genéticas, resultantes nestas proteínas, são diferentes. Apesar da impossibilidade de poder se diferenciar toda carga genética (pois há degeneração no código genético, e algumas vezes falta resolução em eletroforese) a eletroforese de enzimas é bastante útil, e a falta de resolução em alguns resultados é mais que compensada pela qualidade potencial de observações possíveis.

A técnica usada foi eletroforese horizontal em gel de amido em sistema tampão descontínuo. O tampão usado no gel foi Tris-Citrato com $pH=8,7$ (Tris-hidroximetil aminometano 0,076 M e Ácido cítrico 0,005 M) nos eletródos usamos tampão Borato com $pH=8,2$ (Ácido bórico 0,3 M e hidróxido de sódio 0,05 M). O suporte era amido hidrolisado da Sigma a 12%, com cozimento e deaeração segundo indicações de SMITHIES (1955).

Coletávamos, em capilar, cerca de 5 microlitros de

hemolinfa de cada animal por secção da pata direita do mesotórax. Transferimos essa hemolinfa para pequenos encartes (3 x 6 mm) de papel filtro Whatmann 3 mm, aplicados diretamente em fendas no gel, sobre placa de gelo.

Para separação eletroforética foi aplicada uma corrente de 400 V, 40 mA, a 5° C, durante 4 horas ou até que a frente de corrida atingisse 9 cm. Após a eletroforese, o gel cortado em três camadas era incubado a 37°C com sustratos e corantes específicos, para reações histoquímicas de coloração.

Após a revelação, lavava-se o gel com água corrente fixando-o em solução 5:5:1 de metanol, água e ácido acético. Depois da fixação, o gel era secado e devidamente envolvido em plástico "saran wrap" e procedia-se as medidas de zimograma.

As soluções estoques dos reagentes utilizados para os diversos sistemas, foram:

1. Tampão para o elétrodo:

- Borato 0,3 M, pH=8,2 (18,55 g Ácido bórico + 2,40 g Hidróxido de sódio, completar para 1 l de água destilada).
- Tris 0,687 M + Ácido Cítrico 0,157 M, pH=8,0 (83,2 g Tris + 33 g Ácido cítrico monohidratado e completar para 1 l de água destilada).

2. Tampão para o gel:

- Tris 0,687 M + Ácido cítrico 0,005 M, pH=8,7
(9,21 g Tris + 1,05 g Áci-
do cítrico monohidratado
e completar para 1 l de
água destilada).

3. Tampão para coloração:

- Tris-HCl, pH=8,5 (25 ml Tris-HCl 0,4 M + 25 ml Áci-
do clorídrico e 75 ml
de água destilada).

- Tris Maleato, pH=7,4 (12,10 g Tris + 11,6 g Áci-
malêico + 3,72 g EDTA +
2,03 g Cloreto de magné-
sio hexahidratado e com-
pletar para 1 l de água
destilada).

- Tris Maleato, pH=3,8 (24,2 g Tris + 23,2 g Áci-
do malêico + 8 g Hidróxi-
do de sódio e completar
para 1 l de água destila-
da).

- Fosfato pH=5,8 (70 ml Fosfato dibásico de sódio
monohidratado + 14 ml Fos-
fato monobásico de sódio

heptahidratado + 56 ml de água destilada).

- Tris-Citrato, pH=8,7 (9,21 g Tris+1,05 g Ácido cítrico monohidratado e completar para 1 l de água destilada).
- Acetato, pH=4,6 (35 ml Acetato de sódio 0,2 M + 15 ml Ácido acético + 50 ml de água destilada).

4. Soluções para coloração

- NAD 0,1 M (1,32 g NAD + 20 ml água destilada)
- NBT 0,01 M (500 mg NBT + 25 ml água destilada)
- PMS 2,5 mg
- L. Ácido málico 100 mg
- PVP 10% (4 g PVP + 40 ml água destilada)
- Cloreto de sódio 5,0 M (5,8 g Cloreto de sódio + 20 ml água destilada)
- Sal sódico do Ácido alfa- afitil-fosfórico 160 mg
- Fast Blue RR 4% (800 mg + 20 ml água destilada)
- Isopropanol 4 ml
- Octanol 5 ml
- L. Ácido aspártico 230 mg

- Ácido alfa-cetoglutárico 200 mg
- Piridoxal-5-fosfato 50 mg
- L. Leucil-beta-naftilamida 20 mg
- Black k 5% (1 g Black k + 20 ml água destilada)
- Fast Garnet GBC 4% (800 mg + 20 ml água destilada)
- Alfa-naftil-acetato (1 g Alfa-naftil-acetato + 50 ml acetona + 50 ml água destilada)
- Beta-naftil-acetato (1 g Beta-naftil-acetato + 50 ml acetona + 50 ml água destilada)
- Propanol 5 ml
- Galactose 1,802 g

Reagentes utilizados para revelação histoquímica dos vários sistemas isoenzimáticas analisados

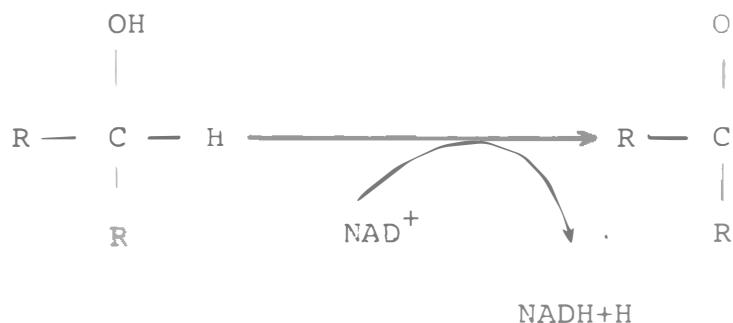
Reagentes	Proteínas Gerais	Sistemas Isoenzimáticos										
		GOT -DH	SOR	ODH	XDH	OLD LAP	NEW LAP	ADH	AiPh	MDH	AcPh	EST
Borato 0,3 M		X		X	X	X	X	X	X		X	X
Tris 0,687 M											X	
Tris 0,076 M		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tris HCl pH 8,5		X	X	X	X	X					X	
Tris Maleato pH 7,4							X	X				
Tris Maleato pH 3,8							X	X				

Reagentes	Protéinas Gerais	Sistemas Isoenzimáticos									
		GOT	SOR	ODH	XDH	OLD	NEW	ADH	AiPh	MDH	AcPh
		-DH			LAP	LAP					EST
Fosfato 5,8							X				X
Tris-citrato ph 8,7									X		
Acetato ph 4,6										X	
NAD 0,1 M		X	X	X			X		X		
NBT 0,01 M		X	X	X			X		X		
PMS		X	X	X			X		X		
L-Ácido málico						X			X		
PVP 10%								X			X
Cloreto de sódio 5 M								X			X
Sal sódico do Ác. Naftil fosfato								X			X
Fast blue RR 4%		X						X			X
Isopropanol							X				
Octanol				X							
L-Ácido aspártico		X									
Ácido alfa ω - toglutárico		X									
Piridoxal 5 fosfato		X									
L-Leucil beta naftilamida					X	X					
Black K 5%					X	X					
Fast garnet GBC 4%											
Alfa naftil acetato											
Beta naftil acetato											
Propanol											
Amido black	X										
Hipoxantina					X						

III. RESULTADOS

Oxidorredutases (1)

São enzimas que catalisam oxidorreduções entre dois substratos. Atuam, entre outros, sobre o grupo CH - OH (1.1) como doador de elétrons. Têm papel importante nas vias glicolíticas.



Desidrogenase Octanólica (ODH)

No sistema ODH após análise de 20 machos, 20 fêmeas

e 20 larvas, encontramos apenas dois padrões de zimograma, de acordo com a Figura 1, na espécie *P. megistus*. Observamos que a faixa ODH-5 é bem homogênea, no entanto a faixa ODH-25 na maioria dos indivíduos tem amplitude maior, parecendo ser constituída por três ou mais faixas, que estariam tão próximas, de modo que a difusão e os rastros deixados pelas primeiras fariam parecer tratar-se de uma faixa apenas.

Desidrogenase Alcoólica (ADH)

Para ADH em *P. megistus* usamos a mesma amostra de ODH, e também encontramos dois padrões eletroforéticos nesse primeiro sistema, conforme a Figura 2. A faixa ADH-25 está em situação idêntica à da faixa ODH-25, ou seja, na maioria dos casos, parece não ser uma faixa única, mas um aglomerado de pelo menos três.

Provavelmente com uma técnica mais sensível, como a crilamida, pudéssemos separar nitidamente essas faixas.

No *T. infestans* detectamos em 65 machos e 65 fêmeas, também dois padrões para ADH. No entanto, com um número maior de faixas, cujos ME são: ADH-5, ADH-12, ADH-55 e ADH-60, segundo a Figura 3.

Para *T. brasiliensis*, com apenas cinco insetos analisados, localizamos uma faixa de ME ADH-5.

Galactose Desidrogenase (GAL-DH)

Nestes sistemas isoenzimáticos contamos com 20 machos e 20 fêmeas de *P. megistus*. Somente um padrão foi obtido, com quatro faixas de ME igual a GAL.DH-8, GAL.DH-13, GAL.DH-55 e GAL.DH-60, representado na Figura 4.

Em *T. infestans* e *R. prolixus* não obtivemos êxito para localização destas enzimas, talvez devido a problemas puramente técnicos.

Sorbital Desidrogenase (SOR.DH)

Quanto ao sistema SOR.DH, analisamos 20 machos e 20 fêmeas de *P. megistus*. No zimograma constatou-se três tipos de padrão em ambos os sexos, com faixas de ME igual a SOR.DH-8, SOR.DH-13, SOR.DH-60 e SOR.DH-65 como representado na Figura 5.

Neste sistema também não tivemos sucesso com *T. infestans* e *R. prolixus* para localização de enzimas.

Desidrogenase Málica (MDH)

Analisamos vinte espécimes de *T. sordida* quanto ao sistema MDH. Sendo que somente um padrão foi observado, constituído de três faixas: MDH-15, MDH-19 e MDH-40 (Figura 6).

Estudamos vinte *Triatoma platensis* para este mesmo sistema enzimático, resultando num padrão único com apenas uma faixa, MDH-8 (Figura 6).

Em *R. prolixus* e *T. infestans* não conseguimos de tectar atividade de MDH.

Indofenol Oxidase (IPO)

Com 60 insetos estudados (20 machos, 20 fêmeas e 20 larvas) detectamos uma faixa única para *P. megistus*; com 8 mm de distância do ponto de aplicação (ME igual a IPO-8). Esta faixa está presente em todos os indivíduos (Figura 7).

Quanto a *T. infestans* apresentou dois tipos de perfis, ambos com duas faixas. As faixas envolvidas eram de ME igual a IPO-8, IPO-22 e IPO-34. Todos, de um total de 110 triatomíneos, usados na eletroforese, exibiram a faixa IPO-34 (Figura 8).

Em *R. prolixus* apareceu uma diversidade de perfis eletroforéticos, bem acentuada, perfazendo sete tipos, com nove faixas envolvidas na configuração dos mesmos (IPO-4, IPO-8, IPO-10, IPO-14, IPO-17, IPO-22, IPO-38, IPO-45 e IPO-58), segundo a Figura 9.

Fosfatase ácida (AcPh)

O sistema AcPh foi observado em 19 machos e 20 fêmeas de *R. prolixus* com padrão único para ambos os sexos, conforme a Figura 10. As faixas encontradas tinham ME de AcPh-7, AcPh-15 e AcPh-25.

Fosfatase alcalina (AiPh)

Em AiPh, utilizamos também 29 machos e 20 fêmeas de *R. prolixus* para análise eletroforética, resultando em dois padrões para os dois性 (AiPh-7 e AiPh-15), esquematizado na Figura 11.

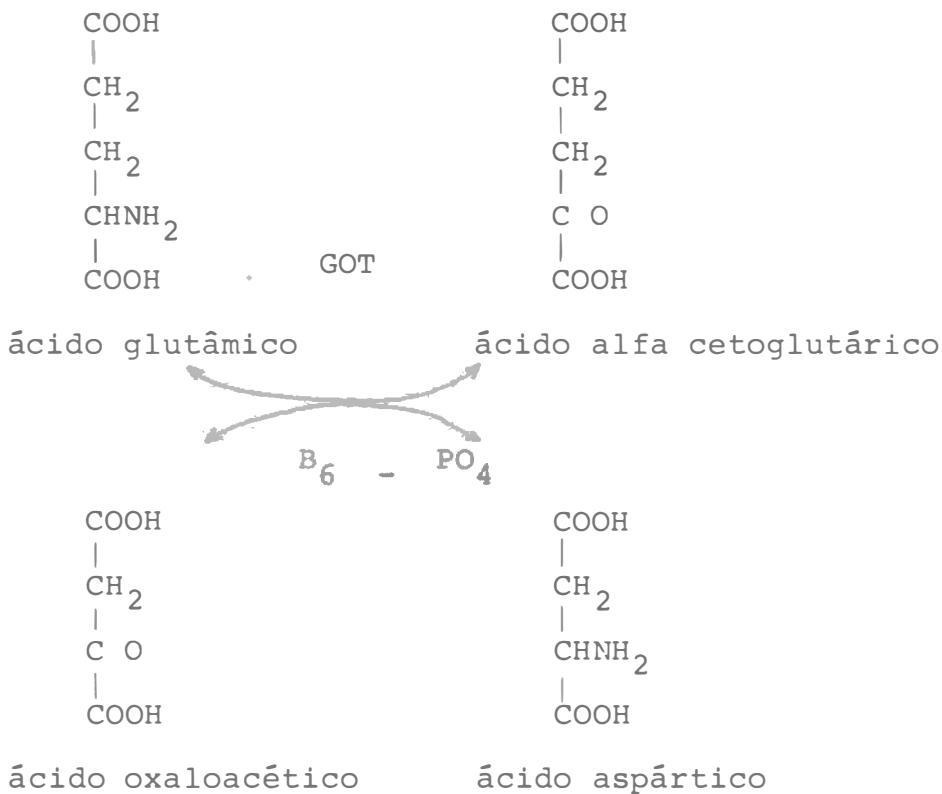
Transaminase Glutamica Oxaloacética (GOT)

No sistema GOT usamos 60 hemípteros de *R. prolixus*, sendo 30 machos e 30 fêmeas. Apenas um tipo de perfil foi localizado, com duas faixas de ME, GOT-8 e GOT-18, de acordo com a Figura 12.

Para estudo do sistema GOT na espécie *P. megistus*, também contamos com 60 indivíduos (20 machos, 20 fêmeas e 20 larvas) mas somente um perfil pudemos detectar com três faixas de ME igual a GOT-8, GOT-16 e GOT-22, conforme a Figura 13.

Transferases (2)

São enzimas que catalisam a transferência ou o deslocamento de uma molécula (diferente do hidrogênio) para outra, de um grupo químico que não está presente no estado livre durante a transferência. Aqui se incluem as enzimas que catalisam a transferência de grupos contendo fósforo (2.7) como AipH e AcPh. A GOT catalisa transferência do grupo amina do ácido aspártico para o ácido alfa ceto-glutárico, formando os ácidos glutâmico e oxalo acético, tendo importância no metabolismo de interconversão de aminoácidos.



Hidrolases (3)

São enzimas que catalisam, entre outras, a hidrólise de laços ester (3.1) e peptídicos (3.4), muitas das quais participam de fases importantes da digestão ou do metabolismo intermediário, com baixa ou alta especificidade. A LAP é uma exopeptidase que atua sobre o laço peptídico terminal tipo $\text{NH}_2 - \text{CHR} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CHR} - \text{CO} - \text{LEUCINA}$.

Leucyl Amino-Peptidase (old-LAP)

Nesta peptidase (old-LAP), 20 machos e 20 fêmeas de *P. megistus* foram estudados. Apenas dois padrões foram encontrados, tanto nos machos como nas fêmeas, com quatro ou duas faixas (old-LAP-4, old-LAP-7, old-LAP-12 e old-LAP-17), mostrados na Figura 14.

Quanto a *R. prolixus* achamos padrão único para os indivíduos analisados (40 fêmeas e 35 machos) com faixas de ME: old-LAP-4 e old-LAP-12, segundo a Figura 15. Portanto duas faixas coincidentes entre as duas espécies estudadas.

Leucyl Amino-Peptidase (new-LAP)

Com 82 machos e 74 fêmeas estudamos new-LAP em *R. prolixus*. Sendo que, neste caso, localizamos três padrões, nu-

mericamente maior que old-LAP, para os dois sexos. Com cinco ou seis faixas (new-LAP-7, new-LAP-16, new-LAP-20, new-LAP-24, new-LAP-29 e new-LAP-33) representados na Figura 16. Sendo que as faixas de ME 7, 16, 20 e 33 estão presentes nos 156 insetos analisados e as outras podem ou não estar presentes.

Alfa e Beta Esterases

No gênero *Triatoma*, estudamos 10 espécies, contudo, apenas em *T. infestans* abordamos os dois sistemas enzimáticos: alfa e beta esterases. Nas outras 9 espécies trabalhamos só mente com alfa esterases. Achamos um tipo de perfil para cada espécie, com número máximo de faixa em 5 (*T. infestans*) e o mínimo de 2 (*T. arthurneivai*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. macromelasoma* e *T. vitticeps*). As faixas obtidas para o gênero foram de ME aEST-3, aEST-6, aEST-12, aEST-15, aEST-19, aEST-24 e aEST-36, como estão representados nas Figuras 17 e 18.

Em *P. megistus*, achamos sete tipos de perfis para alfa e beta esterases, com máximo de 9 faixas e mínimo de 7. As faixas detectadas foram as seguintes: EST-12, EST-19, EST-24, EST-28, EST-33, EST-36, EST-40, EST-44 e EST-55. Nos 62 insetos estudados, 5 faixas (EST-12, EST-19, EST-24, EST-33 e EST-55), foram constantes em todos os casos (Figura 19).

Na espécie *R. neglectus* analisamos 30 percevejos para alfa esterases, detectando um único perfil com 3 faixas de

ME igual a EST-10, EST-23 e EST-33, representado na Figura 20.

Em *R. prolixus* começamos o estudo com insetos criados em laboratório com linhagens altamente endocruzadas que seriam usadas como padrões uniformes em comparações e cruzamentos com insetos de populações naturais.

Os resultados obtidos na eletroforese de esterases das colônias estão expressos na Figura 21. Neste sistema foram encontrados três loci, um com faixa única de ME 8 (locus alfa I), ao que tudo indica não polimórfico e os outros dois nos parecem ser polimórficos. Sendo um (locus alfa II) com três aleloenzimas com ME de 12, 16 e 23. Chamamos de alelo rápido (R) ao de ME 23, alelo médio (M) ao de ME 16 e alelo lento (L) ao de ME 12. Portanto é possível 6 fenótipos diferentes pelo arranjo dos 3 alelos, a saber: RR, RM, RL, MM, ML e LL (Tabela 1).

O outro locus (alfa 3) com 2 aleloenzimas de ME 27 e 33, dando três tipos de fenótipos 27, 27 e 33, e 33.

Realizamos alguns cruzamentos selecionados, quanto ao locus alfa 2 e os resultados experimentais sustentam a expectativa teórica, como pode ser visto na Tabela 1.

Fizemos um estudo comparativo de alfa e beta Esterases em *R. prolixus* e notamos que, incubando-se separadamente dois géis com as mesmas amostras, com substratos alfa e beta naftol, as faixas aparecem em ambos os casos. Incubando-se o gel simultaneamente em substratos alfa e beta naftol, observa-

mos que o locus EST alfa I colora-se preferencialmente por alfa naftol e as faixas do locus EST alfa II por beta naftol.

Proteínas Gerais

Analisamos proteínas gerais de 10 espécies de Triatomaíneos. Em 40 *P. megistus* achamos um total de cinco perfis diferentes. Com dois deles sendo comuns a macho e fêmea, apesar da diversidade do primeiro ser maior (4 perfis) que das fêmeas (3 perfis).. Pelo menos quinze faixas estão presentes nos zimogramas de proteínas gerais de *P. megistus* (P-2, P-5, P-10, P-14, P-18, P-22, P-25, P-29, P-32, P-36, P-40, P-45, P-51, P-55 e P-60) das quais doze são constantes em todos os indivíduos observados (Figura 22).

Na espécie *R. prolixus* com 60 insetos analisados (30 machos e 30 fêmeas) conseguimos apenas dois perfis, comuns aos dois sexos. O número de faixas envolvidas foi menor que em *P. megistus*, somente com 9, com ME de P-8, P-14, P-18, P-22, P-25, P-29, P-36, P-46 e P-50. No entanto, 7 delas têm correspondência de distância percorrida nas duas espécies (Figura 23).

Em *R. neglectus* achamos um perfil com três faixas de ME P-7, P-10 e P-27 (Figura 24).

No gênero *Triatoma* (Figura 25) obtivemos um perfil para cada uma das espécies. O número de faixas variou de um máximo de 11 em *T. infestans* a um mínimo de 9 em *T. dimidiata*,

T. arthurneivai, *T. pseudomaculata* e *T. macromelasoma*. As faixas presentes nos vários perfis foram: P-6, P-12, P-14, P-18, P-20, P-22, P-28, P-31, P-34, P-39, P-51, P-53 e P-55, das quais 6 (P-6, P-12, P-18, P-20, P-22 e P-28) são comuns a todas as espécies. Outras mostraram-se faixas exclusivas de determinadas espécies. Por exemplo: P-14 para *T. infestans* e P-53 para *T. brasiliensis*. Enquanto outras são comuns a certas espécies mas não a outras, por exemplo: P-51 é comum somente para *T. infestans*, *T. sordida*, *T. arthurneivai* e *T. macromela-soma*.

IV. DISCUSSÃO

A variedade disponível de opções alimentares para Triatomíneos é muito grande, mas a quantidade de cada tipo é limitada.

Uma espécie qualquer só pode utilizar pequena fração dos tipos de alimentos disponíveis e, como consequência, torna-se possível a existência de várias espécies no mesmo lugar, alimentando-se de hospedeiros completamente diferentes. Se uma espécie pode alimentar-se de dois tipos de alimentos um dos quais seja muito comum e nutritivo e outro raro e pouco nutritivo, a seleção natural tende a favorecer aqueles genótipos que mais procuram melhor alimento, e ficam assim mais aptos para sobreviver e reproduzir, deixando um número maior de descendentes.

Se as qualidades bioquímicas, físicas, comportamentais ou distribucionais de dois tipos de alimentos considerados, são suficientemente diferentes para reduzir a aptidão de

um individuo que procura alimentar-se simultaneamente dos dois tipos de recursos alimentares (grupo generalista), a seleção natural levará este genótipo à extinção e só permitirá a sobrevivência das formas especializadas no recurso mais explorável. Às vezes, a especialização deriva de razões históricas: na época em que se originou essa especialização, o hospedeiro era comum, e somente depois ficou raro, com o comensal a esta altura tão especializado, que não teve possibilidades de se adaptar a um outro tipo de alimento.

É possível que uma especialização seja mantida por forças ecológicas. Então, se houver uma espécie utilizando vários tipos de alimentos, todos poucos diferentes, a adição de uma segunda espécie comensal, com as mesmas preferências, mas com pequenas diferenças na capacidade de encontrar e metabolizar alimentos, vai gerar uma competição entre essas duas populações hematófagas pelo uso de recursos alimentares. O primeiro comensal deixará menos do tipo de alimento do qual ele tem mais eficiência em utilizar. Consequentemente, o segundo comensal terá maior disponibilidade energética no tipo de alimento que o primeiro for menos eficiente em utilizar. Se as duas espécies são muito eficientes em utilizar os recursos alimentares, vai sobrar pouco do alimento preferido, de uma espécie para uso da outra espécie. Cada espécie será selecionada e evuirá para maior especialização em tipos restritos de recursos alimentares. Quando os recursos são muito semelhantes e ocorrem fortes variações nas suas quantidades relativas, consumido

res reduzidos em densidade por fatores climáticos ou por seus préd^orios predadores (como no caso dos Triatomíneos), as forças que promovem configurações especializadas, não seriam tão fortes e os indivíduos ficariam com capacidade de tornarem-se generalistas, mantendo uma flexibilidade no sentido de desenvolver rapidamente novas preferências.

Observamos que, quando há mais de um padrão eletroforetico, os indivíduos que possuem maior quantidade de faixas são normalmente mais numerosos. Possivelmente porque um maior número de faixas represente, de um modo geral, o heterozigoto (nos casos de loci polimórficos) ou porque um maior número de faixas signifique um maior número de enzimas produzidas por diferentes loci (nos casos de loci não polimórficos) e que, talvez, permitissem a insetos com esses genótipos uma amplitude maior nas adaptações metabólicas.

No sistema ADH a espécie *Panstrongylus megistus* tem possivelmente dois loci, o locus ADH-5 que seria monomórfico, produzindo uma faixa apenas, e o locus ADH-25, que seria polialélico (com alelos diméricos) com os homozigotos tendo uma faixa e o heterozigoto tendo três.

No sistema ODH, parece ocorrer o mesmo, ou seja, haveria dois loci envolvidos, o ODH-5, monomórfico e o ODH-25, polimórfico (com alelos diméricos) tendo os homozigotos uma faixa e o heterozigoto três faixas.

Far-se-ia necessário uma técnica mais sensível que

desse mais resolução às faixas para confirmar essas hipóteses.

Não deve ser uma simples coincidência o fato de, numa mesma espécie animal, enzimas de um mesmo grupo (Oxidorredutases, tipo desidrogenases), mas de diferentes sistemas enzimá
ticos, terem a mesma mobilidade eletroforética e característi
cas idênticas (ADH-5 e ODH-5 com monomorfismo e ADH-25 e ODH-
25 com polimorfismo dimérico). É possível que sejam apenas
dois loci, DH-5 e DH-25, que produzam enzimas que catalisem o
mesmo tipo de reação (desidrogenação) com vários substratos re
lacionados estruturalmente, ou seja, reações com outros subs
tratos podem ocorrer desde que eles estejam presentes em con
centrações elevadas.

Mesmo porque, a ocorrência de todas as reações pos
síveis no organismo vivo, depende, em parte, da concentração
relativa dos substratos alternados nas células e de suas afini
dades relativas para uma dada enzima.

Comparando-se alguns dos sistemas isoenzimáticos es
tudados, por exemplo, ADH e IPO de *T. infestans* com os mesmos
sistemas de *P. megistus*, podemos notar que em ADH, apesar das
espécies terem dois padrões eletroforéticos, os padrões de ADH
em *T. infestans* envolvem um número maior de faixas. Em IPO, ob
servamos apenas um padrão em *P. megistus*, mas em *T. infestans*,
observamos dois padrões diferentes.

Na quase totalidade de adultos e 5º larvas de *T. in*
festans, R. prolixus e P. megistus observamos uma faixa amare

la distanciada 8 mm do ponto de aplicação (ME igual a 8), quando incubávamos o gel de amido para Esterases. É possível que seja uma proteína com afinidade para compostos graxos (talvez uma lipoproteína), pois os géis com essas mesmas amostras, incubadas desidrogenases, não apresentaram tal faixa.

V. CONCLUSÕES

Como o *T. infestans* é considerado como sendo a espécie de maior domiciliação no Brasil, e como deve haver uma correlação entre poder de ocupar novos ecótopos com diferentes fontes alimentares (sangue humano e de animais domésticos), e a complexidade de sistemas de isoenzimas do metabolismo, supomos que esse número maior de loci envolvidos nesses sistemas enzimáticos no *T. infestans*, represente uma estratégia adaptativa na ecologia alimentar dos mesmos.

Até agora ficou constatado entre as espécies estudadas, ao menos para os sistemas isoenzimáticos analisados, que cada espécie possui um padrão distinto, na maioria dos casos. Sendo, portanto, mais um dado possível de ser usado em Taxonomia de nível beta.

Após cerca de 40 gerações no laboratório, numa colônia fechada, com elevada taxa de endocruzamento, ainda ocorre polimorfismo para Esterase nesta população de *Rhodnius prolixus*. Isto significa que o grau de variabilidade isoenzimática

ca em populações abertas deve ser maior que o observado.

Em pequenas populações, os alelos de valor seletivo neutro geralmente são eliminados em poucas gerações por processos de flutuações genéticas. Se o endocruzamento causar o mesmo efeito na espécie analisada, significa que deve haver algum mecanismo genético responsável pela manutenção desse polymorfismo.

Não encontramos diferenças entre sexos e entre indivíduos com diferentes idades (adultos e 5º larvas). Também o padrão específico foi mantido após alimentação, sendo que verificamos diferenças quantitativas em algumas bandas, após o repasto. Mas não significam alteração qualitativa. Isto mostra que esses insetos possuem um mecanismo próprio para o metabolismo digestivo pertinente a estas enzimas.

Usando diferentes espécies de hospedeiros, não constatamos variações qualitativas no padrão eletroforético para todas as enzimas estudadas. Isto sugere que esses Triatomíneos podem passar de um hospedeiro a outro sem problemas com substratos metabolizados por estas enzimas, ou seja, sem necessitar de uma adaptação bioquímica às diferenças na composição do sangue dos hospedeiros.

Como os Triatomíneos são caracterizados ecologicamente pela baixa taxa de reprodução, alta taxa de sobrevivência, alta densidade atingida com relação a quantidade de alimentos disponíveis, alta diversidade de tipos de alimentos se-

melhantes (sangue de diferentes espécies de vertebrados) e a simpatria de várias espécies sistematicamente afins; pode-se esperar que, para populações delimitadas na mesma região geográfica, ou até no mesmo habitat sob condições de competição alta e uniforme por recursos previsíveis (por indivíduo), haveria alto grau de especialização ecológica e uso de alimentos. Enquanto em áreas diferentes, onde os recursos alimentares diferem em tipo, distribuição e abundância, as espécies com maior amplitude bioquímica e genética mudariam de papel na comunidade com relação às outras espécies de Triatomíneos, enquanto as espécies mais especializadas, por razões históricas, só ocupariam lugares em que seus requisitos exatos fossem satisfeitos.

VI. RESUMO

Neste trabalho foram analisados os perfis eletroforéticos dos sistemas oxidoredutases, transferases e hidrolases, e proteínas gerais, da hemolinfa de triatomíneos dos gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*.

Foi observado atividade enzimática de ODH, ADH, MDH, CAL.DH, SOR.DH, AcPh, AiPh, IPO, LAP, ALFA END BETA EST, na hemolinfa destes percevejos.

Os resultados mostram que há monomorfismo para maioria dos sistemas de oxidoredutases e transferases. No entanto, na classe 3.1 de hidrolases, localizamos um polimorfismo em *Rhodnius prolixus* para um locus cujos alelos denominamos R (rápido), M (médio) e L (lento). São possíveis seis diferentes fenótipos como consequência dos vários arranjos com os três alelos.

O dimorfismo sexual e a idade não alteram o padrão eletroforético.

A alimentação em hospedeiros diferentes (*Mus muscu-*

lus, Cavia porcellus, Gallus gallus e Columba livia) não produziu variações qualitativas nos padrões eletroforéticos dos sistemas enzimáticos analisados.

VII. ABSTRACT

In this work isoenzymes' electrophoretic spots of oxidoreductases, transferases and hydrolases, and general proteins, in the haemolymph of Triatominae bugs: belonging to the genera *Triatoma*, *Panstrongylus* and *Rhodnius* were analysed.

Enzymatic activity of ODH, ADH, MDH, GAL . DH, SOR, DH, AcPh, AiPh, IPO, LAP, alfa and beta EST in these bugs were observed.

The results show that there is usually monomorphism in the oxidoreductases and transferases systems. But in hydrolases' class 3.1, polymorphism in *R. prolixus* for one locus with alleles we called R (quickly), M (middle) and L (slowly) were detected. There are 6 possible different phenotypes as a consequence of various arrangements with 3 alleles.

The sexual dimorphism and age do not alter the

electrophoretic pattern. Alimentation in different hosts does not produce qualitative variations in the electrophoretic patterns of the isoenzymatic systems analized.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J.R., Y. MIZUGUCHI & C.E. SANTOS 1978 - Sistemas Enzimáticos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera, Gelechiidae) e algumas considerações sobre resistência à inseticidas. *An. Soc. Ent. Brasil.* 7(2):193-198.
- ALMEIDA, J.R., Y. MIZUGUCHI & C.E. SANTOS 1979 - Biologia Populacional e caracterização enzimática do metabolismo alimentar de *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera, Lygaeidae). *Rev. Brasil. Biol.* 39(3):565-569.
- ANDERSON, R.C. 1968 - Ecologic observations on three species of *Pimeliaphilus* parasites of Triatominae in the United States (Acarina: Pterigosomidae) (Hemiptera, Reduviidae). *J. Med. Ent.* 5:459-464.

ARAGÃO, J.M.B. de, J.M. AGUIRRE & E. SERAFIM 1953 - Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos Triatomíneos domiciliares e seus índices de infecção natural por Schi
zotrypanum cruzi, no Estado da Bahia. Rev. Brasil. Malariaiol. Doenças Trop. 7(4):409-421.

ARAGÃO, J.M.B. de & E. DIAS 1956 - Aspectos climáticos da Doença de Chagas. I. Considerações sobre a distribuição geo gráfica do Triatoma infestans. Rev. Brasil. Malariaiol. Doenças Trop. 8(4):633-642.

ARAGÃO, J.M.B. de 1961 - Aspectos climáticos da Doença de Chagas. II. Área de ocorrência de Panstrongylus megistus (Burmeister, 1835). Rev. Brasil. Malariaiol. Doenças Trop. 13:171-193.

AUDY, J.R. 1958 - The localization of disease with special reference to the zoonoses. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 52:308-328.

BARRETO, M.P., A.F. SIQUEIRA & F.M.A. CORREA 1963 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi. I. Encontro do Triatoma infestans (Hemiptera, Reduviidae) em ecótopos silvestres. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 5:289-293.

BARRETO, M.P., A.F. SIQUEIRA & J.L. PEDREIRA DE FREITAS 1964a
Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi. II. Encontro do Panstrongylus megistus em ecótopos silvestres no Estado de São Paulo (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 6:56-63.

BARRETO, M.P. 1964b - Reservatórios de Trypanosoma cruzi nas Américas. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 16:527 - 552.

BARRETO, M.P., A.F. SIQUEIRA, F.F. FERRIOLI & J.R. CARVALHEIRO 1966 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi. II. Observações sobre um foco natural da tripanossomose americana no município de Ribeirão Preto, São Paulo. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:103 -112.

BARRETO, M.P. 1967a - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi. XXI. Observações sobre a ecologia do Panstrongylus geniculatus (Latreille, 1811) . *Rev. Brasil. Biol.* 27:337-348.

BARRETO, M.P. 1967b - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do Trypanosoma cruzi. XVII. Contribuição para o estudo dos focos naturais da tripanossomose americana, com especial referência na região Nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1:23-35.

BARRETO, M.P. 1967c - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XVIII. Modificações dos focos naturais da tripanossomose americana e suas consequências. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1:167-173.

BARRETO, M.P. 1967d - Aspectos ecológicos da epidemiologia das doenças transmissíveis com especial referência às zoonoses. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 19:633-654.

BARRETO, M.P. & A. F. SIQUEIRA 1967e - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XX. Infecção natural de ratos comensais, capturados em biótopos naturais e artificiais, por tripanossomos semelhantes ao *T. cruzi*. *Rev. Brasil. Biol.* 27:145-156.

BARRETO, M.P. & A.F. SIQUEIRA 1968 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXIII. Observações sobre criadouros do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em biótopos artificiais (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Inst. Med. Trop.* 10:163-170.

BARRETO, M.P. & A.F. SIQUEIRA 1969 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres de *Trypanosoma cruzi*. XXVI. Investigações sobre Triatomíneos de palmeiras no município de Uberaba, MG, Brasil. *Rev. Brasil. Biol.* 29:577-588.

BARRETO, M.P. 1971 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XLV. Inquérito preliminar sobre Triatomíneos silvestres no sul do Estado de Mato Grosso, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.* 31:225-233.

BARRETO, M.P. 1975 - Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LIX. Distribuição geográfica de Triatomíneos na Bacia Hidrográfica do Rio Grande, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.* 35:21-30.

BENOIT, P.L.G. & M. van SANDE 1959 - Étude des protéines de l'hemolymph de *Triatoma infestans* et *Rhodnius prolixus* par ultra-microélectrophorèse en gel de gélose. *Annales Soc. Belg. Med. Trop.* 39:135-143.

BENSON, W.W. & H.C. MORAIS 1975 - Variação nas taxas de ovi-posição em *Triatoma infestans*: controle intrínseco ou extrínseco? *Rev. Brasil. Biol.* 35(2) 325-329.

BIER, M. 1959 - Electrophoresis. Academic Press. N. York. 563 pp.

BIRCH, L.C. 1970 - The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17:15-26.

BRASILEIRO, V.L.F. & A.L.P. PERONDINI 1974 - Biologia de *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). I. Tempo de sucção e repleção de ninfas de 4º e 5º estádios. *Rev. Brasil. Ent.* 18(2):43-50.

BUSCH, G.L. & R.N. HUETTEL 1972 - Starch gel electrophoresis of tephritid proteins. A manual of techniques. Intern. Biol. Programme. Working Group. on fruit flies, Population Genetics. Project Phase I, mimeograf., 55 pp.

BREWER, G.I. 1970 - An introduction to isozyme technique. Academic Press. N. York. 432 pp.

BUSTAMANTE, F.M. & J.B. GUSMÃO 1953 - Sobre um foco de *Triatoma infestans* nos municípios de Resende e Itaverá, no Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Malariaol. Doenças Trop.* 5(1):23-28.

BUSTAMANTE, F.M. 1957 - Distribuição geográfica dos transmissores da Doença de Chagas no Brasil e sua relação com certos fatores climáticos. Epidemiologia e profilaxia da enfermidade. *Rev. Brasil. Malariaol. Doenças Trop.* 9(?): 191-210.

BUXTON, P.A. 1932 - The biology of a blood sucking bug, *Rhodnius prolixus*. *Trans. Ent. Soc.* 78:227-236.

CANDIDO, L.M.B. 1977 - Estudo comparativo de trehalase em diferentes tecidos de *Triatoma vitticeps*. Res. da 4º Reunião Anual Pesq. Bás. Doenç. Chagas, Caxambu, MG, p. 63.

CHANDELIER, E.L. 1976 - Trehalase activity of *Panstrongylus megistus* haemolymph. Arq. Biol. Tecnol. 19:91-94.

CHANDELIER, E.L. 1979 - Soluble trehalose from *Panstrongylus megistus* Burm. (Reduviidae, Triatominae). Rev. Brasil. Biol. 39(1):267-274.

CARVALHO, A.G. & O.T. VERANO 1956 - Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos Triatomíneos domiciliados e de seus índices de infecção natural pelo *Schizotrypanum cruzi* na região amazônica do Estado de Goiás, Brasil. Rev. Goiana Med. 2:47-59.

CARVALHO, A.G. & O.A. FERREIRA 1959 - Distribuição geográfica, habitats, e, infecção de *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae) no Estado de São Paulo. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 1:207-213.

CHETVERIKOV, S.S. 1926 - On certain features on the evolutionary process from the viewpoint of modern genetics. J. Exp. Biol. 2:3-54.

CORREA, R.R., T.L. SILVA & A.J. RAMOS 1954 - Os Triatomíneos vetores da moléstia de Chagas no Estado de São Paulo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *An. X Congr. Bras. Hig.* pp. 478-483.

CORREA, F.M.A. 1962 - Estudo comparado do ciclo evolutivo do *Triatoma infestans* alimentado em diferentes animais (Hemiptera, Reduviidae). *Papéis Avulsos Depto. Zool. Sec. Agric. São Paulo*, 15:177-200.

COURA, J.R., L.F. FERREIRA & J.O. da SILVA 1966 - Triatomíneos no Estado da Guanabara e suas relações com o domicílio humano. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:162-166.

COUTINHO, P.P., O.S. PINTO & J.A. BARBOSA 1952 - Contribuição ao conhecimento da distribuição dos Triatomíneos domiciliares e de seus índices de infecção pelo S. cruzi no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *An. IX Congr. Brasil. Hig. (Porto Alegre, 1951)*:239-252.

DANILOV, V.N. 1968 - The effect of blood meal size taken in the nymphal stage on moulting into imago in triatomid bugs, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma infestans*. *Medskaya Parazit.* 46:218-223 apud *Trop. Dis. Bull.* 65:982.

D'ASCOLI, A. & S.C. GÓMEZ-NUNEZ 1966 - Notas sobre los medios de dispersión del *Rhodnius prolixus*. *Acta Cient. Venez.* 17:22:25.

DAVEY, K.G. 1965 - Copulation and egg production in *Rhodnius prolixus*: the role of the spermathecae. *J. Exp. Biol.* 42:373-378.

DEANE, M.P. 1947 - Ocorrência do *Trypanosoma conorrhini* em "barbeiros" e em ratos da cidade de Belém, Pará, e seu cultivo em meio de N.N.N. *Rev. do SESP.* 1(2):433-448.

DIAS, E. 1942 - Investigações sobre esquizotripanose de morcegos no Estado do Pará. Encontro do barbeiro *Cavernicola pilosa* como transmissor. *Rev. Brasil. Biol.* 2(1):103-110.

DIAS, E. 1955 - Notas sobre o tempo de evolução de algumas espécies de Triatomíneos em laboratório. *Rev. Brasil. Biol. R.J.* 15(2):157-158.

Di PRIMIO, R. 1953 - Distribuição geográfica dos Triatomíneos no Rio Grande do Sul. *An. X. Congr. Brasil. Hig. (Belo Horizonte, 1952)* pp.440-449.

Di PRIMIO, R. 1957 - Atual distribuição geográfica e seus índices de infecção no Rio Grande do Sul. *An. Fac. Med. Porto Alegre*, 17:17-37.

ESPINOLA, H.N. 1965 - Ritmo de oviposição em *Triatoma infestans* (Klug., 1834) e *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835). *Ciência e Cultura*, 17(2):227-228.

FERRIOLI FILHO, F. & M.P. BARRETO 1965 -- Estudo sobre reser-
vatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. IX. In-
fecção natural do *Rattus rattus* (Lin., 1758) por *Trypano-*
soma semelhante ao *T. cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. São
Paulo, 7:169-179.

FORATTINI, D.P. & O.A. FERREIRA 1969 - Infestação domiciliar
por *Triatoma infestans* e alguns aspectos epidemiológicos
da tripanossomose americana em área do Estado de São Pau-
lo, Brasil. Rev. Saúde Públ. São Paulo, 3:159-172.

FORATTINI, D.P. & O.R. SILVA 1970 - Aspectos ecológicos da
Tripanossomose americana. I. Observações sobre *Panstrongyl-*
lus megistus e suas relações com focos naturais da infec-
ção, em área urbana da cidade de São Paulo, Brasil. Rev.
Saúde Públ., 4:19-30.

FORATTINI, O.P., E.O.R. SILVA, O.A. FERREIRA, E.X. RABELLO &
D.G.B. PATTOLI 1971a - Aspectos ecológicos da *Tripa-*
nossomose Americana.III. Dispersão local de Triatomíneos,
com especial referência ao *Triatoma sordida*. Rev. Saude
PUBL. São Paulo, 5:193-205.

FORATTINI, O.P., O.A. FERREIRA, E.O.R. SILVA, E.X. RABELLO &
J.L.F. SANTOS 1971b - Aspectos ecológicos da *Tripanos-*
somose Americana. II. Distribuição e dispersão local de
Triatomíneos em ecótopos naturais e artificiais. Rev. Saú-
de Públ., São Paulo, 5:163-191.

FORATTINI, O.P. & O.A. FERREIRA 1971c - Observações sobre a infestação domiciliar residual por *Triatoma infestans*. Rev. Saude Pùbl. São Paulo, 5:17-21.

FORATTINI, O.P., E.X. RABELLO & D.B.G. PATTOLI 1972 - Aspectos ecológicos da Tripanossomose Americana. IV. Mobilidade de *Triatoma orthurneivai* em seus ecótopos naturais. Rev. Saude Pùbl.

FORATTINI, O.P. 1974 - Aspectos ecológicos da Tripanossomose Americana. VI. Persistência do *Triatoma sordida* após alteração ambiental e suas possíveis relações com dispersão da espécie. Rev. Saude Pùbl., 8:265-282.

FREITAS, J.L.P., A.F. SIQUEIRA & O.A. FERREIRA 1960 - Investigações epidemiológicas sobre Triatomíneos de hábitos domésticos e silvestres com auxílio da reação de precipitação. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 2(2):90-99.

FREITAS, M.G., J.O. COSTA & H.M.A. COSTA 1967 - Alguns aspectos da biologia do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera, Triatominae) em condições de laboratório. I. Evolução. Arq. Escola Vet. Belo Horizonte, 19:81-87.

FRIEND, W.G., C.T.H. CHOY & E. CARTWRIGHT 1965 - The effect of nutrient on the development and the egg production of *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera, Reduviidae). Canad. J. Zool. 43(6):891-904.

FUNAYMA, G.K. 1973 - Novos hospedeiros naturais do Trypanosoma cruzi. Rev. Brasil. Biol. 33:581-588.

GAMBOA, A.J. 1961 - Comprobación de Rhodnius prolixus extra domésticos. Bol. inform. Div. Malariaol. San Ambient. 5: 139-142.

GAMBOA, A.J. 1963 - Comprobación de Rhodnius prolixus extra domésticos en Venezuela. Bol. of Sanit. Panam. 54:18-25.

GÓMEZ-NÚÑEZ, J.C. 1969 - Resting places, dispersal and survival of Co⁶⁰ tagged adult Rhodnius prolixus. J.Med. Ent. 6:83-86.

GOMORI, G. 1967 - Histochemical methods for enzymes. In S. P. Colowick and N.O. Kaplan, Methods in Enzymology, Academic Press, N. York, IV:381-391.

GOODCHILD, A.J.P. 1955 - Some observations on growth and egg production of the blood-sucking. Reduviids Rhodnius prolixus and Triatoma infestans. Proc. R. Ent. Soc., London (A), 30: 127-136.

GORDON, A.H. 1949 - Electrophoresis of proteins in agar jelly. Nature, 164:948.

GOTTLIEB, L.D. 1971 - Gel electrophoresis: new approach to the study of evolution. Bioscience, 21:939-944.

HACK, W.H. 1955 - Estudios sobre biología del *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera, Reduviidae). *Ann. Inst. Med. Reg.* 4(2):125-147.

HARDIN, G. 1960 - The competitive exclusion principle. *Science*, 131:1292-1297.

HAYS, K.L. 1965 - The frequency and magnitude of intraspecific parasitism in *Triatoma sanguisuga* (Leconte) (Hemiptera). *Ecology*, 46:875-877.

HESSE, R., W.C. ALLEE & K. SCHMIDT 1951 - *Ecological Geography*. New York.

HOPKINSON, D.A. 1974 - Isoenzymes. *J. Clin. Path.*, suppl. Roy. Coll. Path., 27. 8:122.

HOYER, B.H. 1964 - A molecular approach in the systematics of higher organism. *Science*, 144:959.

HUBBY, J.L. & R.C. LEWONTIN 1966 - A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. *Genetics*, 54:577.

HUNTER, R. & C. MARKERT 1957 - Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gel. *Science*, 125:1294-1295.

JOHNSON, F.M. 1966 - Isoenzyme genotype-environment relationships in natural populations of the harvester ant, *Pogonomyrmex barbatus*, from Texas. *Biochem. Genetics*, 3:429 - 450.

JOHNSON, F.M. 1971 - Isosyme polymorphisms in *Drosophila ananassea*: genetics diversity among island populations in the south Pacific. *Genetics*, 68:71-95.

JOHNSON, G.B. 1973 - Relationship of enzyme polymorphism to species diversity. *Nature*, 242:193-194.

JØRG, M.E. 1955 - Limite sud de la dispersion geografica de *Triatoma infestans* y sur infestacion por *Trypanosoma cruzi* en Argentina. *Fol. Clin. et Biol.* 23(4-6):115-132.

JUAREZ, E. 1970 - Comportamento do *Triatoma infestans* sob várias condições de laboratório. *Rev. Saude Pùbl. São Paulo*, 4:147-166.

KIMURA, M. 1968 - Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, 217:624-626.

KIMURA, M. & T. OHTA 1971 - Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature*, 229:467-469.

LARROUSE, F. 1927 - Étude biologique et systématique du genre *Rhodnius prolixus* Stål. *Ann. Paras. Hum. Comp.*, 5(1): 63-68.

LEAL, H., J.A. FERREIRA NETO & C.M. MARTINS 1961 - Dados ecológicos sobre os Triatomíneos silvestres na Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo*, 3 : 213-220.

LENT, H. 1948 - O gênero *Rhodnius* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 8(3):297-339.

LENT, H. & WYGODZINSKY, P. 1979 - Revision on the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vector of Chagas' Disease. *Bull. American Museum Nat. Hist.* 163(3):127-520.

LEONE, C.A. 1947 - Systematic serology among certain insect species. *Biol. Bull.*, 93:64-71.

LEONE, C.A. (ed.) 1964 - Taxonomic biochemistry and serology. The Ronald Press Company, New York, 728 pp.

LEWONTIN, R.C. & K. KOJIMA 1960 - The evolutionary dynamics of complex polymorphism. *Evolution*, 14:458-472.

LEWONTIN, R.C. & J.L. HUBBY 1966 - A molecular approach to the study of genic heterogeneity in natural populations.II. *Genetics*, 54:595.

LOBO, A.G.S., A.M. BORBA & J. SOUZA 1954 - Contribuição ao conhecimento da distribuição dos Triatomíneos domiciliários e seus índices de infecção natural pelo *S. cruzi* no Estado do Paraná. *Rev. Brasil. Malariaol. Doenç. Trop.*, 6(4):571-587.

LOPES DA SILVA, T. & R.R. CORREA 1954 - Informes atuais sobre a distribuição geográfica dos Triatomíneos na área paulista (Hemiptera, Reduviidae). *Fol. Clin. Biol.*, 22(1-2):79-84.

LWOFF, M. & P. NICOLLE 1945 - Nécessité de l'hématine pour la nutrition de *Triatoma infestans* Klug (Réduvidé hémophage). *C.R. Soc. Biol. Paris*, 139:879-881.

LUCENA, D.T. 1956 - Epidemiologia da doença de Chagas em Pernambuco. Dados preliminares. *Arq. Bras. Card.*, 9(3): 139-145.

LUCENA, D.T. 1957 - Epidemiologia da doença de Chagas em Pernambuco. I. Distribuição geográfica dos Triatomíneos. *Rev. Brasil. Malariaol. Doenç. Trop.* 9(4):537-552.

LUCENA, D.T. 1958 - Epidemiologia da doença de Chagas em Pernambuco. II. Nota sobre as espécies de Triatomíneos.

LUCENA, D.T. 1959 - Ecologia dos Triatomíneos do Brasil. Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop., 11:577-635.

LUCENA, D.T. 1962 - Ecologia dos Triatomíneos do Brasil. Anais do Congresso Intern. Doenç. de Chagas, R.J., 3:771 - 851.

MACHADO, H. & O.S. PINTO, 1952 - Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos Triatomíneos domiciliados e seus índices de infecção natural no Estado do Ceará, Brasil. Rev. Brasil. Malariol. Doenç. Trop. 4(2):157-170.

MAYER, H.F. & I.L. ALCAREZ 1955 - Estudios relacionados con las fuentes alimentares de *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). An. Inst. Med. Reg. Tucuman, 4:195-201.

MAYR, E., E.G. LISLEY & R.L. USINGER 1953 - Methods and principles of Systematic Zoology. 1 vol., McGraw Hill, N. York 328 pp.

McMANUS, J.F.A. & W. ROBERT 1960 - Staining methods: histologic and histochemical. New York. Harper & Rold, 423 pp.

MICHENER, C.D. & R.R. SOKAL 1975a - A quantitative approach to a problem in classification. Evolution, 11:130-162.

MICHENER, C.D. 1975b - Some bases for higher categories in classification. *Syst. Zool.* 6:160-173.

MIRANDA, C. 1943 - Nota sobre os transmissores da moléstia de Chagas ocorrentes no Maranhão, Brasil. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 39(3):297-300.

MORETTI, I.G. & P.P. CHIEFFI, 1977 - Estudo preliminar do perfil eletroforético das proteínas da saliva de *Rhodnius prolixus* e *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:61-64.

NEGHME, A., J. ROMAN & R. SOROMAYOR 1949 - Nuevos datos sobre la enfermedad de Chagas en Chile. *Bol. Of. San. Panam.*, 28:808-817.

NEIVA, A. 1913 - Informações sobre a biologia da vinchuca, *Triatoma infestans* Klug. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, RJ., 5 (1) 24-31.

- NEIVA, A. & O. PENA 1916 - *Triatoma*, Moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 5:99-126.

NEIVA, A. & J. PINTO, 1932 - O estado atual dos conhecimentos sobre o gênero *Rhodnius* Stål, com descrição de uma nova espécie. *Brasil Med.* 57(2):20-24.

NEIVA, A. & H. LENT 1936 - Notas e comentários sobre Triatomíneos. Lista de espécies e sua distribuição geográfica.
Rev. Entomol. 6(2):153-190.

NEIVA, A. & H. LENT 1941 - Sinopse dos Triatomíneos. Rev.
Entomol. 12(1-2):61-92.

NERENBERG, S.I. 1969 - Electrophoresis: a practical laboratory manual. F. A. Davis and Co., Philadelphia, 272 pp.

NICOLE, P. & M. LWOFF 1942 - Récherches sur la nutrition
des reduviidés hémophages. I. Développement des stades larvaires de *Triatoma infestans* Klug dans les conditions ha
bituelles d'élevage. Bull. Soc. Path. Ex. 35:219-252.

OGITA, Z. 1968 - Genetic control of isozymes. Ann. New York.
J. Acad. Sci. 151:243.

PAVLOVSKY, E.N. 1959 - Some mode of evolution of infections
and parasitic diseases with natural foci. Proc.XV.Intern.
Congr. Zool. p-30-35.

PELLEGRINO, J. 1951 - Transmissores da doença de Chagas no
Estado de Minas Gerais. Rev. Ass. Med. M.G. 2(1):43-66.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. 1953 - Ciclo evolutivo do *Tria*
toma infestans em condições de laboratório. Rev. Brasil.
Malariol. Doenç. Trop. 5(1):35-43.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. 1968 - Estudos sobre a biologia do *Triatoma infestans*, o principal vetor da doença de Chagas no Brasil (importância de algumas características biológicas no planejamento de esquemas de combate a esse vetor). *Rev. Brasil. Malariol. Doenç. Trop.* 21:117-159.

PESSOA, S.B. 1959 - Biologia dos Triatomíneos. *Rev. Goiana Med.* 5(1):3-11.

PESSOA, S.B. 1962 - Domiciliação dos Triatomíneos e epidemiologia da doença de Chagas. *Arq. Hig. Saúde Públ.* 27: 161-171.

PESSOA, S.B. & A.V. MARTINS 1974 - Parasitologia Médica. Ed. Guanabara S.A., R.J., 981 pp (49 ed.).

PINTO DIAS, J.C. 1965 - Observações sobre o comportamento de Triatomíneos brasileiros frente ao jejum em laboratório. *Rev. Brasil. Malariol. Doenç. Trop.* 17:55-63.

POULIK, M.D. 1957 - Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature (London)*, 180:1477 - 1479.

RABINOVICH, J.E. 1972 - Vital statistics of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans*. *J. Med. Ent.* 9(4):351-370.

ROMANA, C. 1954 - Panorama epidemiológico de la enfermedad de Chagas en la Argentina através de investigaciones sistemáticas. *An. Inst. Med. Reg.* 4(1):27-33.

RYCMAN, R.E. 1962 - Biosystematics and hosts of *Triatoma protracta* complex in North America (Hemiptera, Reduviidae) (Rodentia: Cricetidae). *Univ. Calif. Publ. Entol.* 27(2):93-240.

SANDE, M. & D. KARCHER 1960 - Species differentiation of insects by hemolymph electrophoresis. *Science*, 131:1103 - 1104.

SEABRA, C.A.C. 1943 - Presença de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) Pinto, 1931 no Território do Acre. *Brasil Médico*, 57(38-39):388-389.

SELANDER, R.K. 1970 - Behavior and genetic variation in natural populations. *The American Naturalist*, 10(1):53-66.

SIBLEY, C.G. 1962 - The comparative morphology of protein molecules as data for classification. *Systematic Zool.* 3: 108-118.

SILVA, E.O.B. 1964 - O problema dos Triatomíneos no município de Campinas (Hemiptera, Reduviidae). *Arq. Hig. Saúde Públ.* 29:129-140.

SHAN, C.R. 1965 - Electrophoretic variation in enzymes. Science, 149:936-942.

SHAW, C.R. 1959a - Isoenzymes: classification, frequency and significance. Int. Rev. Cytol. 25:297-332.

SHAW, C.R. 1969b - Molecular basis of isoenzymes. Japan. J. Genetics, 44(1):31-35.

SMITH, J.M. 1970 - Population size, polymorphism and rate of non-darwinian evolution. The American Naturalist, 104 (937):231-237.

SMITHIES, O. 1955 - Zone electrophoresis in starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. Biochem. J. 61:69.

SOKAL, R.R. 1962 - Typology and empiricism in taxonomy. J. Theoret. Biol., 3:230-267.

THROCHMORTON, L.H. 1962 - The use of biochemical characteristics for the study of problems of taxonomy and evolution in the genus Drosophila. The University of Texas Publication, 415-487.

TOLEDO-FILHO, S.A. & L.E. MAGALHÃES 1969 - Variação nas proteínas da hemolinfa de Triatoma infestans. Rev. Saúde Públ. São Paulo, 3(2):231-232.

TORREALBA, J.R. & A.¹ DIAZ-VASQUEZ 1953 - Una pequeña contribución al estudio de focos extradomésticos de Triatomíneos transmisores de la enfermedad de Chagas en Venezuela. *Gac. Med. Caracas*, 61:259-267.

URIBE, C. 1926 - On the biology and life history of *Rhodnius prolixus* Stal. *J. Parasitol.* 13:129-136.

USINGER, R.L., P. WYGODZINSKY & R.E. RYCKMAN 1966 - The biology systematics of Triatominae. *Ann. Rev. Ent.* 11:309-331.

VANZOLINI, P.E. 1970 - Zoologia sistemática, geografia e a origem das espécies. *Universidade de São Paulo*, 56 pp.

WIGGLESWORTH, V.B. 1940 - The determination of characters at metamorphosis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *J. Exp. Biol.* 17:201-222.

WIGGLESWORTH, V.B. 1958 -- The distribution of esterase in the nervous system and other tissue of the *Rhodnius prolixus*. *Quart. J. Microscop. Sci.* 99:441-450.

WHITTAKER, J.R. & A.S. WEST 1962 - A starch gel electrophoretic study of insect haemolymph proteins. *Can. J. Zool.* 40:655-671.

WOOD, S.F. 1959 - Body weight and blood meal size on coneosense bugs, *Triatoma* and *Paratriatoma*. Bull. S. Calif. Acad. Sci. 58:116-118.

WOOD, S.F. 1964 - The laboratory culture of *Triatoma* (Hemiptera, Reduviidae). Bull. Wld. Hlth. Organ. 31:579-581.

WRIGHT, T.R.F. & K. KECK 1961 - Quantitative determination of esterase activities in starch gel electrophoresis. Anal. Biochem. 2:610.

WYGODZINSKY, P. 1955. - Nota adicional sobre mutaciones del color en *Triatoma infestans* (Klug). Publ. 709 dos An. Inst. Med. Reg. Univ. Tucuman, 4(2):241-243.

ZELEDON, R., V.M. GUARDIA, A. ZUICA & J.C. SWARTZWELDER 1970 - Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). I. Life cicle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. J. Med. Ent. 7:313-319.

IX. APÊNDICE

Tabela 1. Herança de alfa Esterase - variação eletroforética em adultos e 5º larvas de *Rhodnius prolixus*

FENÓTIPO	FENÓTIPOS F ₁						FENÓTIPOS F ₂						
	RR	RM	RL	MM	ML	LL	RR	RM	RL	MM	ML	LL	TOTAL
RM	RM	6	5	1			12						5
RR	RR	14					14						11
RM	RM	3	7				17						26
RR	RM	2	9				11						4
MM	ML			6	1		7						
RM	RR	4	7				11						
RL	RM	2	12	1	2		15						6
RM	RM	8	3	1			12						13
ML	RR	7	7				14						
RM	RR	2	9				11						
ML	ML			4	10	2	16						
RL	RL	4	7		3	14							
MM	MM			4		4							
LL	LL					8	8						
COLÔNIA GERAL		32	18	9	15	8	3	85	19	14	3	17	5
													2
													61

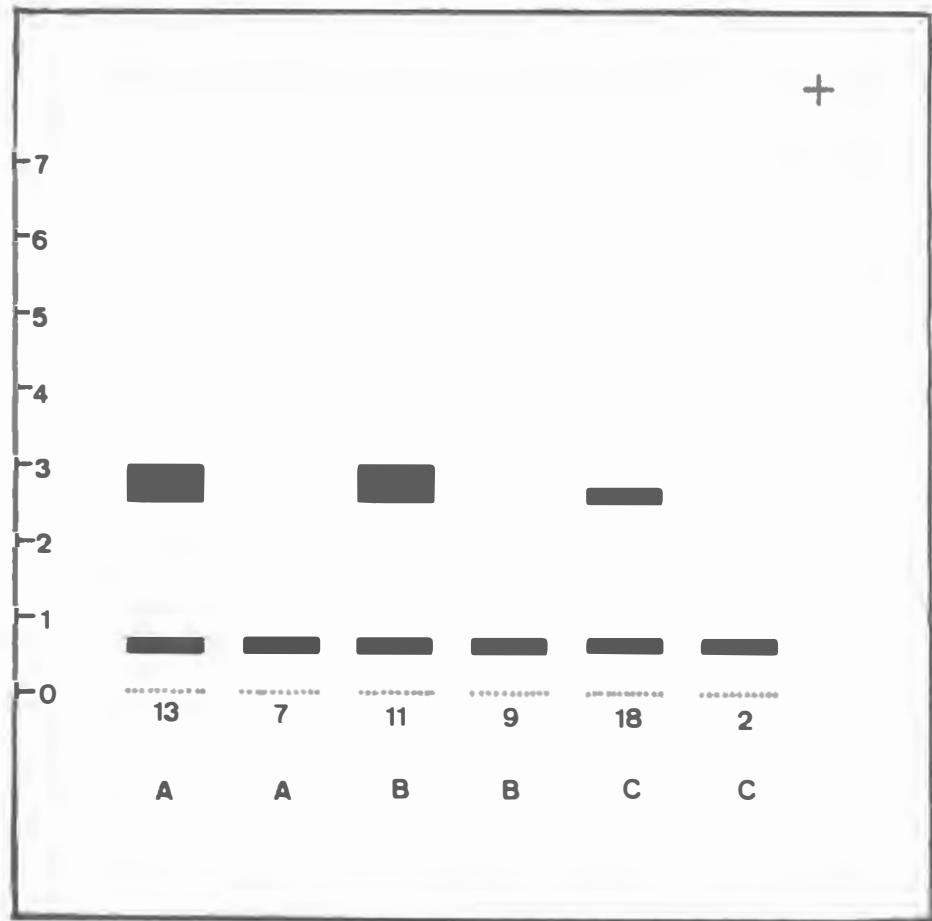


Figura 1. Esquema dos perfis eletroforéticos de ODH da hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas; C - 5º Larvas.

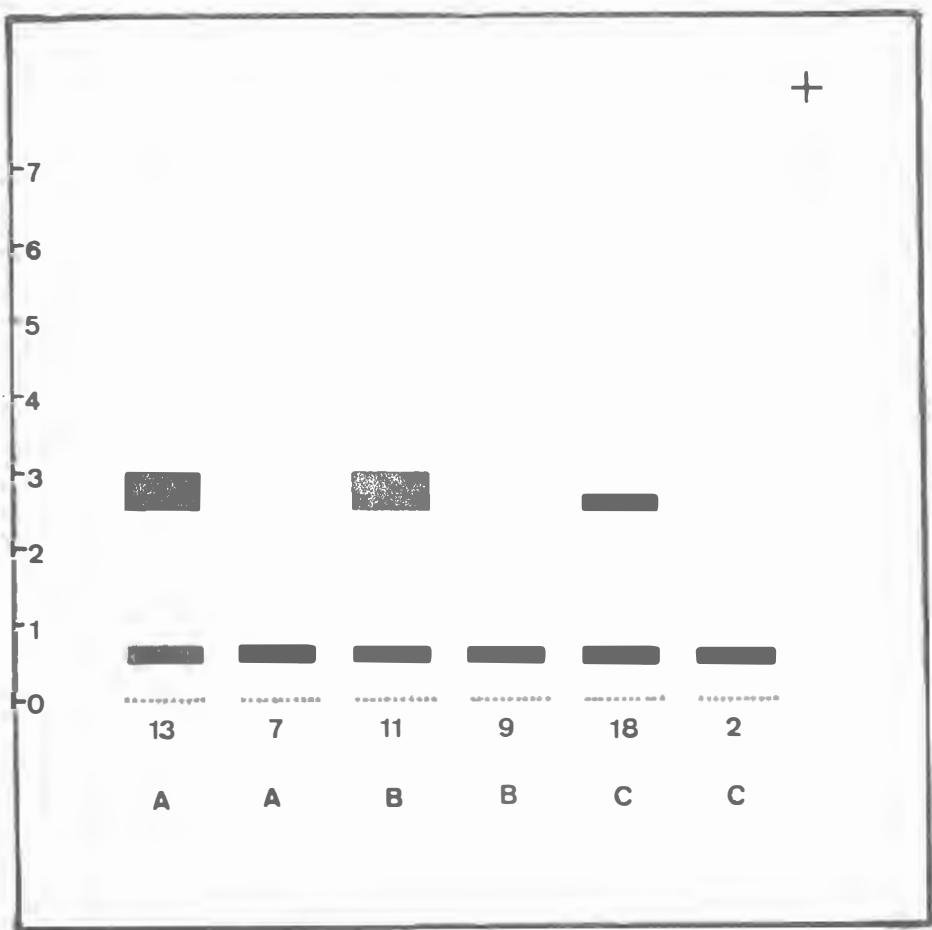


Figura 2. Esquema dos perfis eletroforeticos de ADH na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforetica).

A - Machos; B - Fêmeas; C - 5º Larvas.

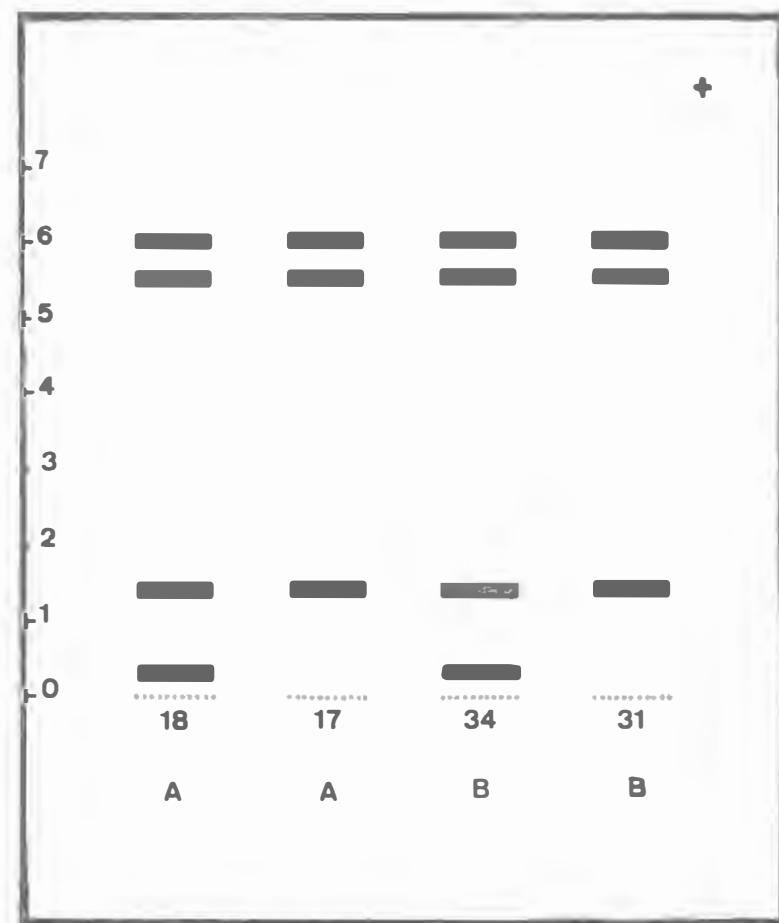


Figura 3. Esquema dos perfis eletroforéticos de ADH na hemolinfa de *T. infestans*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

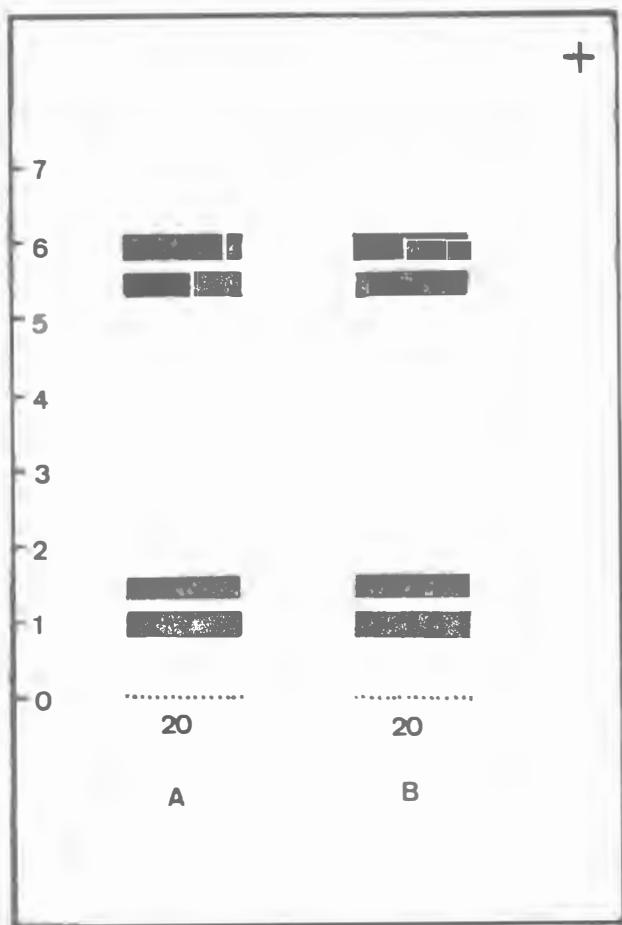


Figura 4. Esquema dos perfis eletroforéticos de GAL.DH na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

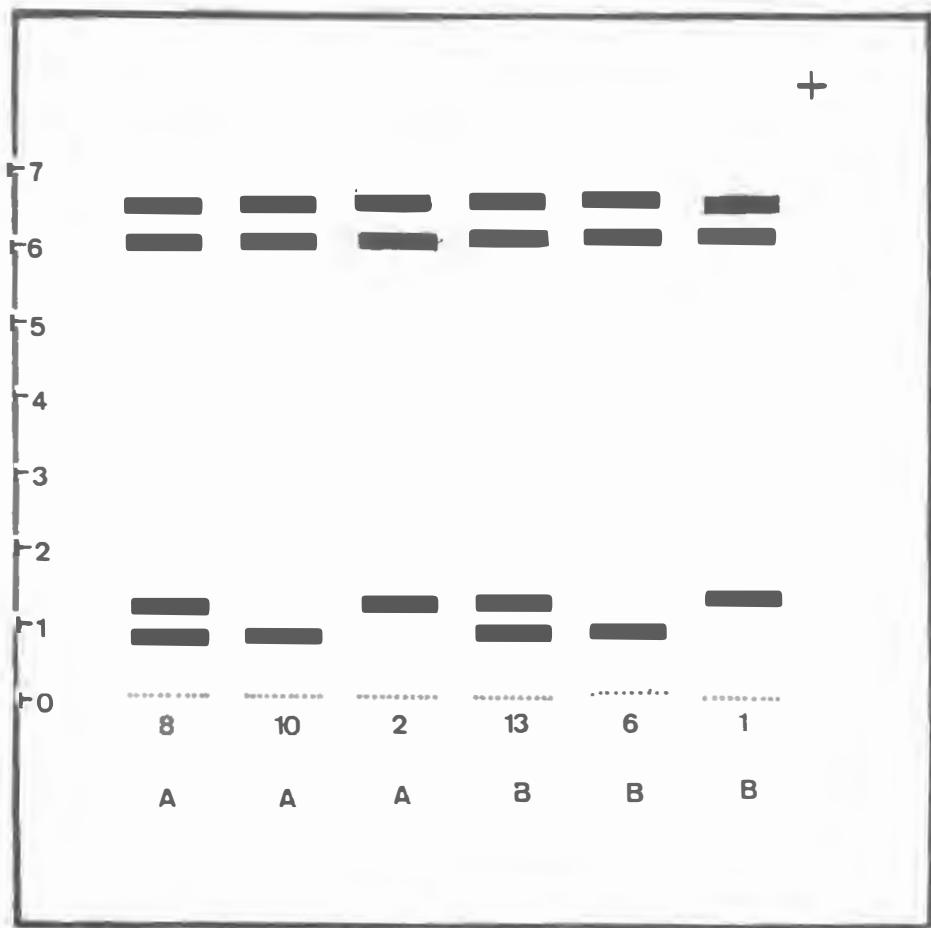


Figura 5. Esquema dos perfis eletroforéticos de SOR.DH na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

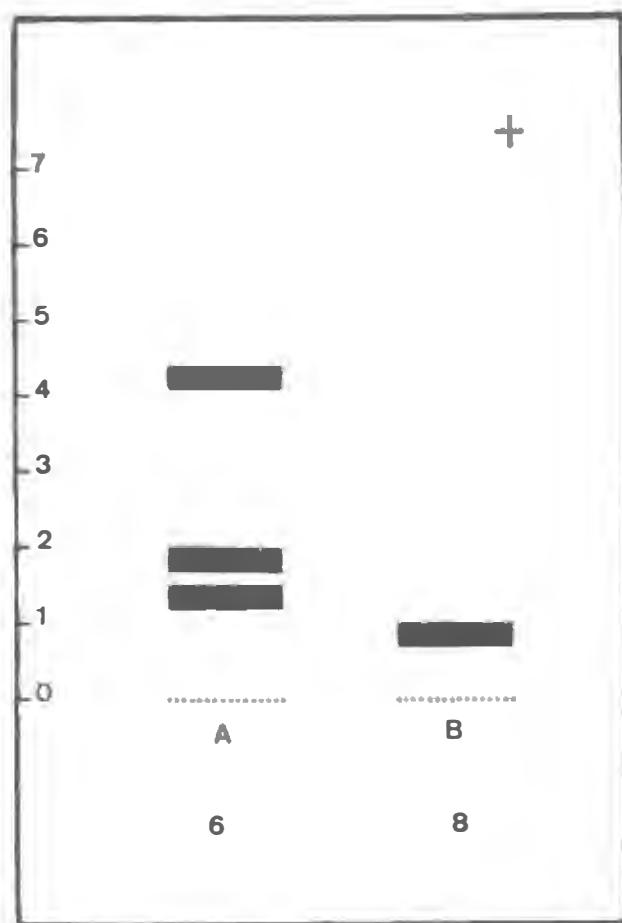


Figura 6. Esquema dos perfis eletroforéticos de MDH da hemolinfa de A - *Triatoma sordida* e B - *Triatoma platensis*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

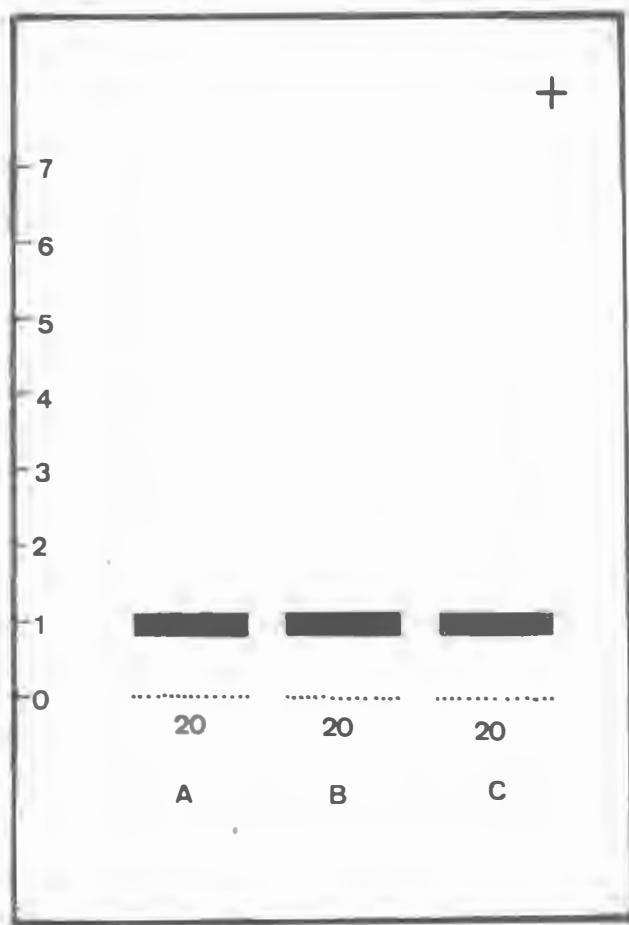


Figura 7. Esquema dos perfis eletroforéticos de IPO na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada padrão, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas; C - 5º Larvas.

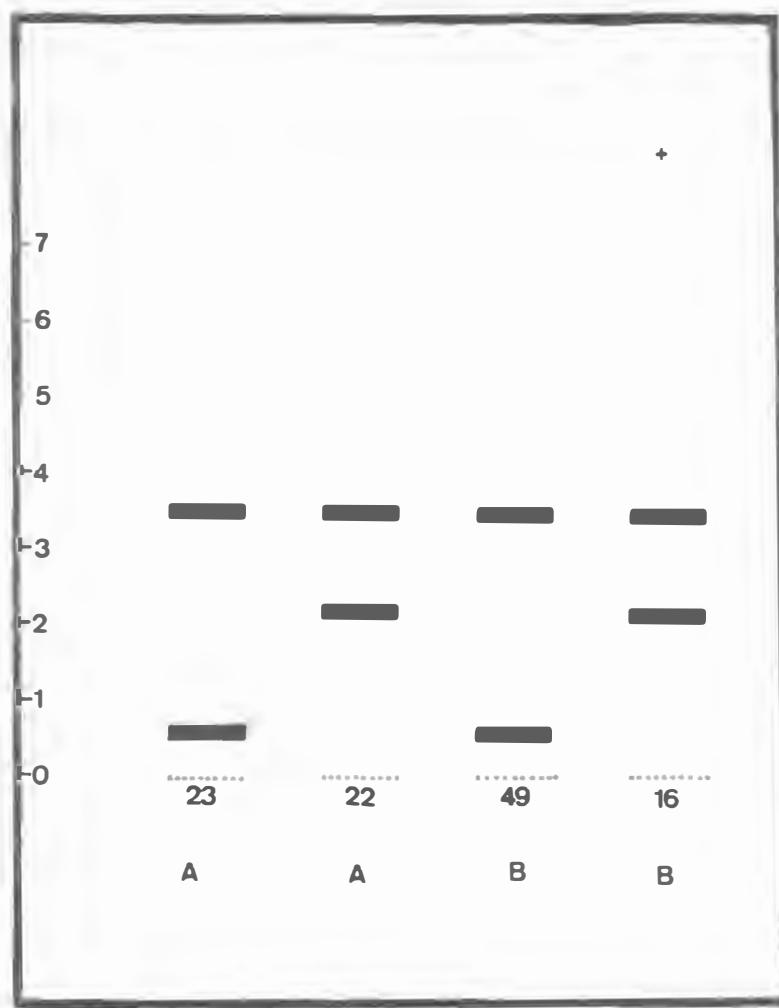


Figura 8. Esquema dos perfis eletroforéticos de IPO na hemolinfa de *T. infestans*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

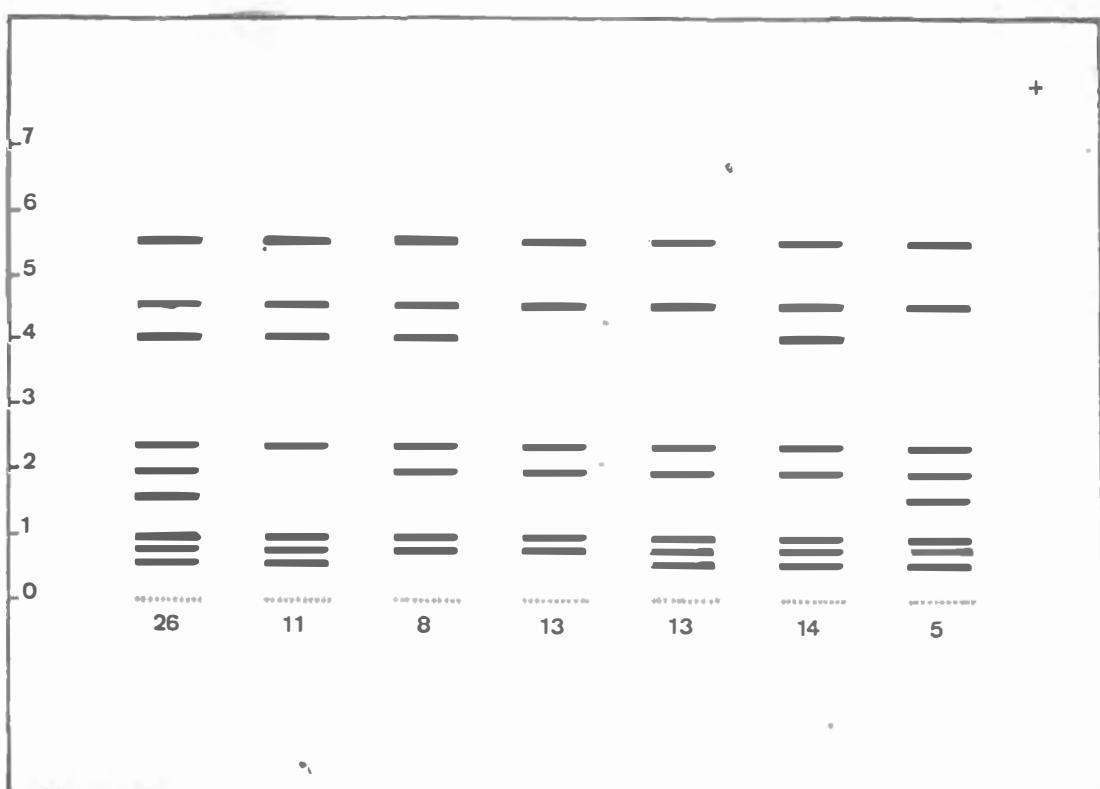


Figura 9. Esquema dos perfis eletroforéticos de IPO na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

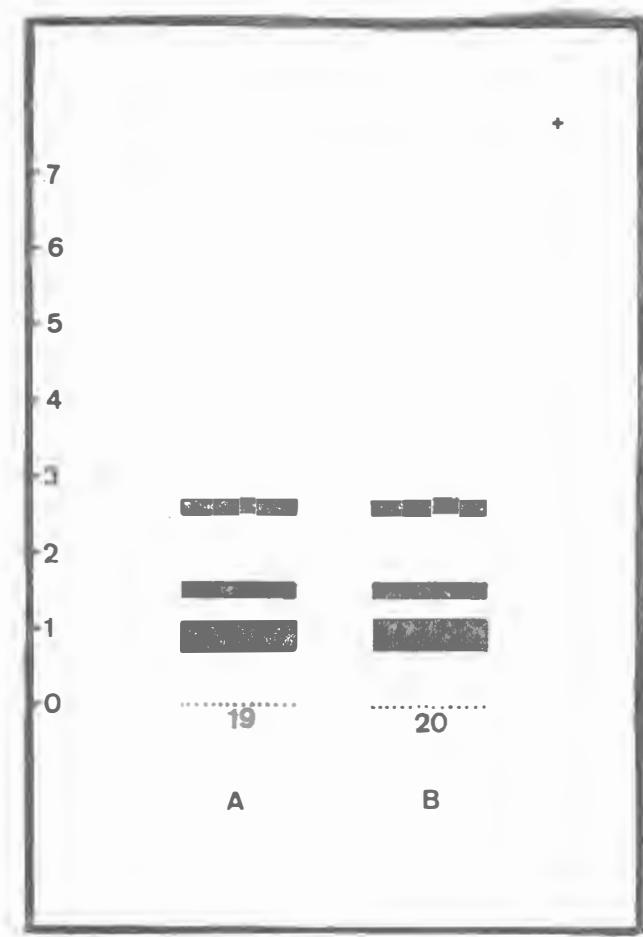


Figura 10. Esquema dos perfis eletroforéticos de AcPh na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

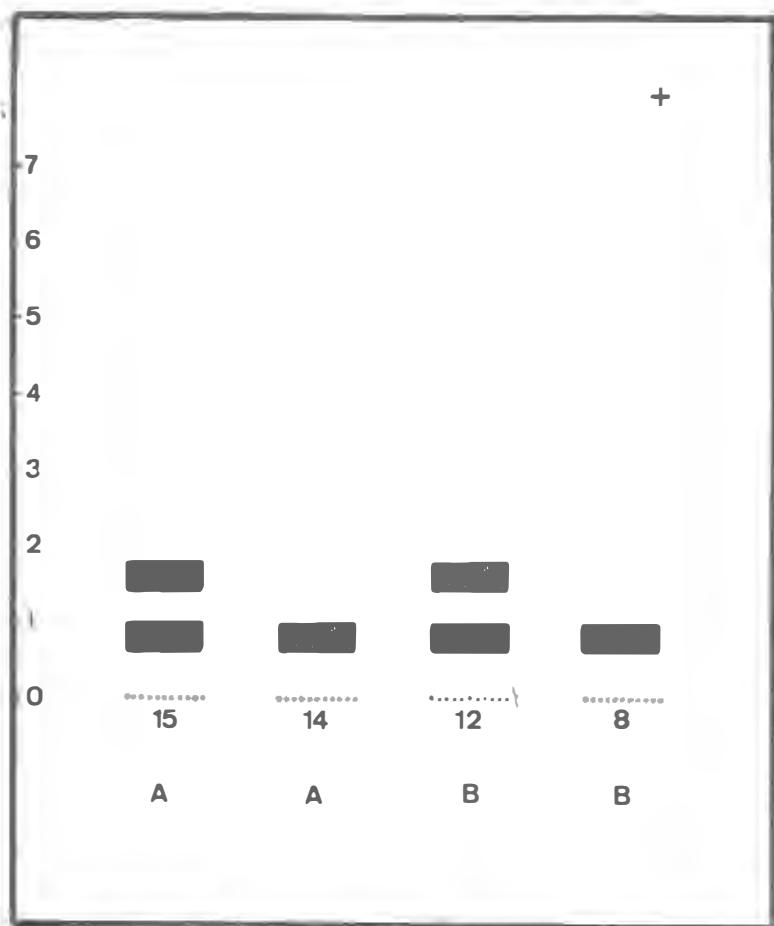


Figura 11. Esquema dos perfis eletroforéticos de AiPh na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

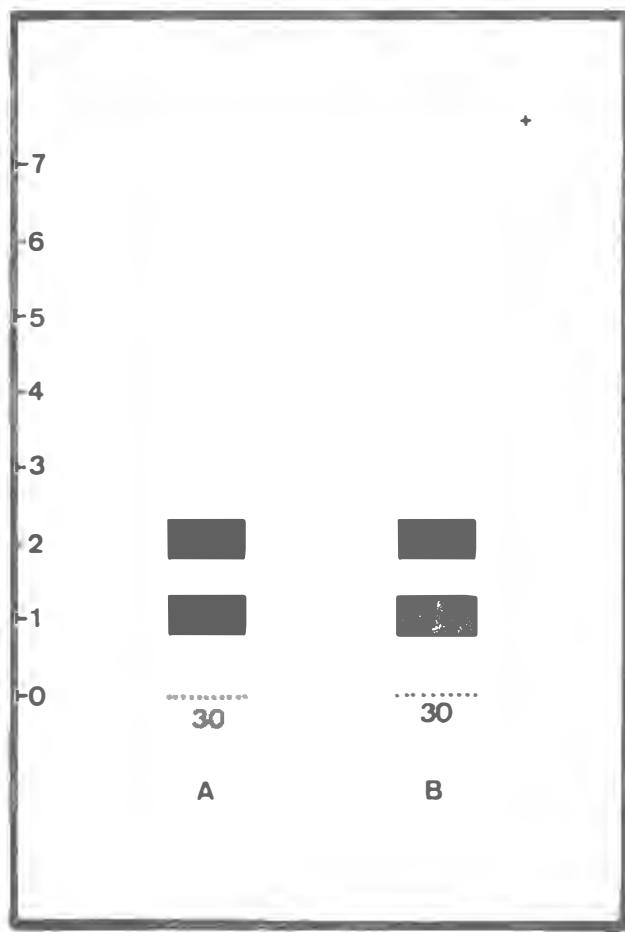


Figura 12. Esquema dos perfis eletroforéticos de GOT na hemolinfa de *R. prolíxus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

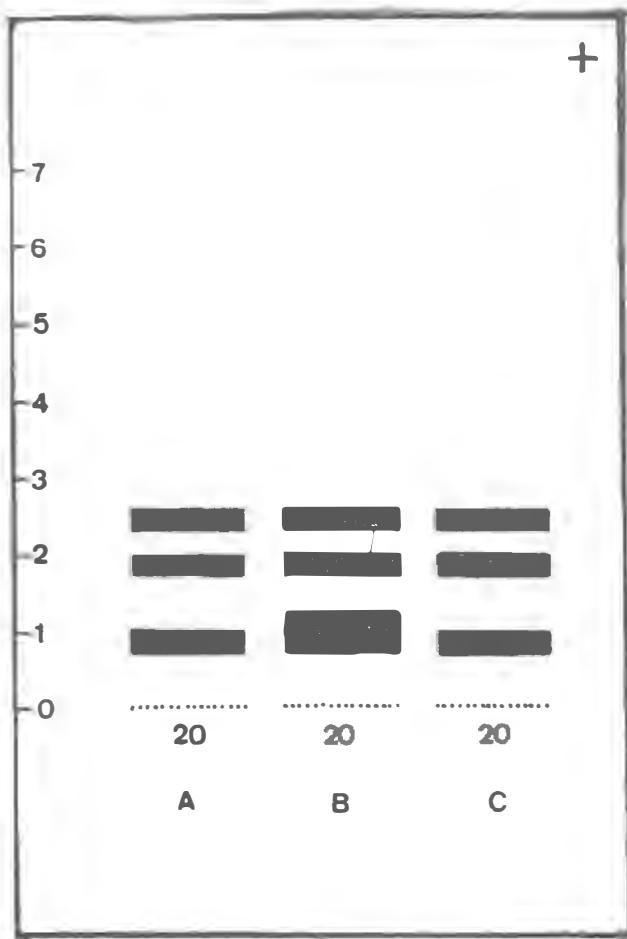


Figura 13. Esquema dos perfis eletroforéticos de GOT na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas; C - 5º Larvas.

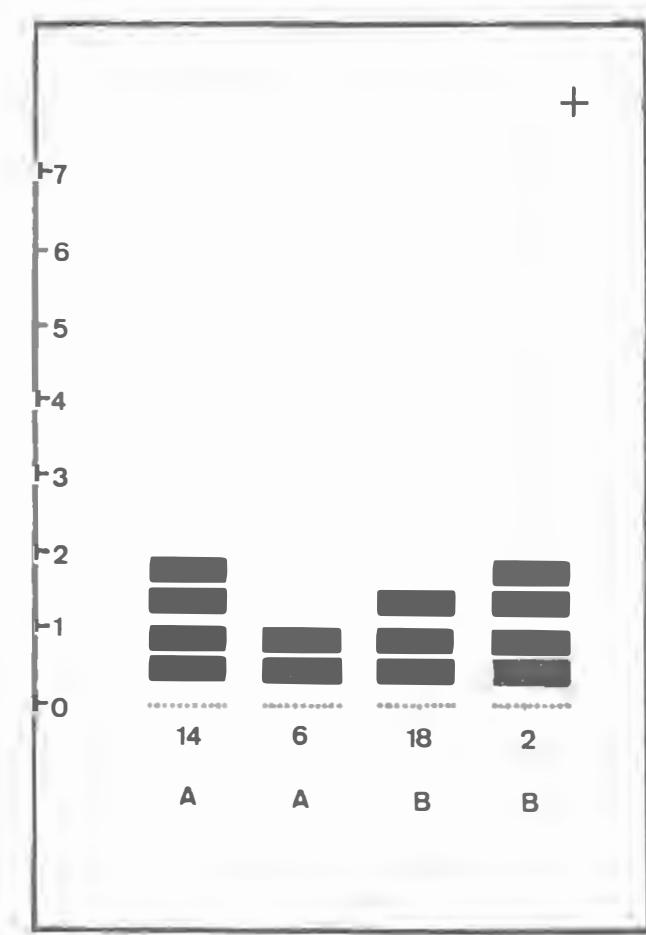


Figura 14. Esquema dos perfis eletroforéticos de old-LAP na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

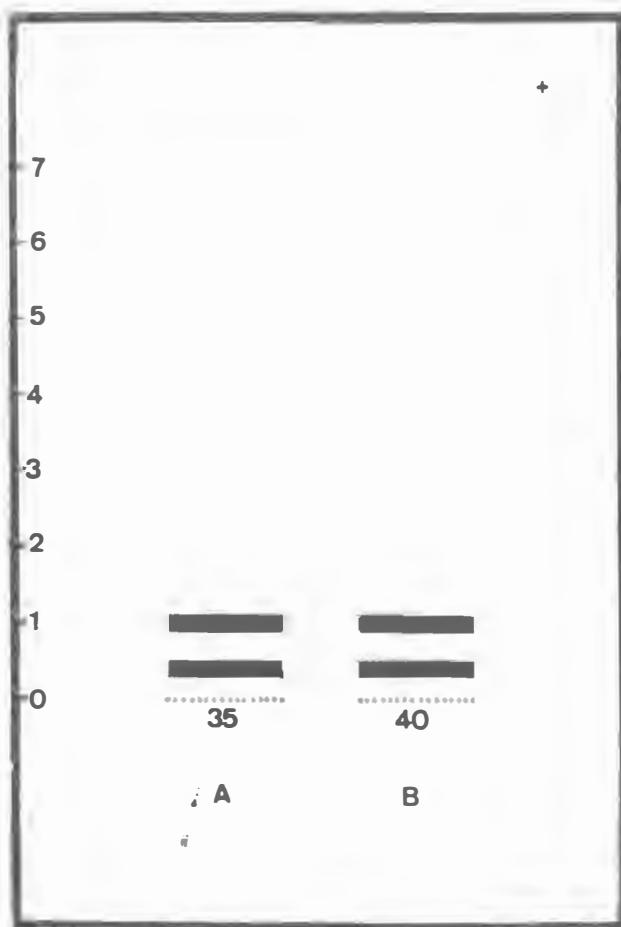


Figura 15. Esquema dos perfis eletroforéticos de old-LAP na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos B - Fêmeas.

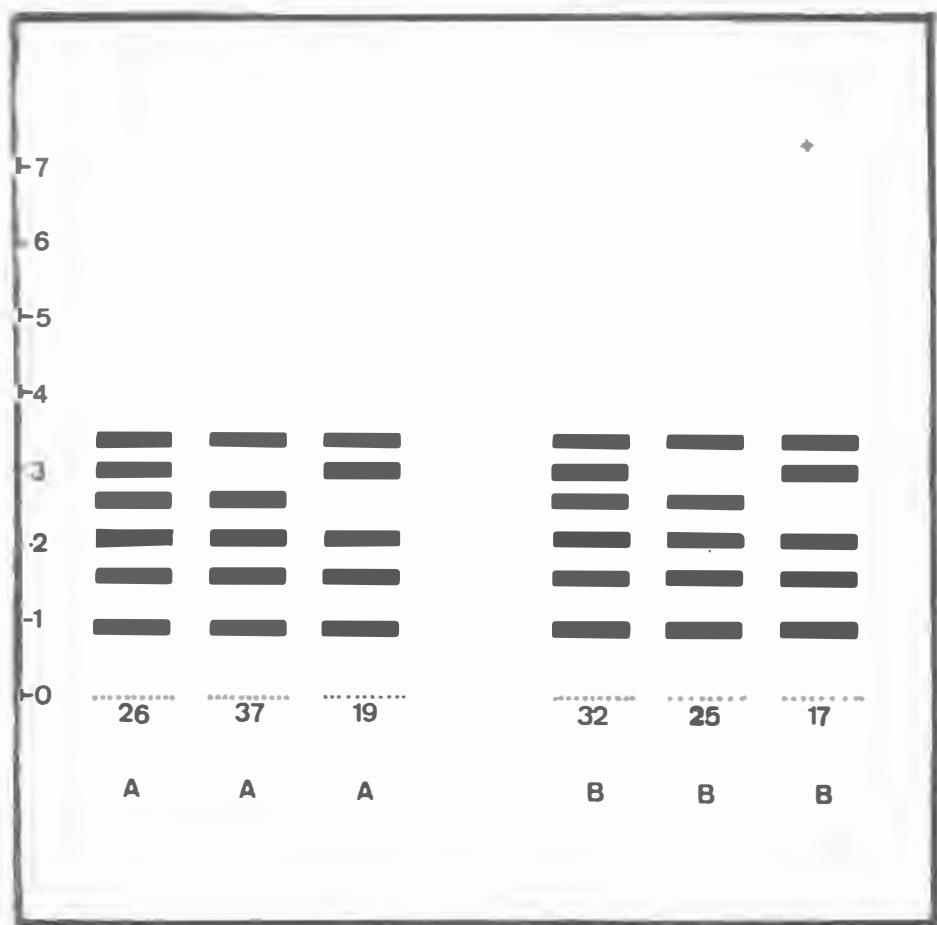


Figura 16. Esquema dos perfis eletroforéticos de new-LAP na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

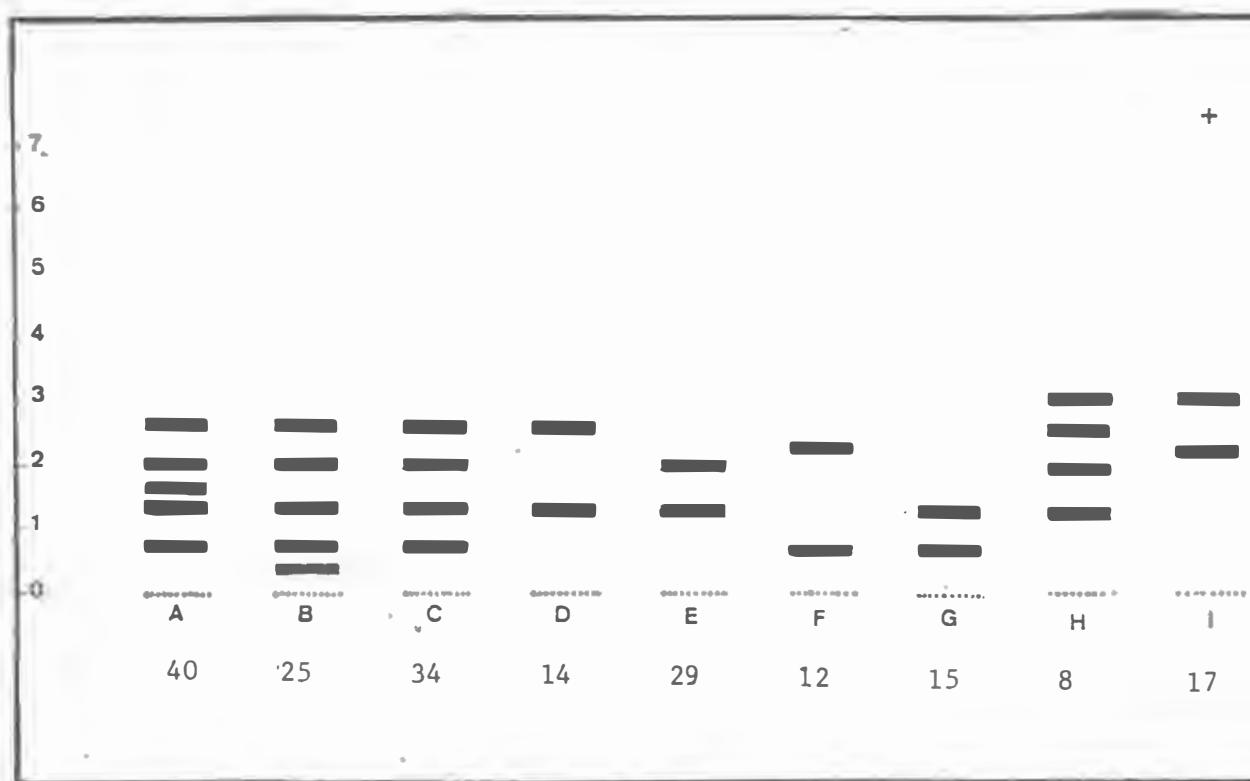


Figura 17. Esquema dos perfis eletroforéticos de alfa Est. na hemolinfa de *Triatoma* sp. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - *T. infestans*; B - *T. sordida*; C - *T. dimidiata*; D - *T. arthurneivai*; E - *T. brasiliensis*; F - *T. pseudomaculata*; G - *T. macromelasoma*; H - *T. plautensis*; I - *T. vitticeps*.

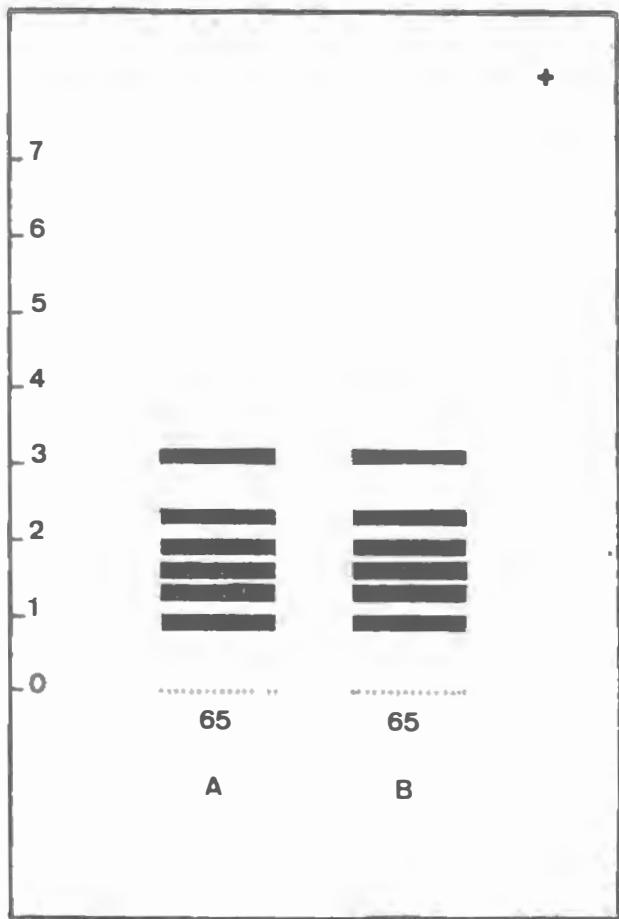


Figura 18. Esquema dos perfis eletroforéticos de alfa e beta EST na hemolinfa de *T. infestans*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

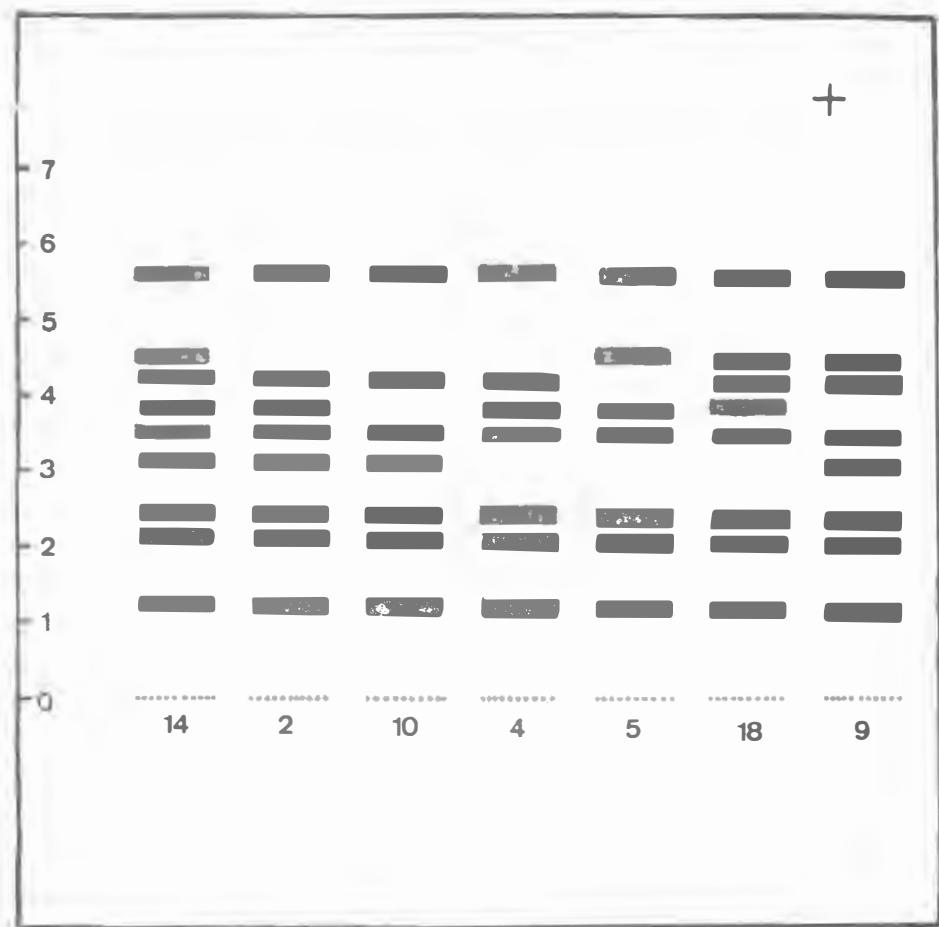


Figura 19. Esquema dos perfis eletroforéticos de alfa e beta EST na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

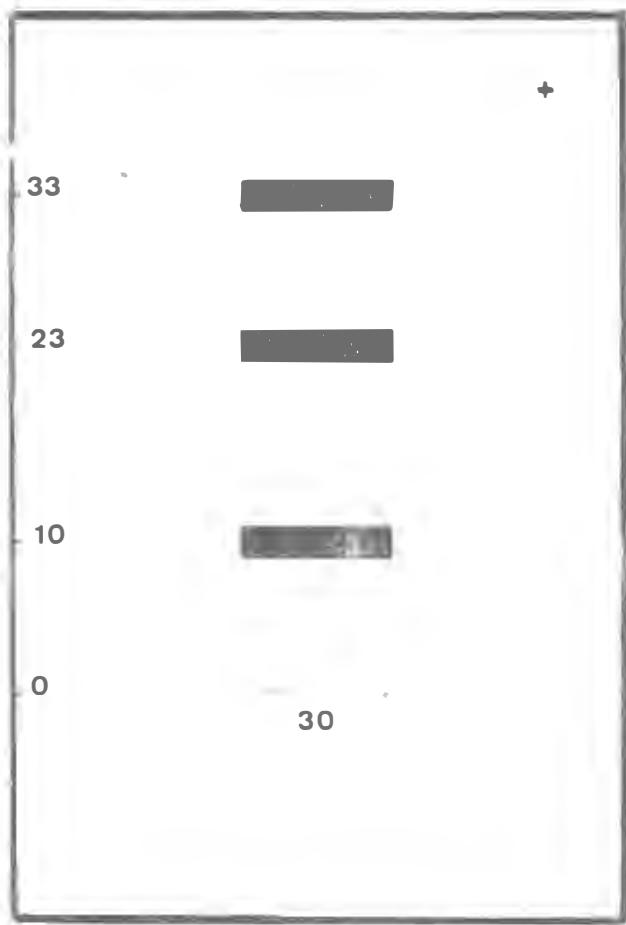


Figura 20. Esquema do perfil eletroforético de alfa EST na he molinfa de *R. neglectus*. A linha pontilhada repre senta o local de aplicação das amostras, o número abaixo mostra a quantidade de insetos encontrados neste padrão, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referenci al da distância percorrida pelas faixas (Mobilida de Eletroforética).

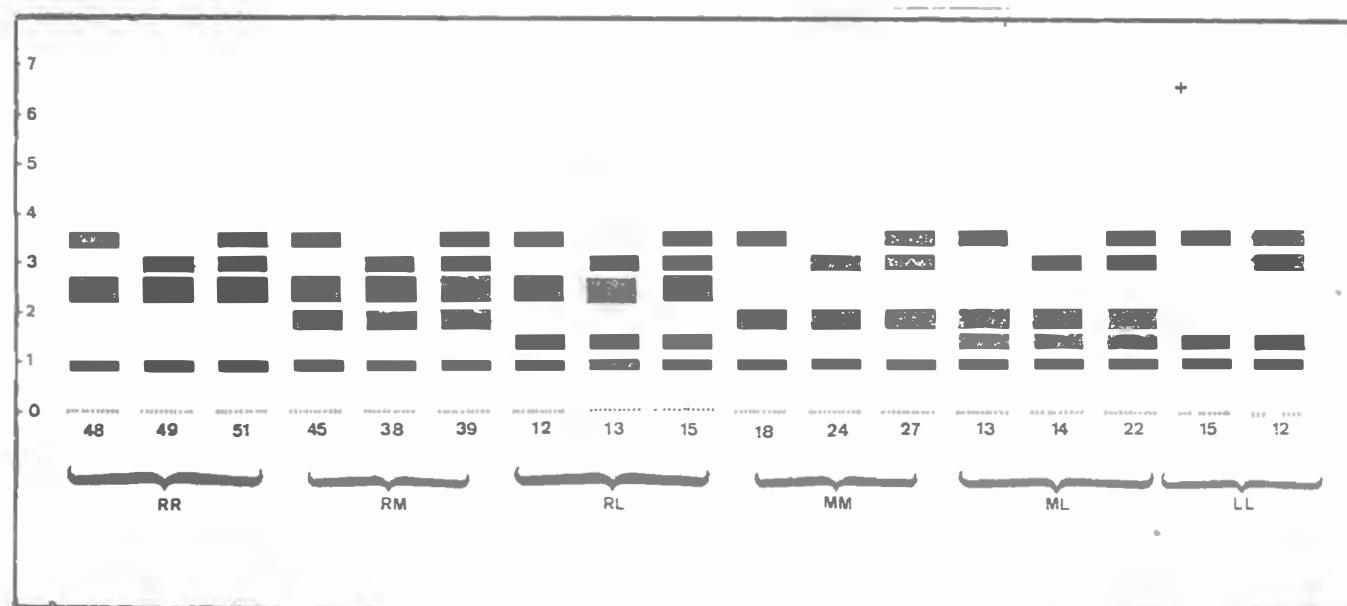


Figura 21. Esquema dos perfis eletroforéticos de alfa e beta EST na hemolinfa de *R. prolíxus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

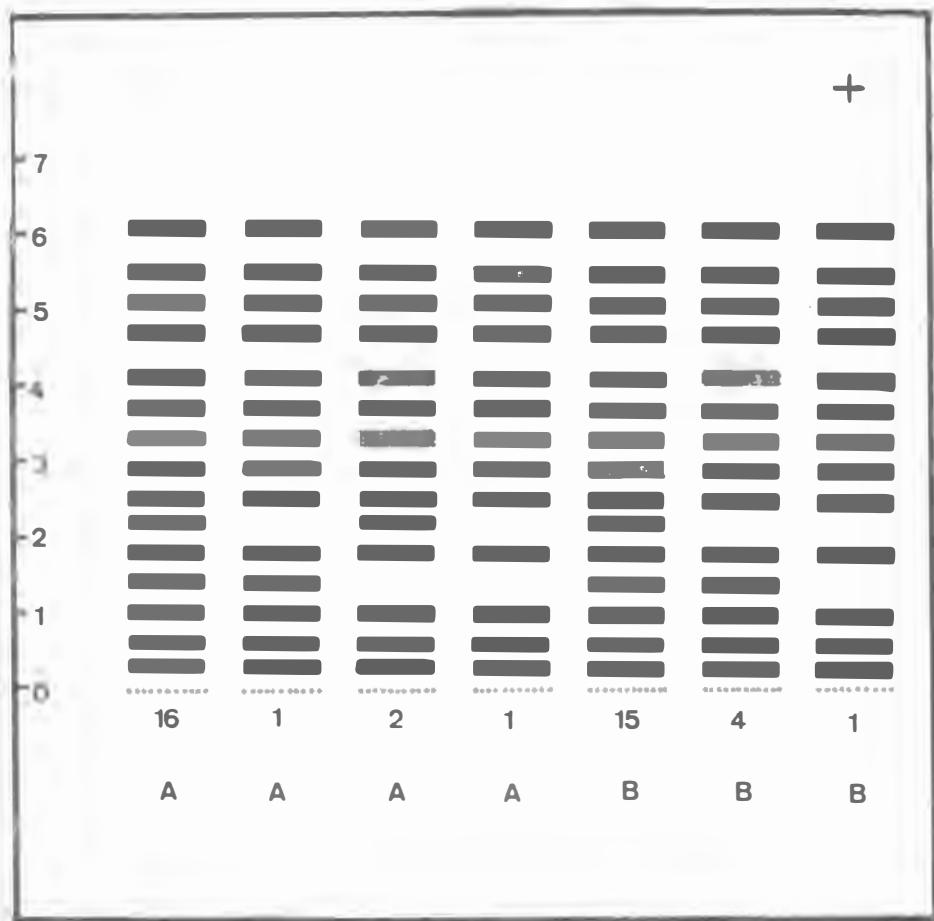


Figura .

Figura 1. Padrões de Isoelectroforese de Proteínas Gerais na hemolinfa de *P. megistus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

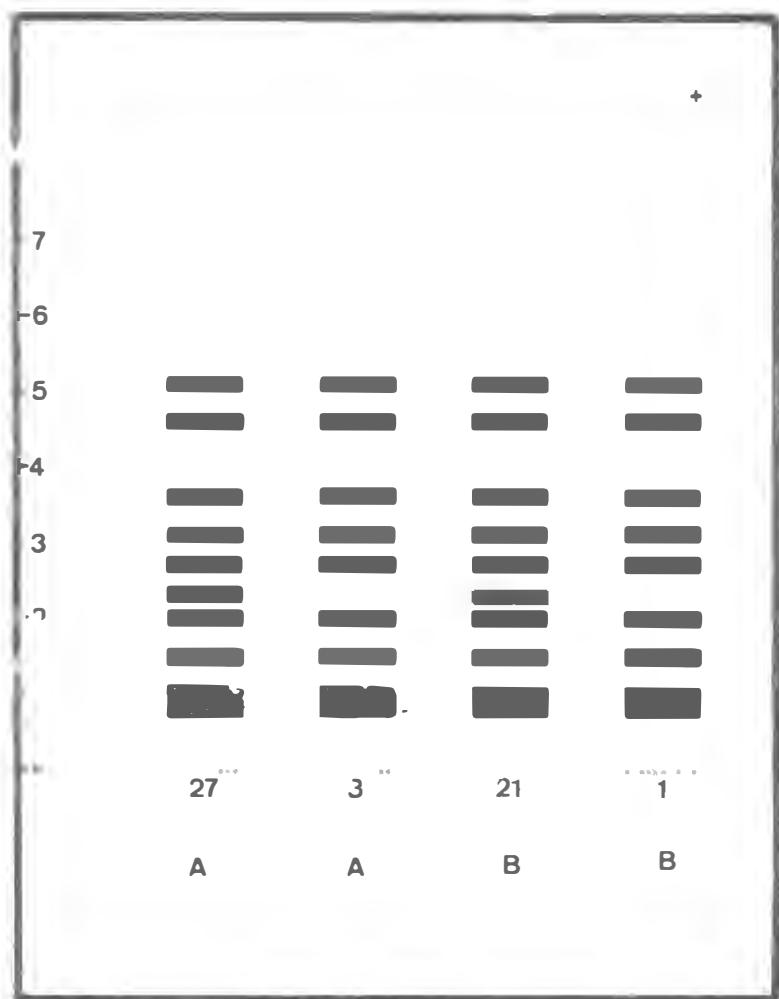


Figura 23. Esquema dos perfis eletroforéticos de Proteínas Gerais na hemolinfa de *R. prolixus*. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - Machos; B - Fêmeas.

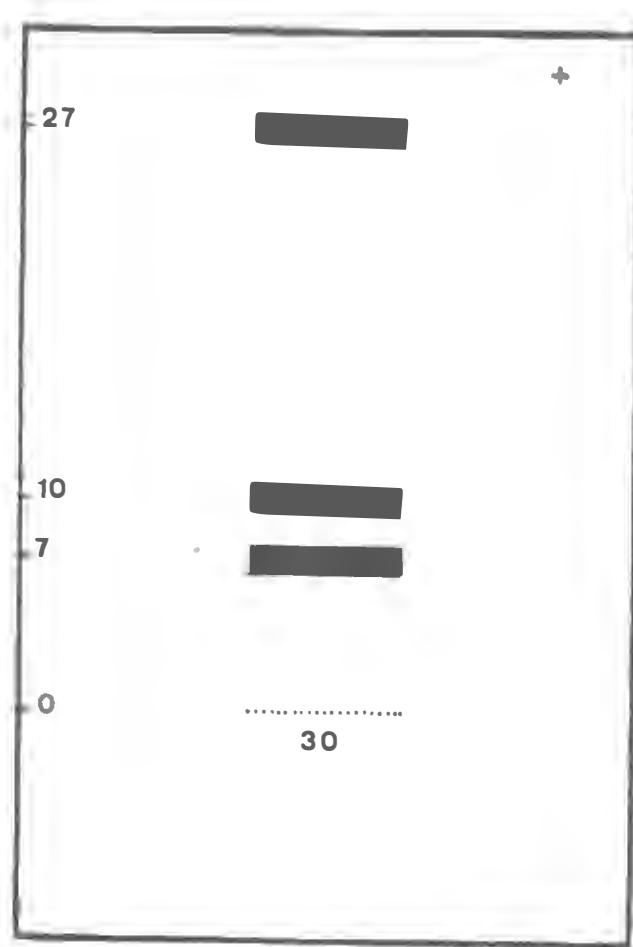


Figura 24. Esquema do perfil eletroforético de Proteínas Gerais na hemolinfa de *R. neglectus*. A linha pontilhada representa o local de aplicação das amostras, o número abaixo mostra a quantidade de insetos encontrada neste padrão, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

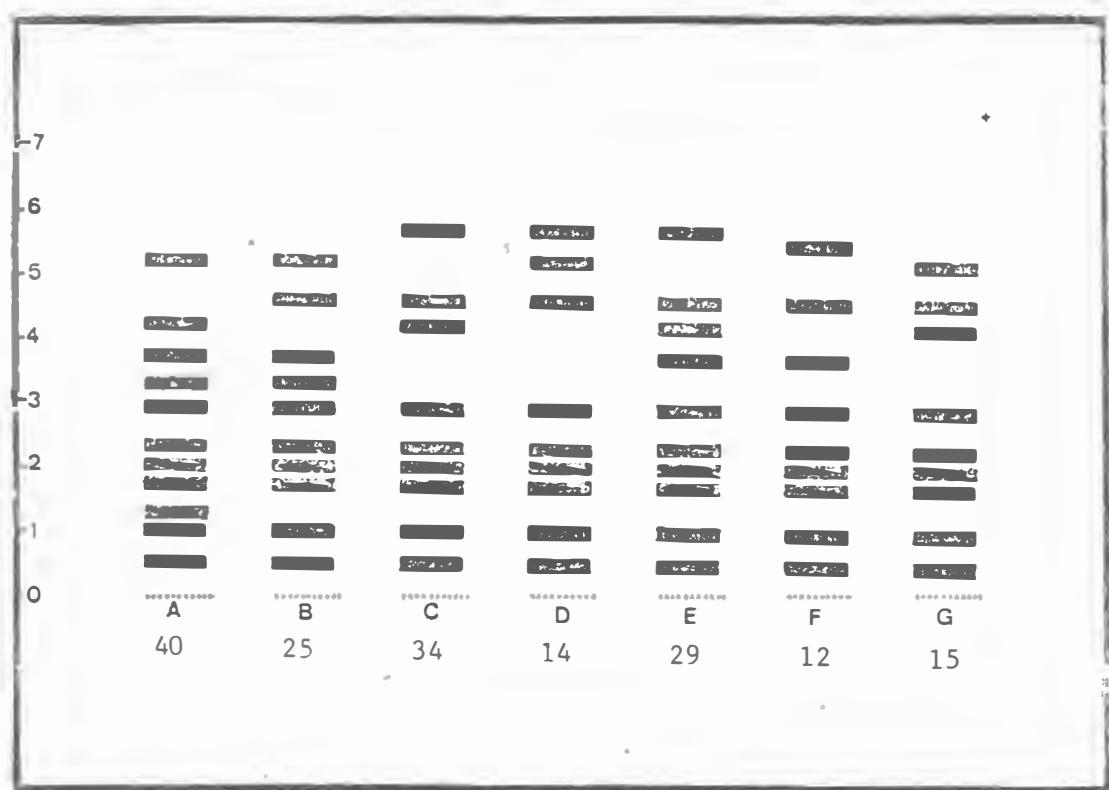


Figura 25 Esquema dos perfis eletroforéticos de Proteínas Gerais na hemolinfa de *Triatoma* sp.. As linhas pontilhadas representam os locais de aplicação das amostras, os números abaixo mostram a quantidade de insetos encontrados em cada um dos padrões, e as faixas compactas representam as bandas isoenzimáticas. A escala em cm é referencial da distância percorrida pelas faixas (Mobilidade Eletroforética).

A - *T. infestans*; B - *T. sordida*; C - *T. dimidiata*
 D - *T. arthurneivai*; E - *T. brasiliensis*; F -
T. pseudomaculata; G - *T. macromelasma*.