

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA

Espécies de *Trypanosoma* no Gambá-de-Orelha-Branca (*Didelphis albiventris*) em Fragmentos Florestais de Campo Grande/MS Com Diferentes Graus de Conservação

Autor: Wesley Arruda Gimenes Nantes

Orientadora: Ana Maria Jansen

Co-orientador: Heitor Miraglia Herrera

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA, no Programa de Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco - Área de concentração: "Sustentabilidade Ambiental e Produtiva" Aplicada à Saúde, Ambiente e Sustentabilidade".

Campo Grande
Mato Grosso do Sul
Fevereiro – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

N191e Nantes, Wesley Arruda Gimenes
Espécies de trypanosoma no gambá-de-orelha-branca
(didelphis albiventris) em fragmentos florestais de
Campo Grande/MS : com diferentes graus de conservação
/ Wesley Arruda Gimenes Nantes; orientadora Ana Maria
Jansen; coorientador Heitor Miraglia Herrera.-- 2019.
61 f.: il.; 30 cm

Dissertação (mestrado em ciências ambientais e sustentabilidade
agropecuária) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo
Grande, 2019

1. Marsupial - Campo Grande (MS). 2. Fragmento florestal
urbano. 3. Tripanossomatídeo. I.Jansen, Ana Maria.
II.Herrera, Heitor Miraglia. III. Título.

CDD: 599.2



UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
Inspira o futuro

Interações entre *Trypanosoma ssp.* e o Gambá-de-Orelha-Branca (*Didelphis albiventris*) em Fragmentos Florestais na Cidade de Campo Grande, MS

Autor: Wesley Arruda Gimenes Nantes

Orientador(a): Profa. Dra. Ana Maria Jansen

Coorientador: Prof. Dr. Heitor Miraglia Herrera

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária

Área de Concentração: Sustentabilidade Ambiental e Produtiva

APROVADO em 31 de janeiro de 2019.

Profa. Dra. Ana Maria Jansen - UCDB

Prof. Dr. Heitor Miraglia Herrera - UCDB

Profa. Dra. Grasiela Edith de Oliveira Porfírio - UCDB

Profa. Dra. Maria Cláudia da Silva

Prof. Dr. Paulo Henrique Duarte Cançado - EMBRAPA

MISSÃO SALESIANA DE MATO GROSSO - UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
Av. Tamandaré, 6000 - Jardim Seminário - CEP: 79117-900 - CAMPO GRANDE - MS - BRASIL
CNPJ/MF: 03.226.149/0015-87 - Fone: 55 67 3312-3300 - Fax: 55 67 3312-3301 - www.ucdb.br

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Margarida e Eduardo pela educação, amor e esforço para que cada passo da minha vida se tornasse realidade e ao meu padrasto Luciano por todo apoio e carinho. À minha companheira Livia pelo amor, apoio e compreensão nessa rotina e suporte nos dias difíceis; Ao meu irmão Wilker que está comigo sempre no meu coração. À minha família pelo apoio e momentos de descontração durante essa jornada, especialmente às minhas tias Rosa e Bete; Aos meus amigos de dentro e fora da vida acadêmica, especialmente Filipe, Gabriel, Wanessa, Grasi, Jaire, Andreza, Breno, Kalil, Felipe, Paulo;

Aos meus orientadores, Dra. Ana Maria Jansen e Dr. Heitor Miraglia Herrera, por todo trabalho e dedicação investidos em mim e nesse manuscrito, pela paciência e pelas horas extras em casa e via Skype;

À Dra. Paula Helena Santa Rita que me apresentou ao Dr. Heitor Herrera e me incentivou a seguir a carreira acadêmica;

À proprietária Eny (Chácara Coqueiral), aos gestores Osmar (Anhanduí), Ercília (Polonês), Paulinho (Instituto São Vicente), IMASUL (Parque Estadual do Prosa) e ao professor Dr. Luiz Gustavo pelo auxílio de campo na UFMS;

À Dra. Carina Elisei e sua aluna Jenyfer pelo auxílio na parte laboratorial;

Ao LabTrip (IOC/Fiocruz-RJ), especialmente Fernanda, Marina e Bruno;

Ao Dr. Flávio Macedo, Thomas e Thiago pelo auxílio com a parte da botânica;

Aos professores e ao Programa de Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária, bem como à Universidade Católica Dom Bosco;

Ao Governo Federal e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	4
LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	13
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
METODOLOGIA	27
RESULTADO	32
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	42

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Distribuição das armadilhas, quantidade, tipo e dias amostrados na área.	28
Tabela 2. Classificação dos fragmentos florestais amostrados em Campo Grande/MS quanto ao estado de conservação por meio da quantidade de espécies exóticas, riqueza de pequenos mamíferos não-voadores e índice de diversidade.	33
Tabela 3. Diversidade e abundância relativa (AR) de pequenos mamíferos capturados em fragmentos florestais urbanos de Campo Grande/MS entre maio e dezembro de 2017.	33
Tabela 4. Espécies de <i>Trypanosoma</i> e estado de conservação dos fragmentos florestais urbanos de Campo Grande, MS.	35

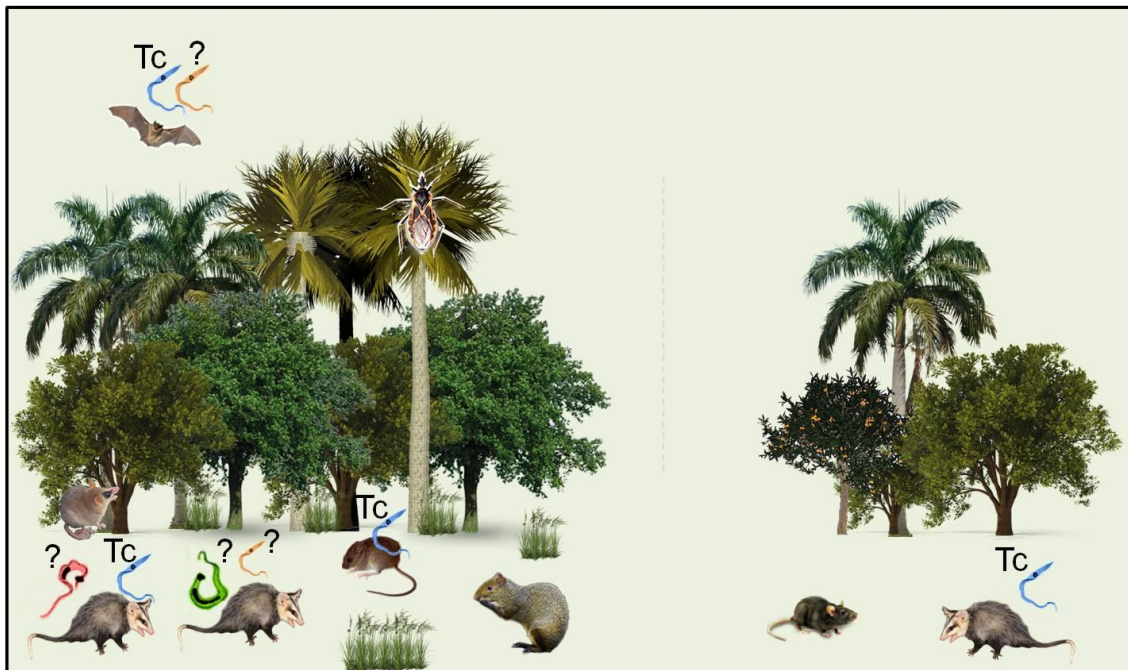
LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Principais motivações para a conservação da biodiversidade urbana (Adaptado de DEARBORN; KARK, 2010).	16
Figura 2. Indivíduo jovem de <i>D. albiventris</i> (à esquerda) e marsúpio de outro indivíduo com filhotes em estágio de desenvolvimento (à direita). Fotos: Wesley Nantes.	18
Figura 3. Árvore filogenética representativa do clado <i>T. cruzi</i> (DARIO, 2017a).	22
Figura 4. Ciclo de transmissão por <i>Trypanosoma cruzi</i> nos hospedeiros vertebrados e no vetor triatomíneo (adaptado de CDC, 2017) – (1) formas tripomastigotas metacíclicas presentes no inseto-vetor, (2) forma amastigota infectando células do hospedeiro vertebrado, (3) formas tripomastigotas sanguíneas, (4) formas epimastigotas presentes no insetor-vetor.	24
Figura 5. Análise filogenética da sequência de <i>Trypanosoma</i> sp. (DID) no clado <i>T. cruzi</i> , encontrado em um indivíduo de <i>D. albiventris</i> capturado na Chácara Coqueiral, Campo Grande/MS em outubro de 2017.	35

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético	EDTA
Acre	AC
Centro de Educação Ambiental Polonês	POLO
Chácara Coqueiral	COQUE
Conservado	CO
Deoxyribonucleic Acid	DNA
Discrete Typing Unit	DTU
DNA do Cinetoplasto	kDNA
DNA Ribosomal	rDNA
Doença de Chagas	DC
Instituto São Vicente	ISV
Liver Infusion Tryptose	LIT
Mato Grosso do Sul	MS
Menos Conservado	MC
Multilocus Enzyme Electrophoresis	MLEE
Nested Polymerase Chain Reaction	nPCR
Novy MCNeal Nicole	NNN
Nova Unidade Molecular Taxonômica	NUMT
nested Polymerase Chain Reaction	nPCR
Parque Ecológico Anhanduí	ANHAN
Parque Estadual do Prosa	PEP
Polymerase Chain Reaction	PCR
Randomly Amplified Polymorphic DNA	RAPD
Reação da Imunofluorescência Indireta	RIFI
RNA Ribossomal	rRNA
Rio Grande do Sul	RS
Santa Catarina	SC
Sequência de Trypanosoma sp.	DID
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul	UFMS
Zimodemas 1	Z1
Zimodemas 2	Z2
Zimodemas 3	Z3

Espécies de *Trypanosoma* no Gambá-de-Orelha-Branca (*Didelphis albiventris*) em Fragmentos Florestais de Campo Grande/MS Com Diferentes Graus de Conservação



RESUMO

A expansão urbana é a forma de modificação da paisagem que mais impacta a diversidade biológica em todo o mundo por fragmentar paisagens, resultando em perda de habitat, simplificação de fauna, mudanças no comportamento dos animais e alterando a dinâmica dos ciclos de transmissão de parasitas. Devido a sua grande adaptabilidade, o gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) é comumente encontrado em fragmentos florestais urbanos. Marsupiais são hospedeiros antigos de espécies de *Trypanosoma* e *D. albiventris* é considerado reservatório de *Trypanosoma cruzi*. O presente estudo teve como objetivo avaliar a riqueza de *Trypanosoma* spp. no gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*) em fragmentos florestais urbanos de Campo Grande, MS com diferentes graus de conservação. Nossa hipótese é de que em fragmentos mais conservados circula maior riqueza de *Trypanosoma* spp. Para testar nossa hipótese foi inicialmente realizado um levantamento de árvores e arbustos e captura de pequenos mamíferos não-voadores em seis fragmentos para classificação das áreas quanto o estado de conservação. Foram coletados sangue e secreção da glândula de cheiro de gambá para cultura em meio axênico (NNN/LIT) com a finalidade de detecção e isolamento do parasita. O diagnóstico molecular de *Trypanosoma* spp. foi realizado a partir de DNA extraído de sangue total com reações de PCR direcionadas para Trypanosomatidae (18S), *Trypanosoma cruzi* (24S), *Trypanosoma rangeli* e *Trypanosoma evansi*. Também foi realizada a clonagem de produto positivo na PCR para o gene 18S. O diagnóstico sorológico da infecção por *T. cruzi* foi realizada utilizando-se da reação de imunofluorescência indireta a partir de soro coletado. Entre maio e dezembro de 2017 foi capturado um total de 75 pequenos mamíferos não-voadores, dos quais 50 foram *D. albiventris*. Todas as culturas foram negativas, sinalizando uma baixa parasitemia. Apenas dois gambás foram soropositivos, mas a infecção por *T. cruzi* foi detectada em 30% dos gambás por PCR. Além disso, foi detectado *Trypanosoma lainsoni* e a uma Nova Unidade Molecular Taxonômica (NUMT), nomeada de *Trypanosoma* sp. DID., em infecções mistas com *T. cruzi*. *Didelphis albiventris* parasitado por *T. cruzi* foi reportado em fragmentos conservados e menos conservados, enquanto que *T. lainsoni* e a NUMT foram exclusivas de fragmentos conservados. Nossas observações mostram que mesmo em fragmentos urbanos existe a transmissão de *Trypanosoma* spp. e que as diferentes abordagens metodológicas foram fundamentais para os registros. A abundância expressiva de gambás e ratos sugere que todos os fragmentos apresentaram algum grau de perturbação. A riqueza de *Trypanosoma* spp. pode estar relacionada com o estado de conservação dos fragmentos analisados.

Palavras-chave: tripanosomatídeos, marsupiais, urbanização.

ABSTRACT

Urban sprawl is the landscape modification form that most impacts biological diversity worldwide by fragmenting landscapes, resulting in loss of habitat, simplification of fauna, changes in animal behavior and altering the dynamics of parasite transmission cycles. Due to its great adaptability, the white-ear possum (*Didelphis albiventris*) is commonly found in urban forest fragments. Marsupials are ancient hosts of *Trypanosoma* species and *D. albiventris* is considered reservoir of *Trypanosoma cruzi*. The present study aimed to evaluate the richness of *Trypanosoma* spp. in the white-ear possum (*D. albiventris*) in urban forest fragments of Campo Grande, MS with different degrees of conservation. Our hypothesis is that in more conserved fragments circulates greater richness of *Trypanosoma* spp. To test our hypothesis, we initially performed a survey of trees and shrubs and capture of small non-flying mammals in six fragments to classify the areas as the state of conservation. Blood and secretion of opossum's scent gland were collected for axenic (NNN / LIT) culture for the purpose of parasite detection and isolation. The molecular diagnosis of *Trypanosoma* spp. was carried out from DNA extracted from whole blood with PCR reactions directed to Trypanosomatidae (18S), *Trypanosoma cruzi* (24S), *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma evansi*. Cloning of positive product in the PCR for the 18S gene was also performed. The serological diagnostic of *T. cruzi* infection was performed using the indirect immunofluorescence reaction from collected serum. Between May and December 2017 a total of 75 small non-flying mammals were captured, of which 50 were *D. albiventris*. All cultures were negative, signaling a low parasitemia. Only two possums were seropositive, but *T. cruzi* infection was detected in 30% of the opossums by PCR. In addition, *Trypanosoma lainsoni* and a New Taxonomic Molecular Unit (NUMT), named *Trypanosoma* sp. DID., In mixed infections with *T. cruzi*. *Didelphis albiventris* parasitized by *T. cruzi* was reported in conserved and less conserved fragments, whereas *T. lainsoni* and NUMT were exclusive of conserved fragments. Our observations show that even in urban fragments there is transmission of *Trypanosoma* spp. and that different methodological approaches were critical to records. The expressive abundance of opossums and rats suggests that all fragments exhibited some degree of disturbance. The richness of *Trypanosoma* spp. may be related to the state of conservation of the fragments analyzed.

Key words: trypanosomatids, marsupials, urbanization.

INTRODUÇÃO

A perturbação ambiental de origem antrópica resulta em perda de habitats, favorecendo espécies generalistas e selecionando negativamente espécies especialistas (McDONALD; URBAN, 2006; McKINNEY, 2006; DAR; RESHI, 2014). Ainda, a urbanização modifica fortemente a paisagem, com profundos reflexos na movimentação dos animais, estrutura genética populacional, bem como nas redes de transmissão de parasitas (FOUNTAIN-JONES et al., 2017). A fragmentação reduz a riqueza e abundância de espécies, resultando que as espécies adaptáveis aumentem em número (COSSON et al., 1999; TERBORGH et al., 2001; MEYER; KALKO, 2008).

Nesse sentido, o marsupial *Didelphis albiventris* é descrito como uma espécie ecologicamente generalista, com alto grau de sinantropia, o que facilita seu contato com populações humanas (OLIFIERS et al., 2005; CÁCERES; MONTEIRO-FILHO, 2006; CRUZ-SALAZAR et al., 2014). Ainda, *D. albiventris* ocupa diferentes habitats, sendo encontrado tanto no extrato arbóreo/arbustivo como no solo e também nos habitats artificiais. Além de ser considerado um dos mais antigos hospedeiros de *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatida, Trypanosomatidae) (JANSEN et al., 1999), *Didelphis* spp. são hospedeiros de várias espécies de *Trypanosoma* (JANSEN et al., 2015, 2018), entretanto para *D. albiventris* que é uma espécie menos estudada, há citações da infecção apenas por *T. cruzi* e *Trypanosoma rangeli* (GURGEL-GONÇALVES et al., 2004; FERREIRA et al., 2010; JANSEN et al., 2015; JANSEN et al., 2018; ROMAN et al., 2018).

Trypanosoma cruzi, agente etiológico da Doença de Chagas (DC), é um parasito multi-hospedeiro, flagelado, digenético, pertencente à ordem Trypanosomatida, família Trypanosomatidae (DIAS, 2006; KAUFER et al., 2017). É capaz de infectar centenas de espécies de mamíferos, de oito ordens, transmitido por várias espécies de triatomíneos (família Reduviidae, subfamília Triatominae) em diferentes ambientes (NOIREAU et al., 2009; JANSEN et al., 2015). Sua ocorrência é descrita em todo o continente americano, desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina e o Chile (LLEWELLYN et al., 2009;

ZINGALES et al., 2012). Taxonomicamente, a espécie *T. cruzi* sensu lato está dividida em duas subespécies: *T. cruzi cruzi* (sensu strictu) e *T. cruzi marinkellei* (BAKER et al., 1978). *Trypanosoma cruzi* é um parasito geneticamente heterogêneo e os primeiros estudos para classificação bioquímica das subpopulações ocorreram na década de 70, quando foram descritos três grandes genótipos que foram nomeados Zimodemas 1, 2 e 3 (MILES et al., 1977, 1978, 1980). Na mesma época, estudando as diferentes características biológicas, (padrão de infecção em camundongos suíços ,três grupos foram reconhecidos e nomeados biodemas I, II e III (ANDRADE, 1974) que no entanto, apresentavam algumas diferenças com os zimodemas . Com a implementação de ferramentas moleculares de maior poder discriminativo, novas subpopulações foram descritas e esse conjunto foi organizado em sete genótipos, denominados como DTUs (*Discrete Typing Unit*): TcI – TcVI e Tcbat (MARCILI et al., 2009; ZINGALES et al., 2012).

O ciclo de vida de *T. cruzi* é complexo. O parasito apresenta morfologias diferentes de acordo com a fase do seu ciclo: amastigota nos hospedeiros vertebrados; epimastigota no inseto-vetor; e tripomastigota sanguínea e tripomastigota metacíclica em ambos (MORTARA et al., 2008; HERRERA et al., 2011; FERNANDES et al., 2012). Na natureza a infecção pode ocorrer por via vetorial/oral, vetorial/contaminativa, encontros antagonísticos, congênita, e, em adição, em humanos, transfusão sanguínea e transplante de órgãos (MARTINS et al., 2012; LEWIS et al., 2018).

A fragmentação dos habitats e conseqüente redução na riqueza de espécies de mamíferos têm sido relacionadas com um aumento de infecções causadas por parasitas multi-hospedeiro em humanos (ALLAN et al., 2003; GILLESPIE et al., 2005; CHAPMAN et al., 2005; GILLESPIE; CHAPMAN, 2006, 2007; KEESING et al., 2006; SALZER et al., 2007). Um melhor entendimento das relações entre fragmentação, parasitismo, e riqueza de espécies de parasitas se faz necessário para prever e mitigar as conseqüências atuais e futuras da fragmentação dos habitats originais nas áreas urbanas.

Uma espécie que não é muito afetado pela fragmentação de áreas naturais é o gambá do gênero *Didelphis*, conhecido hospedeiro de diversas espécies de *Trypanosoma*. Assim, hipotetizamos que o estado de conservação

dos fragmentos florestais urbanos em Campo Grande, MS influencia a riqueza de espécies de *Trypanosoma* no gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*).

OBJETIVOS

Geral

Estimar a riqueza de espécies de *Trypanosoma* que infectam gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*) em fragmentos florestais urbanos com diferentes estados de conservação.

Específicos

- i) Definir o estado de conservação dos fragmentos florestais urbanos;
- ii) Diagnosticar a infecção por *Trypanosoma* spp. em *Didelphis albiventris*;
- iii) Caracterizar as DTUs de *T. cruzi* dos gambás infectados;

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Fragmentos florestais urbanos

O processo de urbanização constitui uma intensa transformação de habitats, sendo uma das principais causas de extinção local de várias espécies (McKINNEY, 2002, 2006; SHOCHAT et al., 2010; BUCZKOWSKI; RICHMOND, 2012). A transformação da paisagem natural para cenários urbanos passa por profundas modificações dos elementos bióticos e abióticos dos ecossistemas associados (McKINNEY, 2006).

O aumento da população e da urbanização têm resultado em perdas de espécies animais e vegetais, bem como em mudanças da composição de espécies para conjuntos menos complexos (McKINNEY, 2006). Mesmo que esses impactos significativos afetem a diversidade local, eles não agem de forma homogênea porque as espécies animais respondem distintamente às mudanças urbanas, dependendo de suas sensibilidades a distúrbios, requisitos específicos e capacidades de persistência em ambientes modificados (GARDEN et al., 2006; SIH et al., 2011). A urbanização fornece excelentes oportunidades para testar os efeitos da alteração, degradação e fragmentação do habitat em comunidades ecológicas (McDONNELL; PICKETT, 1990; ADAMS, 1994; PICKETT et al., 2001).

A fragmentação dos habitats é um importante aspecto negativo da urbanização. Ela ocorre devido à descontinuidade do ambiente natural, resultando em pequenas manchas de vegetação nativa isoladas umas das outras por uma matriz não autóctone. Está bem documentado que esta mudança nas paisagens naturais tem frequentemente efeitos negativos na dispersão de espécies vegetais e animais (VAN; BAGUETTE, 2012; BULLOCK et al., 2018). No entanto, os efeitos variam e, em alguns casos, a dispersão pode não ser afetada ou mesmo impulsionada após a fragmentação, por exemplo, quando insetos vetores de animais se movem por distâncias maiores para acessar manchas de habitat isoladas (LENZ, et al., 2011).

A manutenção da biodiversidade urbana é cada vez mais importante para sustentar a função, os serviços e a capacidade de resiliência do ecossistema às mudanças ambientais nos lugares onde a maioria das pessoas vive (KNAPP et al., 2008, DEARBORN; KARK, 2010). Nas últimas décadas, muitos estudos documentaram mudanças na biodiversidade em resposta ao desenvolvimento urbano, enquanto a maioria dos estudos mediu a biodiversidade como riqueza de espécies simples (McKINNEY, 2008, MCDONNELL; HAHS, 2008). Outros também examinaram mudanças na diversidade funcional ou filogenética, medidas que descrevem a distribuição de características funcionais ou as relações filogenéticas entre espécies coocorrentes (p.e., KNAPP et al., 2008, 2017, NOCK et al. 2013).

A perturbação de origem antrópica destrói o habitat de uma grande variedade de espécies e frequentemente cria um habitat para relativamente poucas espécies capazes de se adaptar às condições urbanas (McKINNEY; LOCKWOOD, 1999). Diante desse cenário de alterações provocadas pela urbanização, surgiram espécies de animais chamados de sinantrópicos (latim *sin* + *antropos* = próximos ao homem). Entende-se por sinantropia o fenômeno ecológico fundamentado no comportamento de animais associados ao ambiente em que o homem vive, ou seja, adaptação ao meio antrópico (COSTA, 2013).

Mesmo que as espécies sinantrópicas sejam excluídas das medidas de diversidade, os ecossistemas urbanos podem ter maior riqueza de espécies do que os sistemas nativos que substituíram (McKINNEY, 2008), como resultado do aumento de recursos e heterogeneidade de habitats em sistemas urbanos e peri-urbanos (McKINNEY, 2008). Uma maior riqueza de espécies animais e vegetais em tais áreas pode ser valiosa se o objetivo for de aplicação à educação ambiental, mas pode ser menos valioso se o objetivo for manter parcelas funcionais e sustentáveis da paisagem nativa (DEARBORN; KARK, 2010).

A abordagem quanto à conservação da biodiversidade urbana resulta na discussão em relação ao bem estar da população humana residente e da conservação da natureza (Figura 1). De fato, os fragmentos florestais no ambiente urbano representam um significativo recurso para melhoria no bem estar dos habitantes das cidades, como regulação da temperatura (FEIBER,

2004). Essas áreas florestais podem ter múltiplas finalidades, tais como ecológica, social, estética e educativa, fornecendo benefícios ambientais, socioculturais e econômicos, tais como abrigo para fauna, desenvolvimento de processos ecológicos, melhoria do micro-clima, geração de empregos, paisagismo da cidade e melhoria da qualidade de vida humana (NUCCI, 1996; SOARES, 1998).

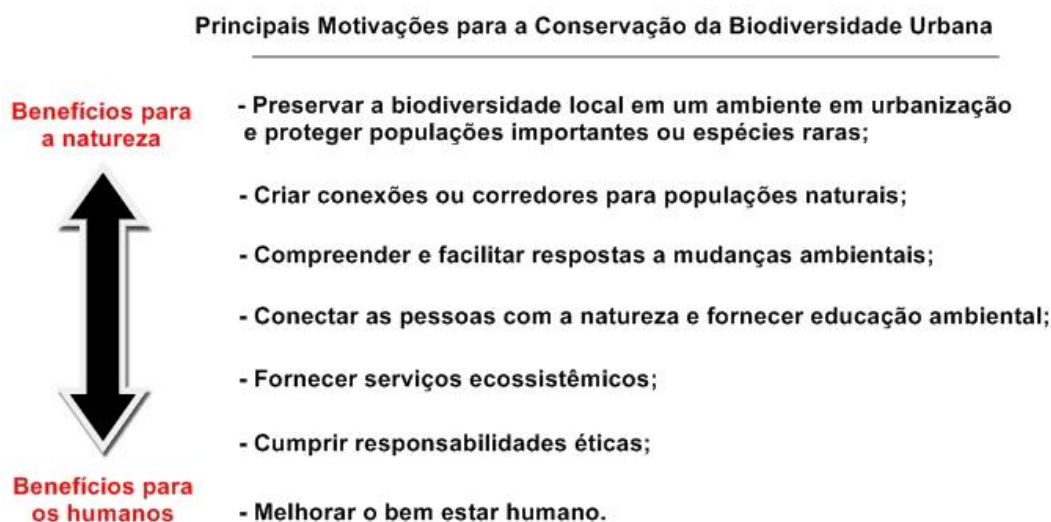


Figura 1. Principais motivações para a conservação da biodiversidade urbana (Adaptado de DEARBORN; KARK, 2010).

Os estudos de composição de fauna em fragmentos florestais urbanos, no Brasil, são escassos quando comparados às pesquisas realizadas em áreas naturais. Na bacia hidrográfica do rio Cachoeira, Joinville-SC, DORNELLES et al. (2017) reportaram 32 espécies de mamíferos através de diferentes metodologias e levando em conta apenas as espécies capturadas, o número cai para 16 espécies. Ainda no Sul do país, em Porto Alegre-RS, PENTER et al. (2008) relataram 15 espécies de mamíferos em um fragmento urbano, enquanto RODRIGUES et al. (2016) relataram seis espécies de pequenos mamíferos não-voadores em Cerro Largo-RS. Em Rio Branco-AC, CALOURO et al. (2010) capturaram 15 espécies de morcegos. Com exceção do último trabalho citado, todos os outros relataram a ocorrência de *D. albiventris*.

Enquanto a própria diversidade de mamíferos em fragmentos urbanos é desconhecida, menos ainda se sabe quanto às infecções parasitárias dessas espécies sendo um desses *T. cruzi*, o agente etiológico da DC. Existem poucos relatos sobre as consequências da fragmentação do habitat na dinâmica da de

transmissão de *Trypanosoma cruzi* na natureza. Estudos mostraram até mesmo no próprio fragmento florestal, podem ocorrer distintos e independentes ciclos de transmissão envolvendo hospedeiros de distintas competências infectivas (PINHO et al. 2000; LISBOA et al. 2004).

2. Didelphidae

Atualmente, os marsupiais são representados por sete ordens, das quais se conhecem 350 espécies distribuídas nos continentes americanos, Ásia (Sul e Sudeste) e Oceania (IUCN, 2016). Na América do Sul existem três ordens representantes, sendo elas Didelphimorphia, Microbiotheria e Paucituberculata (GARDNER, 2008), incluindo 101 espécies (IUCN, 2016). A Ordem Didelphimorphia inclui a família Didelphidae, representante do grupo mais primitivo de marsupiais, amplamente distribuída nas Américas, sendo possivelmente autóctone da América do Sul (REIG, 1961). Essa família reúne 98 espécies (IUCN, 2016), das quais 56 ocorrem no Brasil (CÁCERES, 2012) e 17 no Estado de Mato Grosso do Sul (TOMAS et al., 2017). Esses animais desempenham significativa função ecológica nos ecossistemas onde ocorrem, sendo dispersores de sementes (CÁCERES et al., 1999; CÁCERES; MONTEIRO-FILHO, 2000; CÁCERES, 2002), polinizadores (GRIBEL, 1988; VIEIRA et al., 1991; MARTINS; GRIBEL, 2007), ou como presas para carnívoros (JÁCOMO et al., 2004; GATTI et al., 2006; PEDÓ et al., 2006; ABREU et al., 2010).

Os didelfídeos, na América do Sul, são representados por 15 gêneros (GARDNER, 2008), sendo um deles o gênero *Didelphis*, um dos táxon de marsupiais com maior amplitude geográfica nas Américas (AUSTAD, 1988), ocorrendo desde o Canadá até a Argentina (IUCN, 2016). A classificação das espécies que compõem o gênero *Didelphis* é um assunto ainda em discussão e por isso adotamos a classificação da IUCN (2016), na qual o grupo é composto por seis espécies: *D. albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis imperfecta*, *Didelphis marsupialis*, *Didelphis pernigra* e *Didelphis virginiana*. As quatro primeiras ocorrem no Brasil (LEMOS; CERQUEIRA, 2002; IUCN, 2016), enquanto que *D. pernigra* ocorre no Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Venezuela e *D. virginiana* é encontrada na América do Norte e Central (IUCN,

2016). No Mato Grosso do Sul, *D. albiventris* e *D. aurita* são as únicas representantes do gênero (CÁCERES et al., 2008; TOMAS et al., 2017). As espécies de gambás encontradas no Brasil são noturnas e se deslocam usualmente pelo solo, no entanto, o habitat arbóreo tende a ser explorado também, principalmente para busca por recursos alimentares (MALTA; LUPPI, 2006).

Comumente conhecido como gambá-de-orelha-branca, *D. albiventris* (Lund 1840), é amplamente distribuído na Região Neotropical, habitando savanas, matas de galeria e florestas úmidas (EMMONS; FEER, 1997). Geograficamente é distribuído nas regiões Leste, Centro-Oeste e Sul do Brasil, Paraguai, Uruguai, as regiões Norte e Central da Argentina e o Sul da Bolívia (LEMONS; CERQUEIRA, 2002; GRAIPEL; FILHO, 2006). No Mato Grosso do Sul é encontrado no Cerrado, Floresta Atlântica, Pantanal e na zona de transição entre o Chaco e Floresta Amazônica Seca (CÁCERES et al., 2008).

No Brasil, o que melhor diferencia *D. albiventris* de outras espécies do gênero é a coloração das orelhas, as quais são brancas-rosadas (SILVA, 1994; VOSS; JANSA, 2003). Um dos fatos que mais chama atenção nesse marsupial é a sua estratégia reprodutiva, uma vez que os animais são gestados por em torno de 13 dias e paridos em estágio quase embrionário, e continuam seu desenvolvimento no marsúpio (JANSEN, 2002) (Figura 2).



Figura 2. Indivíduo jovem de *D. albiventris* (à esquerda) e marsúpio de outro indivíduo com filhotes em estágio de desenvolvimento (à direita). Fotos: Wesley Nantes.

Considerado generalista, esse marsupial pode entrar em contato frequente com populações humanas, devido a sua adaptabilidade a áreas

antropizadas e mudanças climáticas (OLIFIERS et al. 2005; CÁCERES; MONTEIRO-FILHO, 2006; CRUZ-SALAZAR et al., 2014). Nesse sentido, *D. albiventris* é comumente reportado como reservatório para várias espécies de parasitas (ZANETTE et al., 2008; HUMBERG et al., 2012; ZABOTT et al., 2017; JANSEN et al., 2018; TARRAGONA et al., 2018).

É sabido que o gambá pode se infectar com *T. cruzi* por via oral (URDANETA-MORALES; NIRONI, 1996) pelo fato de que esse animal apresenta hábito alimentar de natureza onívora, incluindo a possível predação de triatomíneos ou de outros pequenos mamíferos que eventualmente podem estar infectados. Dependendo da região geográfica, a infecção por *T. cruzi* nesses marsupiais pode variar de 11 a 90% (FERNANDES et al., 1999; JANSEN et al., 2015). Uma vez que é capaz de utilizar todos os estratos florestais, gambás podem se expor aos diferentes ciclos de transmissão de *T. cruzi* (JANSEN et al., 2015).

Até então, há reportado na literatura duas espécies de *Trypanosoma* infectando *D. albiventris*, *T. cruzi* e *T. rangeli* (GURGEL-GONÇALVES et al., 2004; FERREIRA et al., 2010; JANSEN et al., 2015; JANSEN et al., 2018; ROMAN et al., 2018), provavelmente por ter sido esta espécie menos estudada do que *D. aurita* e *D. marsupialis*.

3. Gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* compreende um grupo de protozoários flagelados pertencentes à ordem Trypanosomatida, família Trypanosomatidae. A ordem é composta por 19 gêneros e que apresentam diferentes tipos de hospedeiros e ciclos evolutivos (KAUFER et al., 2017). Sabe-se que a maioria das espécies de vertebrados (representantes répteis, peixes, aves e mamíferos) (STEVENS et al., 1999; SIMPSON et al., 2006) já foram encontradas parasitadas por *Trypanosoma* spp. e seus vetores variam de sanguessugas a mutucas e insetos (WHO, 2012; FERMINO et al., 2015).

Uma das principais características do grupo é a presença do cinetoplasto, organela que contém DNA extra-nuclear (kDNA). Os cinetoplastídeos são organismos eucariotos primitivos, provavelmente dos primeiros a destoarem das linhagens celulares eucarióticas ancestrais

(STEVENS et al., 2001; MOREIRA et al., 2004). O kDNA dessa organela é complexo em sua organização e função, consistindo de uma grande rede entrelaçada de moléculas de DNA circular, os maxicírculos e minicírculos, que representam cerca de 20-25% do DNA total da célula (RAY, 1989; WESTENBERGER et al., 2006).

Ainda há controvérsia quanto à origem do gênero *Trypanosoma*. Os primeiros estudos filogenéticos propuseram que os organismos desse grupo exibiam uma origem parafilética (FERNANDES et al., 1993; MASLOV et al., 1994, 1996; VICKERMAN, 1994). Tendo esses trabalhos como base, e com a descoberta de novas espécies, foi possível determinar relações evolutivas entre espécies distantes e com isso, observou-se que o gênero *Trypanosoma* apresentava uma origem monofilética, ou seja, independente da sua espécie hospedeira, esses organismos tiveram origem de um ancestral comum (LUKES et al., 1997; HAAG et al., 1998; STEVENS et al., 1999, 2001; LIMA et al., 2015).

Os representantes pertencentes ao gênero *Trypanosoma* foram organizados inicialmente em dois grandes grupos quanto ao seu desenvolvimento no inseto vetor e sua forma de transmissão, denominados Salivaria e Stercoraria (HOARE, 1972). A subdivisão Salivaria remete àqueles que se desenvolvem no tubo digestivo médio e glândulas salivares ou probócide dos seus insetos vetores. Sua transmissão ocorre pela inoculação de formas tripomastigotas metacíclicas junto com a saliva durante o repasto sanguíneo e tem como representante as espécies *T. brucei*, *T. evansi*, *T. vivax* e *T. rangeli*. A secção Stercoraria é composta pelos parasitos que se desenvolvem no intestino posterior do seu hospedeiro invertebrado, no qual as formas infectantes, tripomastigotas metacíclicas, são eliminadas nas fezes durante a alimentação sanguínea nos vertebrados. Um dos representantes mais estudados é *T. cruzi* (TOBIE, 1970; D'ALESSANDRO, 1976; VICKERMAN, 1994; EICHLER; SCHAUB, 1998; STUART et al., 2008; HEMMIGE et al., 2012; RAMÍREZ-IGLESIAS et al., 2017).

Além disso, o gênero inclui espécies que resultam em doença no homem e animais de produção, e por isso, respectivamente *T. cruzi* e espécies de *Trypanosoma* do grupo *T. brucei* foram intensivamente estudadas desde a sua descrição. *Trypanosoma cruzi* é o agente etiológico da tripanosomíase

americana e da DC (NUSSBAUM et al., 2012; RASSI et al., 2012; HEMMIGE et al., 2012; RAMÍREZ-IGLESIAS et al., 2017).

O gênero *Trypanosoma* está dividido em seis clados, sendo eles: clado *T. brucei*, clado *T. lewisi*, clado *T. theileri*, clado *T. avium/T. corvi*, clado Aquático e clado *T. cruzi* (ESPINOSA, 2014). O clado *T. brucei* é composto por espécies dos subgêneros *Trypanozoon* (*T. brucei*, *T. evansi*), *Duttonella* (*T. vivax*), *Pycnomonas* (*T. suis*) e *Nannomonas* (*T. congolense* e *T. simiae*), todas pertencentes à seção Salivaria e de origem africana (ADAMS et al., 2010a, b; HOARE, 1972).

O clado *T. lewisi* corresponde ao subgênero *Herpetosoma* que compreende tripanosomas que parasitam as ordens Rodentia e Lagomorpha. Está representado pela espécie tipo *T. lewisi*, um parasita cosmopolita de rato doméstico. Macacos foram encontrados infectados por estes parasitas no Brasil (MAIA DA SILVA et al., 2010). Estudos recentes detectaram infecções humanas por *T. lewisi* na Ásia e África, sendo estas, aparentemente, infecções oportunistas em crianças imunodeprimidas; o crescente número de casos levou essa espécie a ser avaliada como um patógeno emergente para humanos (TRUC et al., 2012).

O clado *T. theileri* é composto pelo subgênero *Megatrypanum*, com a espécie-tipo *T. theileri*, compreende tripanossomas isolados principalmente de ruminantes (ordem Artiodactyla). São parasitas com distribuição mundial e bastante prevalentes em bovinos, bubalinos, ovinos, cervídeos e antílopes. As espécies deste grupo, embora muito relacionadas, apresentam significativa especificidade pela espécie do hospedeiro vertebrado. (GARCÍA et al., 2011a, b; HAMILTON et al., 2009; HATAMA et al., 2007; RODRIGUES et al., 2006).

O clado *T. avium/T. corvi* inclui a maioria dos isolados de aves, exceto *T. bennetti* (VOTÝPKA et al., 2002, 2004, 2012) que, juntamente com os clados de isolados de serpentes e lagartos (tripanossomas de répteis) (VIOLA et al., 2008, 2009) ainda carecem de estudos mais abrangentes que permitam elucidar as relações filogenéticas e o posicionamento desses grupos em relação aos outros clados de tripanossomas.

O clado Aquático é formado por tripanossomas de vertebrados aquáticos, principalmente peixes e anfíbios, incluindo um isolado de ornitorrinco e um isolado de tartaruga (STEVENS et al., 2001). As espécies desse clado

são transmitidas por sanguessugas, como demonstradas para espécies que infectam peixes, tartarugas e serpentes aquáticas, e anuros (FERREIRA et al., 2007, 2008; HAYES et al., 2014; JAKES et al., 2001; STEVENS et al., 2001; VIOLA et al., 2009). Porém, tripanossomas de anuros também podem ser transmitidos por moscas e mosquitos hematófagos (flebotomíneos e culicídeos) (FERREIRA et al., 2008).

O fato da maioria das espécies do clado *T. cruzi* (Figura 3) ser descrita exclusivamente em morcegos somado às deduções filogenéticas das espécies de *Trypanosoma* conhecidas nestes, originou a “*The Bat Seeding Hypothesis*” (HAMILTON et al. 2012). Essa hipótese sugere os morcegos como hospedeiros ancestrais de *T. cruzi* e *T. rangeli* (HAMILTON et al. 2012) e parte da premissa de que um tripanossoma de morcego foi o ancestral comum do clado *T. cruzi* ou pelo menos de *T. rangeli* e *T. cruzi*. Esses tripanossomas, ao longo do tempo, diversificaram-se e se tornaram geograficamente difundidos. Vários tripanossomas teriam passado a infectar mamíferos terrestres e, em meio a essas trocas de hospedeiro, teria ocorrido a origem de *T. c. cruzi*. O compartimento de nicho entre parasita-vetor-hospedeiro e a “*adaptação do hospedeiro*” podem ter sido fatores que facilitaram essas transições. Com base nas evidências agora disponíveis, o clado de tripanossomas de *T. cruzi* provavelmente se diversificou depois que os morcegos passaram por uma grande diversificação há cerca de 70-58 milhões de anos atrás (TEELING et al., 2005; HAMILTON et al., 2007; HAMILTON et al., 2012).

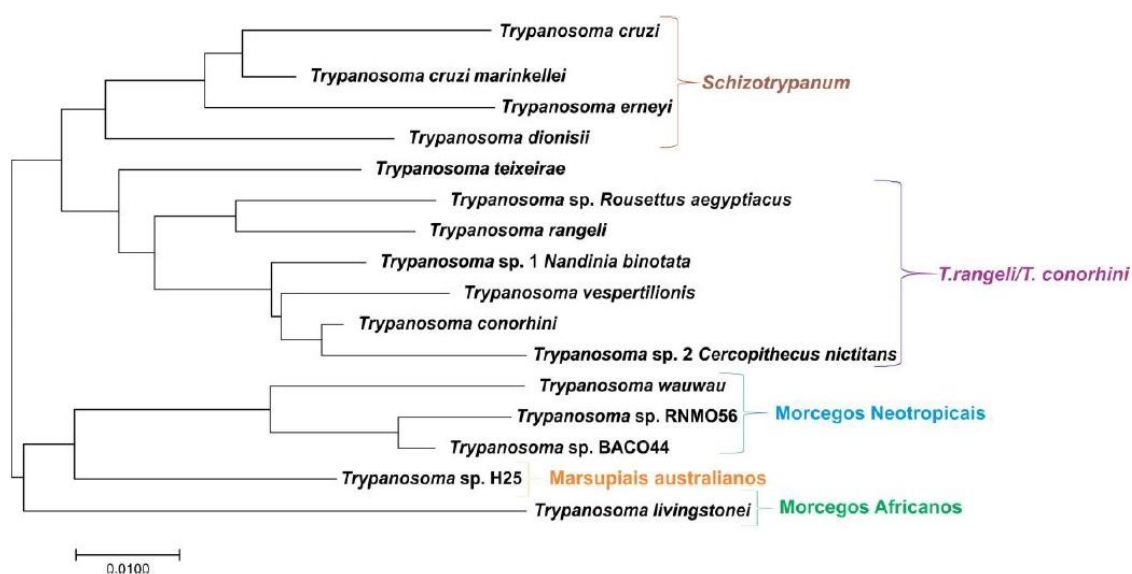


Figura 3. Árvore filogenética representativa do clado *T. cruzi* (DARIO, 2017a).

3.2 *Trypanosoma cruzi*

O parasito apresenta quatro estágios de desenvolvimento nos seus hospedeiros: amastigota e tripomastigota sanguíneas nos hospedeiros mamíferos; e epimastigota e tripomastigota metacíclica no inseto vetor. As formas amastigotas e tripomastigotas (metacíclicas e sanguíneas) são as responsáveis por causar infecção nos seus hospedeiros (MORTARA et al., 2008; HERRERA et al., 2011; FERNANDES et al., 2012).

O ciclo biológico de *T. cruzi* (Figura 4) começa a partir do contato com as formas tripomastigotas metacíclicas presente nas fezes de um triatomíneo infectado. O parasita penetra nas células e se diferencia em amastigotas por divisão, que se reproduzem no citoplasma por divisão binária. Posteriormente, as formas amastigotas se diferenciam em formas móveis, as tripomastigotas sanguíneas. Estas últimas formas do parasita lisam as células hospedeiras, infectam outras células, e, por curto prazo, ficam livres na corrente sanguínea (percurso até a infecção de novas células). Os insetos se infectam com as formas tripomastigotas sanguíneas durante o repasto sanguíneo e ao chegar ao intestino médio do inseto, as formas sanguíneas se diferenciam em epimastigotas. Essas formas também se dividem por divisão binária e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicas (um processo chamado metaciclogênese), que são eliminados nas fezes do triatomíneo (CARDOSO et al., 2008; RASSI et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

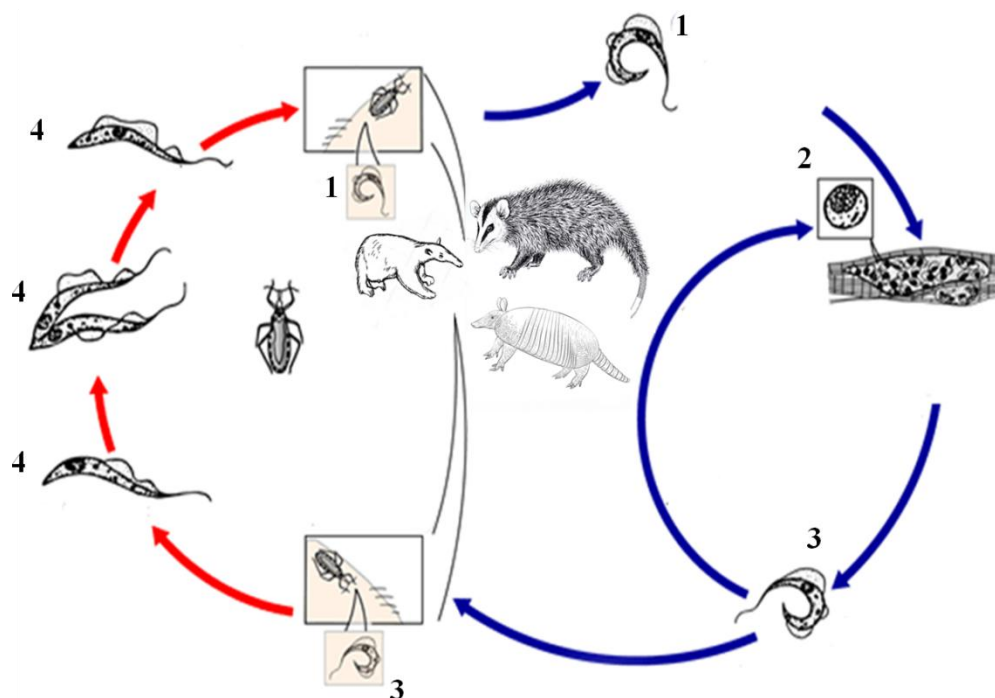


Figura 4. Ciclo de transmissão por *Trypanosoma cruzi* nos hospedeiros vertebrados e no vetor triatomíneo (adaptado de CDC, 2017) – (1) formas tripomastigotas metacíclicas presentes no inseto-vetor, (2) forma amastigota infectando células do hospedeiro vertebrado, (3) formas tripomastigotas sanguíneas, (4) formas epimastigotas presentes no inseto-vetor.

Quanto às rotas de infecção, são conhecidas no homem: transmissão congênita (de mamíferos silvestres pouco se conhece a respeito), por transfusão de sangue, transplante de órgãos, acidentes de laboratório, vetorial e contaminação via oral através da ingestão de formas infectantes do protozoário presente em alimentos contaminados por triatomíneos infectados (MARTINS et al., 2012; LEWIS et al., 2018). Há também uma possível rota alternativa de infecção através de formas metacíclicas presentes na glândula de cheiro de marsupiais (DEANE et al., 1984; URDANETA-MORALES; NIRONI, 1996).

Trypanosoma cruzi exibe uma enorme plasticidade provavelmente como resultado de sua impressionante heterogeneidade biológica, bioquímica e molecular. A compreensão da origem da heterogeneidade de *T. cruzi* ainda representa um desafio: embora a estrutura populacional de *T. cruzi* seja principalmente clonal, os eventos de introgressão mitocondrial e hibridização ocorrem intra e inter-*T. cruzi* DTUs (JANSEN et al., 2018; TOMASINI, 2018). A frequência com que esses fenômenos ocorrem na natureza e sua importância

como promotores da diversidade de *T. cruzi* tem sido uma questão bastante discutida há décadas.

3.3 Discrete Typing Units (DTU) de *Trypanosoma cruzi*

A partir de estudos baseados nas características morfológicas e biológicas do parasito em camundongos infectados, as populações de *T. cruzi* foram classificadas em três tipos ou biotipos: I, II e III (ANDRADE, 1974). MILES et al. (1977, 1978, 1980) utilizando análise eletroforética dos perfis de isoenzimas, também mostram que *T. cruzi* se agrupava em três grupos distintos, sendo esses denominados zimodemas (Z). Zimodema 1 e Zimodema 3 foram correlacionados ao ciclo silvestre de transmissão de *T. cruzi*, enquanto Z2 ao ciclo domiciliar. Essa diversidade também foi observada quando outros *loci* isoenzimáticos foram utilizados (TIBAYRENC et al., 1986) e quando outras metodologias foram aplicadas, como a análise de fragmentos de restrição de kDNA (MOREL et al., 1980), *blotting* cromossômico (HENRIKSSON et al., 1993, 1995), DNA *fingerprint* (MACEDO et al., 1992) e marcadores moleculares (SOUTO et al., 1996; BRISSE, 1997; BRISSE et al., 1998; FERNANDES et al., 1998; DOS SANTOS; BUCK, 1999). Ficou estabelecido que *T. cruzi* apresentava duas linhagens distintas: *T. cruzi* I – associada ao ciclo silvestre de transmissão e *T. cruzi* II – associada ao ciclo domiciliar de transmissão (ANONYMOUS, 1999). Os isolados denominados como Z3 ou que apresentavam características híbridas, não foram classificadas dentro desses dois grupos principais.

Com o avanço nos estudos sobre as populações de *T. cruzi*, BRISSE et al. (2000) utilizando *multilocus enzyme electrophoresis* (MLEE) e *Randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD) observaram que *T. cruzi* se subdividia em seis genótipos: TcI correspondente à linhagem *T. cruzi* I; e a linhagem *T. cruzi* II foi subdividida em cinco subgrupos (TcIIa-TcIIe), no qual TcIIb corresponde a linhagem *T. cruzi* II e os subgrupos TcIIa, TcIIc-e, correspondem às cepas híbridas e aquelas pertencentes ao grupo Z3. Essa subdivisão também foi observada utilizando os genes mini-exon e ribossomais (BRISSE et al., 2001). Seis genótipos de *T. cruzi* foram reconhecidos, denominados Unidades Discretas de Tipagem (DTUs) (ZINGALES et al., 2009). As DTUs foram

nomeadas TcI (TcI), TcII (TcIIb), TcIII (IIa), TcIV (IIc), TcV (IIId) e TcVI (IIE). No mesmo ano do novo consenso de nomenclatura dos genótipos de *T. cruzi*, foi descrito um novo genótipo, denominado TcBat (MARCILI et al., 2009; ZINGALES et al., 2012). Este último, Tcbat, anteriormente assumido como restrito a morcegos, foi descrito infectando múmias humanas pré-colombianas (GUHL et al., 2014; RAMÍREZ et al., 2014). Estudos utilizando marcadores nucleares e mitocondriais questionam a existência das seis DTUs de *T. cruzi* e discutem se de fato somente três genótipos (TcI, TcII e TcIII-VI) possam ser considerados (BARNABÉ et al., 2016).

O termo “*Discrete Typing Unit*” (DTU) (TIBAYRENC, 1998) foi proposto para descrever os conjuntos de isolados que são geneticamente semelhantes entre si do que com quaisquer outros isolados, sendo identificadas por marcadores moleculares comuns. Estudos moleculares revelaram essa alta diversidade genética em *T. cruzi* com isolados da espécie distribuídos nessas DTUs (STEVENS et al., 1999; MILES et al., 2009; VALLEJO et al., 2009).

Cada genótipo apresenta características que diferem em distribuição, espécies de hospedeiros, associações eco-epidemiológicas e manifestações da doença (ZINGALES et al., 2012; MILES et al., 2009). Tradicionalmente TcII, TcV e TcVI estiveram relacionados a doenças graves em humanos e TcI, TcIII e TcIV foram relacionados ao ciclo silvestre (ZINGALES et al., 2012), mas na região Amazônica, Colômbia e Venezuela, casos de doenças humanas por TcI, TcIII e TcIV foram descritas, além de estudo no Chile, onde pacientes com cardiomiopatia chagásica apresentaram infecção por TcI e TcII (COURA et al., 2002; MONTEIRO et al., 2010a; MONTEIRO et al., 2010b; CARRASCO et al., 2012; GUHL; RAMÍREZ, 2013; RAMÍREZ et al., 2013; MUNOZ-SAN MARTÍN et al., 2018). Em adição, segundo BAPTISTA et al. (2014), o TcII e seus híbridos derivados diretos, TcV e TcVI, parecem estar associados a casos mais graves da doença de Chagas em países do Cone Sul, entretanto, nunca foi comprovada uma associação robusta de DTU com esses fatores.

METODOLOGIA

1. Área de estudo

1.1 Fragmentos florestais amostrados

O presente estudo foi realizado em seis fragmentos florestais urbanos, escolhidos por relatos prévios de ocorrência de gambá e por logística de campo, localizados no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul: área 1 - Parque Estadual do Prosa (PEP), área 2 - Instituto Salesiano São Vicente (ISV), área 3 – Reserva Particular do Patrimônio Natural da UFMS, área 4 - Centro de Educação Ambiental Polonês (POLO), área 5 – Nascente do Córrego Bandeiras (Chácara Coqueiral - COQUE) e área 6 – Parque Ecológico do Anhanduí (ANHAN).

1.2 Caracterização dos fragmentos quanto ao estado de conservação

Os fragmentos foram classificados quanto ao estado de conservação em Conservado (CO) e Menos Conservado (MC) em função de: (i) quantidade de espécies vegetais exóticas, (ii) distribuição das espécies vegetais exóticas (dentro ou no entorno do fragmento) e (iii) diversidade de pequenos mamíferos por fragmento. O índice adotado para o cálculo de diversidade de pequenos mamíferos não-voadores para os fragmentos conservados e pouco conservados foi o Índice de Shannon, de acordo com (MAGURRAN, 2011).

1.2.1 Levantamento rápido de riqueza de árvores e arbustos

O levantamento das espécies de árvores e arbustos foi realizado em cada um dos seis fragmentos segundo método de caminhamento descrito por FILGUEIRAS et al. (1994) entre agosto e outubro de 2018. Em cada área, durante três horas consecutivas, foi registrado o máximo de espécies possível.

1.2.2 Captura de pequenos mamíferos

A captura de pequenos mamíferos ocorreu entre maio e dezembro de 2017 por meio de armadilhas tipo Tomahawk (45 x 17,5 x 15 cm) e Sherman (42 x 11,5 x 14 cm). As armadilhas foram dispostas no solo em transectos com

espaçamento de 10m entre as armadilhas, totalizando 975 armadilhas em 82 noites de captura (Tabela 1). As armadilhas permaneceram abertas no período noturno, sendo checadas no início da manhã, iscadas e rearmadas durante o mesmo período, durante cada amostragem por área. A isca utilizada foi uma receita contendo banana, paçoca de amendoim, sardinha e aveia.

Tabela 1. Distribuição das armadilhas, quantidade, tipo e dias amostrados na área.

ÁREA	n ARMADILHAS	TIPO	n DIAS
PEP	280	Tomahawk	13
	120	Sherman	
ISV	120	Tomahawk	12
UFMS	120	Tomahawk	22
	90	Sherman	
POLO	75	Sherman	12
COQUE	120	Tomahawk	13
ANHAN	50	Tomahawk	10
TOTAL	975		82

2. Coleta de material biológico de *D. albiventris*

Animais menores que 10 cm não foram tiveram material biológico coletado.

2.1 Contenção

O animal era retirado da armadilha e colocado em um saco de pano para a realização da pesagem e cálculo das dosagens de Cetamina (20mg/kg) e Xilazina (2mg/kg). Após administração intra-muscular da associação anestésica, o animal permanecia vendado e com tampões de orelha para evitar estímulos externos durante todo o processo. Ainda, foram monitorados parâmetros respiratórios, cardíacos, tempo de preenchimento capilar e temperatura corpórea durante todos os procedimentos. Ao fim dos procedimentos o animal ficou em observação até a recuperação da sedação e

soltura, a qual ocorreu no ponto de captura do indivíduo. Os animais foram marcados na base das duas orelhas com brincos numerados (Modelo CA4, Anilhas Capri[®], Brasil).

2.2 Coleta de sangue e soro

Com o animal sedado era realizada tricotomia da região da cauda. A assepsia foi realizada com sabão antisséptico, álcool 70% iodado e álcool 70% (na respectiva ordem, com três aplicações para cada). O sangue foi coletado através de agulhas hipodérmicas (20x8) e seringas (3 ml), em tubos com anticoagulante e tubos sem anticoagulante. Os tubos sem anticoagulante foram centrifugados em centrífuga refrigerada entre 4°C e 6°C por 15min a 1500rpm. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta, o soro foi transferido para um criotubo, devidamente identificado e armazenado em ultra-freezer a -80°C.

2.3 Secreção da glândula de cheiro

Através de um estímulo mecânico nas glândulas de cheiro, o material expelido era recolhido com o auxílio de uma pipeta (P200) para posterior cultivo em meio bifásico específico para *T. cruzi*. Também foi realizado *imprinting* do conteúdo proveniente da glândula em uma lâmina de microscopia.

3. Diagnóstico das espécies de *Trypanosoma*

Foram considerados como infectados os animais que apresentaram positividade para qualquer um dos testes diagnósticos adotados.

3.1 Testes parasitológicos

Foi realizado o cultivo de sangue (em duplicata) e do conteúdo da glândula de cheiro, ambos em meio bifásico NNN (Nicole, Novy, McNeen) + LIT (*Liver Infusion Triptose*). Os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo ou dentro do campo de segurança de um fogareiro. Cultivou-se 250µl de sangue total em tubo contendo meio NNN + LIT (em duplicata). Para a substância proveniente da glândula de cheiro foi realizado, com pipeta P200, movimentos de aspiração e expiração do meio de cultura, de forma que o conteúdo nas ponteiras fosse misturado junto ao meio, assim aproveitando a

maior quantidade possível da substância. Os tubos foram incubados a 27°C e monitorados quinzenalmente por quatro meses.

As lâminas de *imprinting* do conteúdo da glândula de cheiro foram coradas com solução comercial pronta para uso (Panótico Rápido – Laborclin, código 620529) com três corantes em série. As lâminas foram submersas em pé no fixador por 15 segundos; logo após retirar a lâmina do fixador, o excesso foi retirado e a mesma colocada no corante I por 15 segundos; em seguida a lâmina era removida do corante I e colocada no corante II por 15 segundos. Após esse processo as lâminas eram dispostas em uma estante para secagem e posterior armazenamento em caixas porta-lâmina. Posteriormente, as lâminas da glândula de cheiro foram analisadas em microscópio óptico sob a objetiva de 100x para busca do protozoário.

3.2 Sorologia

As amostras de soro de 43 indivíduos mantidas em ultra-freezer a -80°C até o fim da campanha foram enviadas para o Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos da FioCruz (Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos - Rio de Janeiro/RJ) para realização do teste sorológico. Para a detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* foi realizado o teste de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) adaptado de XAVIER et al. (2014) para gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). Os soros foram diluídos serialmente e em uma proporção decrescente de 2x (1:10-1:320) e o ponto de corte adotado foi de 1/40 (XAVIER et al., 2014). Controles positivos e negativos foram adicionados.

3.3 Diagnóstico molecular, clonagem e sequenciamento

A detecção molecular de infecção por Trypanosomatidae em gambás (*D. albiventris*) foi realizada por *nested Polymerase Chain Reaction* (nPCR). O DNA genômico foi extraído de 200µl de sangue com EDTA usando o QIAamp Blood DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA total foi diluído com 50µl de tampão de eluição do próprio fabricante e foi armazenado a -20°C até o diagnóstico molecular. Foi usado como alvo uma região variável do gene 18S rRNA, com *primers* externos TRY927F e TRY927R, e *primers* internos SSU561F e SSU561R, de acordo com SMITH et al. (2008).

Os produtos amplificados no 18S rRNA foram submetidos a reação de PCR complementar para identificação de espécies de *Trypanosoma*. Foram utilizados os *primers* D71 e D72 para amplificar a região conservada do DNA ribossomal (24Sα rDNA) para *T. cruzi* (110 e 125 pb), conforme SOUTO e ZINGALES (1993) e HERRERA et al. (2015); e os primers TBR1 e TBR2 para amplificar a sequência conservada da região satélite correspondente a 164 pb para *T. evansi*, de acordo com MASIGA et al. (1992). Além disso, foi realizado PCR direcionado a região específica de 100 pb para *T. rangeli* através dos primers TR1 e TR2, conforme FERNANDES et al. (2001). Cada reação incluiu amostras de controles negativo e positivo. Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose a 1,5% após coloração com brometo de etídio.

No sentido de se realizar a identificação de DTUs de *T. cruzi*, ou de outras espécies de tripanosomatídeos, seis produtos amplificados na PCR do 18S rRNA foram encaminhados para o sequenciamento no laboratório ACTGENE ANÁLISES MOLECULARES, Alvorada (RS) a partir da qualidade das bandas. As sequências foram analisadas com o software SeqMan Pro™ (Lasergene®) e o alinhamento foi realizado com o uso do software BioEdit (HALL, 1999) usando os parâmetros padrões.

A clonagem, realizada pelo Laboratório S-INNOVA da UCDB (Campo Grande/MS), foi feita diretamente no *pGEM-T easy vector* (Promega, Madison, WI, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Foi adotada a quantidade de 10 colônias, escolhidas aleatoriamente, por animal para sequenciamento e minipreps foram realizados com o *Wizard Plus SV Minipreps DNA Purification System* (Promega, Madison, Wisconsin, USA).

4. Procedimentos éticos

Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo as licenças concedidas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) (Nº 56912-2) e Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul (IMASUL) (Nº 05/2017, processo Nº61/405959/2016). O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS (Nº 001/2017).

RESULTADOS

1. Caracterização dos fragmentos

Os seis fragmentos florestais urbanos amostrados apresentaram um total de 213 espécies de árvores e arbustos distribuídas em 55 famílias. As áreas PEP, ISV e COQUE foram classificadas como áreas conservadas, enquanto UFMS, POLO e ANHAN foram consideradas como áreas menos conservadas (Tabela 2). Ressaltamos que as espécies de árvores e arbustos exóticas representam 14% (23/164) nas áreas conservadas, em comparação com 37% (49/130) nas áreas pouco conservadas. COQUE e ANHAN apresentaram uma porcentagem de espécies exóticas muito próximas, entretanto a vegetação exótica no fragmento COQUE estava localizada no entorno, enquanto que em ANHAN foi registrada dentro do fragmento. Além disso, COQUE apresentou cinco espécies de pequenos mamíferos e ANHAN apenas uma (Tabela 3).

Foram capturados 75 pequenos mamíferos nos fragmentos florestais urbanos de Campo Grande/MS (Tabela 3), com um esforço de 7.225 armadilhas/noite. O esforço de captura para cada um dos fragmentos amostrados (Tabela 1) foi diferente em consequência das características de cada área. Os fragmentos conservados apresentaram o dobro da diversidade de pequenos mamíferos em relação às áreas menos conservadas (Tabela 2 e 3).

Tabela 2. Classificação dos fragmentos florestais amostrados em Campo Grande/MS quanto ao estado de conservação por meio da quantidade de espécies exóticas, riqueza de pequenos mamíferos não-voadores e índice de diversidade.

ÁREA	ESTADO DE CONSERVAÇÃO	VEGETAÇÃO EXÓTICA	PEQUENOS MAMÍFEROS	
			RIQUEZA	ÍNDICE DE DIVERSIDADE
PEP		4% (2/50)	3	
ISV	CO	6,5% (7/108)	3	1,3
COQUE		13% (14/108)	5	
UFMS		31% (26/84)	2	
POLO	MC	85,7% (12/14)	2	0,6
ANHAN		12,9% (11/85)	1	

Tabela 3. Diversidade e abundância relativa (AR%) de pequenos mamíferos capturados em fragmentos florestais urbanos de Campo Grande/MS entre maio e dezembro de 2017.

ESPÉCIES	FRAGMENTOS					
	CONSERVADAS			MENOS CONSERVADAS		
	PEP	ISV	COQUE	POLO	UFMS	ANHAN
<i>Didelphis albiventris</i>	12 (85,7)	3 (50)	10 (52,6)	4 (66,7)	8 (47,1)	13 (100)
<i>Rattus rattus</i>		2 (33,3)	2 (10,5)	2 (33,3)	9 (52,9)	
<i>Cavia aperea</i>			3 (15,8)			
<i>Dasyprocta azarae</i>			2 (10,5)			
<i>Lutreolina crassicaudata</i>			2 (10,5)			
<i>Gracilinanus</i> sp.	1 (7,1)					
<i>Oligoryzomys</i> sp.		1 (16,7)				
<i>Rhipidomys</i> sp.	1 (7,1)					

Observamos que *D. albiventris* e *R. rattus* foram as espécies mais abundantes, representando 86,7% da abundância relativa dos pequenos mamíferos capturados em Campo Grande/MS. Ainda, foi notado que *D. albiventris* habita fragmentos florestais independente do seu estado de conservação, enquanto que *R. rattus* foram encontrados em um número três

vezes maior na áreas pouco conservadas em relação as áreas conservadas (Tabela 3).

2. Infecções por *Trypanosoma* spp. em *D. albiventris*

Dos 50 indivíduos de *D. albiventris* capturados, sete não tiveram material biológico coletado devido o critério de tamanho mínimo adotado. As 43 hemoculturas em duplicata e 22 culturas de secreção da glândula de cheiro foram todas negativas. As lâminas de *imprinting* da secreção de 22 gambás também foram negativas à análise microscópica.

A RIFI mostrou que apenas 4,6% (2/43) dos gambás amostrados estavam soropositivos para *T. cruzi*, ambos com titulação de 1:40 capturados na área COQUE. O diagnóstico molecular mostrou que 30% (13/43) dos animais coletados estavam positivos para o gene 18S rRNA. Das amostras enviadas para sequenciamento, apenas uma (373pb), de um gambá do PEP, obteve qualidade suficiente para análise pelo *Blast*, indicando 100% de cobertura e identificação com uma sequência já depositada (número de acesso: AF301912.1) de *T. cruzi*-TcII. As demais cinco sequências apresentaram sobreposição de picos e ruídos, o que impossibilitou a análise.

A PCR para o gene 24Sα rDNA mostrou que todos os 13 gambás positivos no 18S rRNA estavam infectados por *T. cruzi*. Os testes moleculares para *T. rangeli* e *T. evansi* foram negativos. Dos animais positivos no diagnóstico molecular para *T. cruzi*, apenas um foi soropositivo. A ocorrência da infecção por *T. cruzi* em *D. albiventris* quanto aos fragmentos mostra que as áreas conservadas COQUE e PEP apresentaram 60% e 41,7%, respectivamente, enquanto que uma área menos conservada, UFMS, apresentou 37,5%.

A clonagem revelou que outras espécies do gênero *Trypanosoma*, além de *T. cruzi*, infectam *D. albiventris* nos fragmentos florestais de Campo Grande. O sequenciamento das colônias revelaram 100% de cobertura e 99% de identidade com uma sequência já depositada (número de acesso: MF403111.1) de *Trypanosoma lainsoni*. Ainda, as análises do sequenciamento identificaram uma sequência de nucleotídeos ainda não depositada no GenBank, uma Nova Unidade Molecular Taxonômica (NUMT), classificada aqui como DID (originário

do gênero do hospedeiro, *Didelphis*) (Figura 5). Visto que esses dois indivíduos estavam positivos para *T. cruzi* (24Sα rDNA), eles se encontravam co-infectados no momento da coleta.

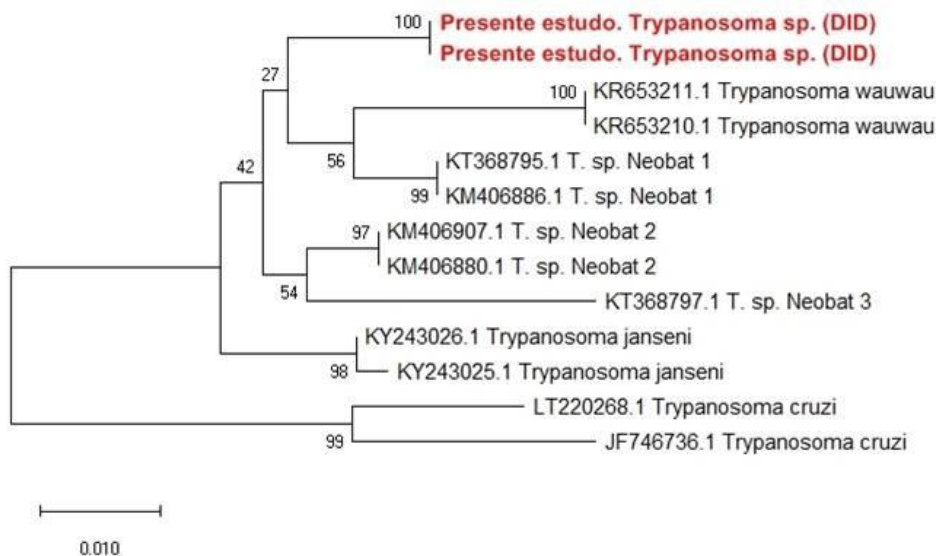


Figura 5. Análise filogenética da sequência de *Trypanosoma* sp. (DID) no clado *T. cruzi*, encontrado em um indivíduo de *D. albiventris* capturado na Chácara Coqueiral, Campo Grande/MS em outubro de 2017.

Por fim, foi observado que o estado de conservação foi determinante na riqueza de espécies do gênero *Trypanosoma* identificados nos fragmentos amostrados. De fato, os fragmentos conservados apresentaram três espécies de *Trypanosoma*, enquanto que os *D. albiventris* capturados fragmentos menos conservados estavam infectados apenas por *T. cruzi* (Tabela 4).

Tabela 4. Espécies de *Trypanosoma* e estado de conservação dos fragmentos florestais urbanos de Campo Grande, MS.

ESTADO DE CONSERVAÇÃO	<i>Trypanosoma</i> spp.
Conservado	<i>T. cruzi</i> , <i>T. lainsoni</i> , <i>Trypanosoma</i> sp. (DID)
Pouco Conservado	<i>T. cruzi</i>

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que todos os fragmentos florestais amostrados apresentaram algum nível de alteração ambiental, como demonstrado pela mais alta abundância relativa de *D albiventris* em todos os fragmentos amostrados, independente do estado de conservação, e a presença de *R. rattus* em ambos fragmentos mesmo com uma abundância baixa em áreas conservadas. Este fato era esperado visto que ambientes urbanos não apresentam ligações entre os fragmentos, fator que compromete a diversidade de mamíferos e favorece espécies com maior plasticidade adaptativa, como *Didelphis* spp. (OLIFIERS et al., 2005; CRUZ-SALAZAR et al., 2014). Entretanto, baseado na riqueza de espécies de pequenos mamíferos e de espécies arbustivas e arbóreas, pudemos separar claramente três fragmentos conservados e três pouco conservados na cidade de Campo Grande, MS. Em relação aos fragmentos conservados, esses apresentaram maior índice de diversidade de pequenos mamíferos, fato que está associado com a maior riqueza de habitats, oferecido pela maior variedade de espécies vegetais arbóreas e arbustivas registradas nessas áreas.

A representatividade ecológica dos fragmentos florestados na cidade de CG pode ser melhor compreendida quando observamos a funcionalidade das espécies de pequenos mamíferos em cada área. Nesse sentido, *R. rattus*, encontrado em maior número nas áreas pouco conservadas (n=11) em relação às áreas conservadas (n=4), indica degradação ambiental (BONVICINO et al.; 2002). Os dois indivíduos de *R. rattus* capturados em uma área conservada sugere que, embora *R. rattus* possa ser utilizado como indicador de degradação de habitats, essa espécie também pode eventualmente ocorrer em áreas conservadas cercada por presença humana, como em algumas Unidades de Conservação no estado de São Paulo (BONVICINO et al., 2002). O registro de pequenos mamíferos com hábitos arborícolas como *Gracilinanus* sp., *Oligoryzomys* sp. e *Rhipidomys* sp. ou ambientes ripários como *L. crassicaudata*, corrobora o melhor estado de conservação dos fragmentos (SILVA, 1994; EMMONS; FEER, 1997; CAMARGO, 2015). A armadilhagem

restrita apenas ao solo selecionou animais que exploram esse nicho, excluindo aqueles de dossel, resultando em uma sub-amostragem das espécies locais. Mesmo assim, a riqueza de pequenos mamíferos reportada no presente estudo é maior que a relatada por outros autores em fragmentos urbanos no Brasil (PENTER et al., 2008; RODRIGUES et al., 2016; DORNELLES et al., 2017).

Os hemocultivos negativos indicam que os gambás dos fragmentos florestais de Campo Grande, MS apresentaram baixa parasitemia no momento da coleta e, por consequência, baixa capacidade infectiva para o inseto vetor, uma vez que, hemoculturas positivas revelam que o animal constitui uma potencial fonte infectiva (JANSEN et al., 2018). Deste modo, a manutenção do parasito no ambiente possivelmente pode estar ocorrendo através da participação de outras espécies de hospedeiros mamíferos que ocorrem nos fragmentos da cidade, como o quati (COSTA et al., 2009), que possam apresentar elevadas parasitemias para *T. cruzi*. Ou pode haver ciclos exclusivos no dossel, uma vez que esses animais não foram amostrados.

Como *T. cruzi* é um parasita de grande sucesso evolutivo por infectar vários tipos celulares, centenas de espécies de mamíferos, e ser transmitido por dezenas de espécies de triatomíneos (JANSEN et al., 2015) sua manutenção em determinado ambiente, incluindo aqueles que estão constantemente sobre influência antrópica, é garantida.

A sorologia para *T. cruzi* com a titulação de 1/40 nos dois indivíduos soropositivos deve ser vista com cautela (OSTERMAYER; CASTRO, 1997) por se tratar de um ponto de corte que poderia indicar reação cruzada com outras espécies de *Trypanosoma*. Esse fato pode ser exemplificado por um animal soropositivo apresentar positividade na PCR para *T. cruzi* (24S) e para *Trypanosoma* sp. (DID) (sequenciamento da clonagem de 18S). O outro animal soropositivo apresentou negatividade na PCR, indicando parasitemia não detectável, característico de infecções tardias por *T. cruzi* (JANSEN et al., 1991; MOREIRA et al., 2013; ELISEI et al., 2018).

Interessantemente, dos 13 animais positivos no teste molecular para *T. cruzi*, 12 estavam soronegativos, podendo sugerir que eles foram amostrados nas primeiras duas semanas pós-infecção, período em que os níveis séricos de anticorpos não são suficientes para detecção pela RIFI (BAHIA et al., 2002; BERN et al., 2008; PEREIRA; NAVARRO, 2013). Como a infecção

experimental de *T. cruzi* via oral em *D. aurita* resultou em uma soroconversão tardia (ANA MARIA JANSEN, comunicação pessoal), possivelmente os *D. albiventris* que habitam fragmentos florestais em CG/MS possam estar se infectando através da alimentação de reduvídeos parasitados.

Devemos considerar que a confiabilidade dos testes de diagnóstico sorológico para *T. cruzi* vem sendo discutida e atualmente a Organização Mundial da Saúde tem recomendado o uso de dois testes sorológicos simultâneos para diagnóstico da infecção por *T. cruzi* em humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Porém, há um elevado número de resultados inconclusivos em bancos de sangue do mundo todo resultando na perda de bolsas de sangue e aumento do risco de transmissão de *T. cruzi* por transfusão sanguínea (GERRAUD et al., 2007; SCHMUNIS, 2007; BASILE et al., 2011). Ainda, a baixa prevalência de soropositividade observada nos os gambás pode estar, entre outros, associada ao genótipo TcII de *T. cruzi*, pois sabe-se que *Didelphis* spp. controlam a infecção por TcII, único genótipo detectado no presente trabalho em um indivíduo soro negativo, para níveis quase indetectáveis muito rapidamente (JANSEN et al., 2018).

Embora a associação entre *Didelphis* spp. e TcI venha sendo relatada (YEO et al., 2005; ACOSTA et al., 2017), o genótipo TcII vem foi reportado em infecções únicas ou mistas com outros genótipos de *T. cruzi* e/ou *T. rangeli* em varias espécies de mamíferos silvestres em todos os biomas brasileiros. Em relação à gambás, este genótipo foi descrito na Amazônia em *D. marsupialis*, na Mata Atlântica em *D. aurita*. Entretanto, para *D. albiventris*, foi relatado TcII apenas na Caatinga em associação com TcV/VI (JANSEN et al., 2015, 2018). Essa DTU era classicamente associada ao ciclo doméstico e com as formas crônicas severas da doença de Chagas em seres humanos, incluindo manifestações cardíacas e digestivas (MILES et al. 1981, ZINGALES et al. 1998, 2012, FREITAS et al. 2005, LAGES-SILVA et al. 2006). Atualmente esse perfil mudou, uma vez que a absoluta maioria dos casos de DC acontece na Amazonia por via oral e pelos genótipos TcI e TcIV.

A sobreposição dos picos observados nas sequências obtidas do gene 18SrRNA sugerem a presença de infecções mistas. Neste contexto, a clonagem dos produtos amplificados do gene 18SrRNA, embora laboriosa e seletiva, pôde detectar outras diferentes espécies de *Trypanosoma* além

daquelas usualmente reportadas para *D. albiventris*, como *T. cruzi* e *T. rangeli*. Deste modo, detectamos pela primeira vez em *D. albiventris* a infecção por *T. lainsoni* e a identificação de uma NUMT, *Trypanosoma* sp. (DID).

Até então, *T. lainsoni* havia sido reportado apenas duas vezes, ambas em roedores na Amazônia (NAIFF; BARRETT, 2013; ORTIZ et al., 2018). O fato de encontrarmos uma infecção natural por *T. lainsoni* em *D. albiventris*, associado ao insucesso da infecção experimental de *T. lainsoni* em *D. marsupialis* por NAIFF e BARRETT (2013), mostra que há muito a ser estudado sobre a biologia e ecologia de representantes do gênero *Trypanosoma*. O encontro de *T. lainsoni* em *D. marsupialis* indica duas situações: (i) *T. lainsoni* é uma espécie generalista em relação ao número de espécies de mamíferos que parasita, e (ii) *T. lainsoni* pode estar se adaptando a um novo hospedeiro. De fato, a troca de hospedeiros vem sendo reportado como um fenômeno biológico comum na formação de associações simbióticas (AGOSTA et al., 2010; ARAÚJO et al., 2015).

No que diz respeito ao *Trypanosoma* sp. (DID), encontramos 100% de cobertura e 98% de identidade com uma sequência de morcego (KT368796) do gênero *Trachops* sp., capturado no Rio Grande do Norte (LIMA et al., 2015). A proximidade filogenética de *Trypanosoma* sp. (DID) com uma sequência de um tripanosoma de morcego, mostra que essa NUMT pode ter tido caminho evolutivo semelhante com o descrito para o clado *T. cruzi* em “*The Bat Seeding*” Hypothesis (HAMILTON et al., 2012), cuja proximidade entre seus principais hospedeiros, morcegos e gambás, teve papel fundamental na origem do clado, através de adaptações sequenciais a novos hospedeiros. De fato, *Didelphis* spp. são considerados antigos reservatórios hospedeiros do *T. cruzi* (JANSEN, et al., 1999; 2015; 2018).

O registro de infecção natural por *T. lainsoni* e *Trypanosoma* sp. (DID) em *D. albiventris* no presente estudo mostra as lacunas ainda existentes em relação à ecologia das espécies do gênero *Trypanosoma* e reforça a interação biológica do parasita com *Didelphis* spp. A teoria da adaptação ecológica prevê que, em alguns casos, as adaptações evoluíram em um ambiente particular (o hospedeiro) e podem permitir que o organismo sobreviva sob diferentes condições e colonize com sucesso o novo ambiente, no caso, um novo tecido ou espécie hospedeira (MÁCOVÁ et al., 2018). Como a adaptação ecológica

pode acontecer mais rapidamente quando o repertório genético do parasita contem informações genéticas específicas que permita colonizar o novo hospedeiro (AGOSTA, 2006), podemos hipotetizar que o gênero *Trypanosoma* possui uma enorme plasticidade genotípica adaptativa que favoreça (a) colonizar uma nova espécie hospedeira que apresente um recurso muito semelhante ao hospedeiro ancestral, adaptação ecológica via rastreamento de recursos, (b) colonizar hospedeiros que apresentem novos recursos (AGOSTA; KLEMENS, 2008). Em soma, esse achado mostra que a riqueza de *Trypanosoma* spp., bem como a distribuição das diferentes espécies ainda é subestimada.

Segundo DARIO et al. (2017b), ferramentas moleculares com alto poder discriminatório tem permitido a identificação de novas espécies de *Trypanosoma*, como a identificação de *Trypanosoma* sp. (DID), bem como de novas espécies de hospedeiros, como a infecção de *T. lainsoni* em *D. albiventris* relatada no presente estudo. A diversidade de pequenos mamíferos observada nos fragmentos conservados do presente trabalho pode ter uma forte relação com a riqueza de espécies de *Trypanosoma* encontradas em *D. albiventris*, como relatado por XAVIER et al. (2007) para *T. cruzi*.

Pela diversidade de espécies de *Trypanosoma* spp. encontradas parasitando *Didelphis* spp, esse grupo de marsupiais podem ser considerados como bioacumuladores de *Trypanosoma* spp. muito provavelmente por habitarem diferentes nichos no ecótopo silvestre, peri-domicílio e habitações rurais e urbanas; (ii) se alimentarem de pequenos vertebrados e artrópodes, e (iii) terem uma ancestralidade evolutiva comum aos tripanosomas (JANSEN et al., 2018).

CONCLUSÕES

Nossas observações nos permitem concluir que:

- A perda da diversidade nos fragmentos aparenta ser fator determinante para a expressiva abundância de *D. albiventris* e *R. rattus*;
- Em fragmentos florestais urbanos de CG MS, o gambá *D. albiventris* é capaz de albergar diferentes espécies de *Trypanosoma* spp.;
- O uso de ferramentas de diagnóstico com maior poder de resolução é importante para avaliações de infecções subpatentes, bem como para a distinção de riqueza de espécies de *Trypanosoma*;
- A riqueza de espécies do gênero *Trypanosoma* que infectam *D. albiventris* está relacionada com o estado de conservação dos fragmentos florestais urbanos de Campo Grande, MS;
- *Trypanosoma lainsoni*, antes descrito apenas em roedor, também é capaz de infectar *D. albiventris*, colocando em questão a especificidade parasitária no gênero;
- A diversidade de *Trypanosoma* spp. ainda é subestimada.

REFERÊNCIAS

ABREU, M. S. L.; WIELICZKO, A. R.; MESQUITA, A.; VIEIRA, E. M. Consumo de pequenos mamíferos por canídeos simpátricos do sul do Brasil: sobreposição de nichos e seleção de presas. **Neotrop. Biol. Conserv.** v. 5, n. 1, p. 16-23. 2010.

ACOSTA, N.; LÓPEZ, E.; LEWIS, M. D.; LLEWELLYN, M. S.; GÓMEZ, A.; ROMÁN, F.; MILES, M. A.; YEO, M. Hosts and vectors of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in the Chagas disease endemic region of the Paraguayan Chaco. **Parasitology**. v. 144, n. 7, p. 884-898. 2017.

ADAMS, E. R.; HAMILTON, P. B.; GIBSON, W. C. African trypanosomes: celebrating diversity. **Trends Parasitology**. v. 26, n. 7, p. 324-8. 2010b.

ADAMS, E. R.; HAMILTON, P. B.; RODRIGUES, A. C.; MALELE, I. I.; DELESPAUX, V.; TEIXEIRA, M. M.; GIBSON, W. New *Trypanosoma (Duttonella) vivax* genotypes from tsetse flies in East Africa. **Parasitology**. v. 137, n. 4, p. 641-50. 2010a.

ADAMS, L. W. Urban wildlife habitats: a landscape perspective. **University of Minnesota Press**, Minneapolis, MN, USA. 1994.

AGOSTA, S. J.; JANZ, N.; BROOKS, D. R. How specialists can be generalists: resolving the “parasite paradox” and implications for emerging infectious disease. **Zool (Curitiba, Impreso)**. v. 27, p. 151–162. 2010.

AGOSTA, S. J.; KLEMENS, J. A. Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. **Ecol Lett**. v. 11, p. 1123–1134. 2008.

AGOSTA, S. J. On ecological fitting, plant–insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. **Oikos**. v. 114, p. 556-565. 2006.

ALLAN, B. F.; KEESING, F.; OSTFELD, R. S. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. **Conservation Biology** v. 17, p. 267–272. 2003.

ANDRADE, S. G. Caracterização de cepas do *Trypanozoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano. **Rev Patol Trop**. v. 3, n. 65, p. 121. 1974.

ANONYMOUS. Recommendations from a satellite meeting. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 94, p. 429-32. 1999.

ARAUJO, S. B. L.; BRAGA, M. P.; BROOKS, D. R.; AGOSTA, S. J.; HOBERG, E. P.; VON HARTENTHAL, F. W.; et al. Understanding Host-Switching by Ecological Fitting. **PLoS ONE**. v. 10, n. 10. 2015.

AUSTAD, S. N. The adaptable opossum. **Scientific American**, v. 258, p. 54-59, 1988.

BAHIA, M. T.; TAFURI, W. L.; CALIARI, M. V.; VELOSO, V. M.; MARTINS CARNEIRO, C.; MACHADO COELHO, G. L. L.; DE LANA, M. Comparison of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs inoculated with blood or metacyclic trypomastigotes of Berenice-62 and Berenice-78 strains via intraperitoneal and conjunctival routes. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 35, p. 339–345. 2002.

BAKER, J. R.; MILES, M. A.; GODFREY, D. G.; BARRETT, T. V. Biochemical characterization of some species of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) from bats (Microchiroptera). **Am J Trop Med Hyg.** v. 27, n. 3, p. 483-91. 1978.

BARNABÉ, C.; MOBAREC, H. I.; JURADO, M. R.; CORTEZ, J. A.; BRENIÈRE, S. F. Reconsideration of the seven discrete typing units within the species *Trypanosoma cruzi*, a new proposal of three reliable mitochondrial clades. **Infect Genet Evol.** v. 39, p. 176-186. 2016.

BAPTISTA, R. P.; VILA, D. A. D.; SEGATTO, M.; VALLE, I. F.; FRANCO, G. R.; VALADARES, H. M. S.; GONTIJO, E. D.; GALVÃO, L. M. C.; PENA, S. D. J.; CHIARI, E.; MACHADO, C. R.; MACEDO, A. M. Evidence of substantial recombination among *Trypanosoma cruzi* II strains from Minas Gerais. **Infection, Genetics and Evolution**, v22, p. 183-191. 2014.

BASILE, L.; JANSÀ, J. M.; CARLIER, Y.; SALAMANCA, D. D.; ANGHEBEN, A.; SEIXAS, J. Working group on Chagas Disease. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. **Euro Surveill.** v. 16, n. 37. 2011.

BERN, C.; COURA, J. C.; GOLDENBERG, S.; GUHL, F.; JUNQUEIRA, A. C. V.; LORCA, M.; ET AL. International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas disease. Médecins Sans Frontières. Campaign for Access to Essential Medicines. Technical Report. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 41, p. 315-9. 2008.

BONVICINO, C. R.; LINDBERGH, S. M.; MAROJA, L. S.; Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic forest and Cerrado: comments on their potential use for monitoring environment. **Braz. J. Biol.** v. 62, p. 765–774. 2002.

BRISSE, S.; VERHOEF, J.; TIBAYREC, M. Characterization of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. **Int J Parasitol.** v. 31, p. 1218-26. 2001.

BRISSE, S.; BARNABÉ, C.; TIBAYRENC, M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. **Int J Parasitol.** v. 39, p. 963-73. 2000.

BRISSE, S.; BARNABÉ, C.; TIBAYRENC, M. *Trypanosoma cruzi*: how many relevant phylogenetic subdivisions are there? **Parasitol Today.** v. 14, p. 178-9. 1998.

BRISSE, S. Phylogénie moléculaire des clones naturels de *Trypanosoma cruzi*, agente de la maladie de Chagas: évolution clonale, recombinaison génétique, et relations phylogénétiques avec d'autres espèces du sous-genre *Schyzotripanum*. Montpellier. **Tese de Doutorado** - Université Montpellier II. 1997.

BUCZKOWSKI, G.; RICHMOND, D. S. The effect of urbanization on ant abundance and diversity: a temporal examination of factors affecting biodiversity. **PLoS One**. 2012.

BULLOCK, J. M.; BONTE, D.; PUFAL, G.; DA SILVA CARVALHO, C.; CHAPMAN, D. S.; GARCÍA, C.; GARCÍA, D.; MATTHYSEN, E.; DELGADO, M. M. Human-mediated dispersal and the rewiring of spatial Networks. **Trends Ecol Evol**. v. 33, n.12, p. 958-970. 2018.

CÁCERES, N. C. Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e conservação. Campo Grande:, p. 129-154. 2012.

CÁCERES, N. C.; CARMIGNOTTO, A. P.; FISCHER, E.; SANTOS, C. F. Mammals from Mato Grosso do Sul, Brazil. **Check List** 4(3): 321–335, 2008.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Uso do Espaço por Marsupiais: Fatores Influentes, Comportamento e Heterogeneidade Espacial. In Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução (Cáceres, N. C.; Monteiro-Filho, E. L. A. eds.). **Ed. UFMS**, Campo Grande, p. 203-215. 2006.

CÁCERES, N. C. Food habits and seed dispersal by the white-eared opossum *Didelphis albiventris* (Mammalia, Marsupialia) in southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 37, p. 97-104, 2002.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. The common opossum, *Didelphis aurita*, as a seed disperser of several plants in southern Brazil. **Cien Cult**. v. 52, p. 41–44. 2000.

CÁCERES, N. C.; DITTRICH, V. A. O.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Fruit consumption, distance of seed dispersal and germination of Solanaceous plants ingested by the common opossum (*Didelphis aurita*) in southern Brazil. **Rev Ecol Terre Vie**. v. 54, p. 225–234. 1999.

CALOURO, A. M.; SANTOS, F. G. A.; FAUSTINO, S. F.; SOUZA, S. F.; LAGUE, B. M.; MARCIENTE, R.; SANTOS, G. J. L.; CUNHA, A. O. Riqueza e abundância de morcegos capturados na borda e no interior de um fragmento florestal do estado do Acre, Brasil. **Biotemas**. v. 23, n. 4, p. 109-117. 2010.

CAMARGO, N. F. De. **Uso dos estratos verticais por pequenos mamíferos em formações florestais do Cerrado brasileiro: padrões de diversidade, relação com a disponibilidade de recursos, seleção de hábitat e habilidade de locomoção arborícola das espécies**. 2015. viii, 143 p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

CARDOSO, J.; SOARES, M. J.; MENNA-BARRETO, R. F.; LE BLOAS, R.; SOTOMAIOR, V. S.; KRIEGER, M. A., Inhibition of proteasome activity blocks *Trypanosoma cruzi* growth and metacyclogenesis. **Parasitol. Res.** v. 103, n. 4, p. 941–951. 2008.

CARRASCO, H. J.; SEGOVIA, M.; LLEWELLYN, M. S.; MOROCOIMA, A.; URDANETAMORALES, S.; MARTÍNEZ, C.; MARTÍNEZ, C. E.; GARCÍA, C.; RODRÍGUEZ, M.; ESPINOSA, R.; ALARCÓN DE NOYA, B.; DÍAZ-BELLO, Z.; HERRERA, L.; FITZPATRICK, S.; YEO, M.; MILES, M. A.; FELICIANGELI, M. D. Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. **PLoS Negl Trop Dis.** v. 6, 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **American Trypanosomiasis.** 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/index.html>>. Acesso em Novembro de 2018.

CHAPMAN, C. A., GILLESPIE T. R.; GOLDBERG T. L. Primates and the ecology of their infectious diseases: How will anthropogenic change affect host-parasite interactions? **Evolutionary Anthropology** v. 14, p. 134–144. 2005.

COSSON, J. F.; PONS, J. M.; MASSON, D. Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana. **Journal of Tropical Ecology.** v. 15, p. 515–534. 1999.

COSTA, E. M. J.; MAURO, R. A.; SILVA, J. S. V. Group composition and activity patterns of brown-nosed coatis in savanna fragments, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 4, p.985-991. 2009.

COSTA, I. C. M. A Fauna Sinantrópica Nociva nos Portos Brasileiros. **Florianópolis**, 2013.

COURA, JR.; JUNQUEIRA, A. C. V.; FERNANDES, O.; VALENTE, S. A. S.; MILES, M. A. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. **Trends Parasitol.** v. 18, p. 171-6. 2002.

CRUZ-SALAZAR, B.; RUIZ-MONTOYA L; NAVARRETE-GUTIÉRREZ, D.; ESPINOZA-MEDINILLA, E.; VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E.; VÁZQUEZ, L. B. Diversidad genética y abundancia relativa de *Didelphis marsupialis* y *Didelphis virginiana* en Chiapas, México. **Revista Mexicana de Biodiversidad.** v. 85, p. 251–261. 2014.

D`ALESSANDRO, A. The biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. In: LUMSDEN, W. H. M.; EVANS, D. A., editores. *Biology of Kinetoplastida*. London: p. 327-403. 1976.

DAR, P. A.; RESHI, Z. A. Components, processes and consequences of biotic homogenization: a review. **Contemp Probl Ecol.** v. 7, p. 123–136. 2014.

DARIO, M. A.; LISBOA, C. V.; COSTA, L. M.; MORATELLI, R.; NASCIMENTO, M. P.; COSTA, L. P.; LEITE, Y. L. R.; LLEWELLYN, M. S.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. High *Trypanosoma* spp. diversity is maintained by bats and triatomines in Espírito Santo state, Brazil. **PLoS One**. v. 12, n. 11, 2017b.

DARIO, M. A. Estudo enzoótico em uma área de doença de Chagas aguda, no município de Guarapari (Espírito Santo): plasticidade biológica e diversidade da classe Kinetoplastea. 2017a. 162 p. **Tese de Doutorado**. Instituto Oswaldo Cruz. 2017.

DEARBORN, D. C.; KARK, S. Motivations for conserving urban biodiversity. **Conservation Biology** v. 24, p. 432–440. 2010.

DEANE, M. P.; LENZI, H. L.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 79, p. 513–5. 1984

DIAS, J. C. P. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bioecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39, n. 4, p. 370-375. 2006.

DORNELLES, S. S.; EVARISTO, G. H.; TOSETTO, M.; MASSANEIRO JR, C.; SEIFERT, V.R.; RABOCH, B.; GONÇALVES, J.; VALENTIM, C. Diversidade de mamíferos em fragmentos florestais urbanos na Bacia Hidrográfica do Rio Cachoeira, Joinville, SC. **Acta Biológica Catarinense**. v. 4, n. 3, p. 126-135. 2017.

DOS SANTOS, W. G.; BUCK, G. A. Polymorphisms at the topoisomerase II gene locus provides more evidence for the partition of *Trypanosoma cruzi* into two major groups. **J Eukar Microbiol**. v. 46, p. 17-23. 1999.

EICHLER, S.; SCHAUB, G. A. The effects of aposymbiosis and of an infection with *Blastocrithidia triatomae* (Trypanosomatidae) on the tracheal system of the reduviid bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans*. **J Ins Physiol**. v. 44, p. 131-40. 1998.

ELISEI, R. M. T.; MATOS, C. S.; CARVALHO, A. M. R. S.; CHAVES, A. T.; MEDEIROS, F. A. C.; BARBOSA, R.; MARCELINO, A. P.; DOS SANTOS, E. K.; COELHO, E. A. F.; DUARTE, M. C.; DE OLIVEIRA, T. A. M.; DA COSTA, M. O. R.; MENEZES-SOUZA, D. Immunogenomic screening approach to identify new antigens for the serological diagnosis of chronic Chagas' disease. **Appl Microbiol Biotechnol**. 2018.

EMMONS, L.H.; FEER, F. Neotropical Rainforest mammals: a field guide. Chicago, **University of Chicago Press**, 2nd ed., II. 307p. 1997.

ESPINOSA . **Origem, evolução e relações filogenéticas de homólogos de prolina racemase em espécies de *Trypanosoma***. 2014. 48 p. Tese (Biologia da Relação Patógeno–Hospedeiro) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

FEIBER, S. D. Áreas verdes urbanas imagem e uso: o caso do passeio público de Curitiba, PR. **R. RA'E GA**, Curitiba, n. 8, p. 93-105. 2004.

FERMINO, B. R.; PAIVA, F.; SOARES, P.; TAVARES, L. E.; VIOLA, L. B.; FERREIRA, R. C.; ET AL. Field and experimental evidence of a new caiman trypanosome species closely phylogenetically related to fish trypanosomes and transmitted by leeches. **Int J Parasitol Parasites Wildl.** v. 4, n. 3, p. 368–78. 2015.

FERNANDES, A. P.; NELSON, K.; BEVERLEY, S. M. Evolution of nuclear ribosomal RNAs in kinetoplastid protozoa: perspective on the age and origins of parasitism. **Proc Natl Acad Sci USA.** v. 90, 1993.

FERNANDES, M. C.; FLANNERY, A. R.; ANDREWS, N.; MORTARA, R. A. Extracellular amastigotes of *Trypanosoma cruzi* are potent inducers of phagocytosis in mammalian cells. **Cell Microbiol.** 2012.

FERNANDES, O.; SANTOS, S. S.; CUPOLILLO, E.; MENDONÇA, B.; DERRE, R.; JUNQUEIRA, A. C.; SANTOS, L. C.; STURM, N. R.; NAIFF, R. D.; BARRET, T. V.; CAMPBELL, D. A.; COURA, JR. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** v. 95, n. 1, p. 97-9. 2001.

FERNANDES, O.; MANGIA, R. H.; LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; MOREL, C. M.; ZINGALES, B.; CAMPBELL, D. A.; JANSEN, A. M. The complexity of the complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro State revealed by non-transcribed spacer of the mini exon gene. **Parasitol** v. 118, p. 161-166. 1999.

FERNANDES, O.; STURM, N. R.; DERRE, R.; CAMPBELL, D. A. The mini-exon gene: a genetic marker for zymodeme III of *Trypanosoma cruzi*. **Mol Biochem Parasitol.** v. 95, p. 129-33. 1998.

FERREIRA, K. A.; RUIZ, J. C.; DIAS, F. C.; LAGES-SILVA, E.; TOSI, L. R.; RAMÍREZ, L. E.; PEDROSA, A. L. Genome survey sequence analysis and identification of homologs of major surface protease (gp63) genes in *Trypanosoma rangeli*. **Vector Borne Zoonotic Dis.** v. 10, n. 9, p. 847-53. 2010.

FERREIRA, R. C.; DE SOUZA, A. A.; FREITAS, R. A.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S.; BARRETT, T. V.; SHAW, J. J.; TEIXEIRA, M. M. A phylogenetic lineage of closely related trypanosomes (Trypanosomatidae, Kinetoplastida) of anurans and sand flies (Psychodidae, Diptera) 31 sharing the same ecotopes in Brazilian Amazonia. **J Eukaryot Microbiol.** v. 55, n. 5, p. 427-35. 2008.

FERREIRA, R. C.; CAMPANER, M.; VIOLA, L. B.; TAKATA, C. S.; TAKEDA, G. F.; TEIXEIRA, M. M. Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic Forest and Pantanal biomes in Brazil. **Parasitology.** v. 134, p. 1623-38. 2007.

FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.; BROCHADO, A. L.; GUALA II, G. F. Caminhamento: um método expedito para levantamentos florísticos qualitativos. **Cadernos de Geociências.** v. 12, p.39-43. 1994.

FOUNTAIN-JONES, N. M.; CRAFT, M. E.; FUNK, W. C.; KOZAKIEWICZ, C.; TRUMBO, D. R.; BOYDSTON, E. E.; LYREN, L. M.; CROOKS, K.; LEE, J. S.; VANDEWOUDE, S.; CARVER, S. Urban landscapes can change virus gene flow and evolution in a fragmentation-sensitive carnivore. **Mol Ecol.** v. 26, n. 22, p. 6487-6498. 2017.

FREITAS, J. M.; LAGES-SILVA, E.; CREMA, E.; PENA, S. D. J.; MACEDO, A. M. Real time PCR strategy for the identification of major lineages of *Trypanosoma cruzi* directly in chronically infected human tissues. **Int. J. Parasitol.** v. 35, n. 4, p. 411-417, 2005.

GARCÍA, H. A.; RODRIGUES, A. C.; MARTINKOVIC, F.; MINERVINO, A. H.; CAMPANER, M.; NUNES, V. L.; PAIVA, F.; HAMILTON, P. B.; TEIXEIRA, M. M. Multilocus phylogeographical analysis of *Trypanosoma (Megatrypanum)* genotypes from sympatric cattle and water buffalo populations supports evolutionary host constraint and close phylogenetic relationships with genotypes found in other ruminants. **Int J Parasitol.** v. 41, n. 13- 14, p. 1385-96. 2011b.

GARCÍA, H. A.; KAMYINGKIRD, K.; RODRIGUES, A. C.; JITTAPALAPONG, S.; TEIXEIRA, M. M.; DESQUESNES, M. High genetic diversity in field isolates of *Trypanosoma theileri* assessed by analysis of cathepsin L-like sequences disclosed multiple and new genotypes infecting cattle in Thailand. **Vet Parasitol.** v. 180, n. 3-4, p. 363-7. 2011a.

GARDEN, J.; MCALPINE, C.; PETERSON, A.; JONES, D.; POSSINGHAM, H. Review of the ecology of Australian urban fauna: a focus on spatially explicit processes. **Austral Ecol** v. 31, p. 126–148. 2006.

GARDNER, A. L. Mammals of South America. Vol. 1. Marsupials, xenarthrans, shrews and bats. Chicago: **University of Chicago Press**, 2008.

GATTI, A.; BIANCHI, R.; ROSA, C. R. X.; MENDES, S. L. Diet of crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae) in Paulo Cesar Vinha State Park, Espírito Santo State, Brazil. **Mammalia.** v. 70, n. 1-2, p. 153-155. 2006.

GERRAUD, O.; ANDREU, G.; ELGHOZZI, M. H.; LAPERCHE, S.; LEFRÈRE, J. J. Measures to prevent transfusion-associated protozoal infections in non-endemic countries. **Travel Med Infect Dis.** v. 5, p. 110–2. 2007.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A. Forest fragmentation, the decline of an endangered primate, and changes in host-parasite interactions relative to an unfragmented forest. **American Journal of Primatology** v. 69, p. 1–13. 2007.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A. Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. **Conservation Biology.** v. 29, p.441–448. 2006.

GILLESPIE, T. R., CHAPMAN, C. A.; GREINER, E. C. (Effects of logging on gastrointestinal parasite infections and infection risk in African primates. **Journal of Applied Ecology.** v. 42, p. 699–707. 2005.

GRAIPEL, M. E.; SANTOS-FILHO, M. Reprodução e dinâmica populacional de *Didelphis aurita* Wied-Neuwied (Mammalia: Didelphimorfia) em ambiente periurbano na Ilha de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biot.**, v. 19, n. 1, p. 65-73. 2006.

GRIBEL, R. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in central Brazil. **Biotropica**, v. 20, p. 344-347. 1988.

GUHL, F.; AUDERHEIDE, A.; RAMÍREZ, J. D. From ancient to contemporary molecular eco-epidemiology of Chagas disease in the Americas. **Int J Parasitol.** v. 44, p. 605-12. 2014.

GUHL, F.; RAMÍREZ, J. D. Retrospective molecular integrated epidemiology of Chagas disease in Colombia infection. **Infect Genet Evol.** v. 20, p. 148–154. 2013.

GURGEL-GONÇALVES, R.; RAMALHO, E. D.; DUARTE, M. A.; PALMA, A. R.; ABAD-FRANCH, F.; CARRANZA, J. C.; CUBA, C. A. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. **Rev Inst Med Trop.** Sao Paulo. v. 46, n. 6, p. 323-30. 2004.

HAAG, J.; O'H UIGIN, C.; OVERATH, P. The molecular phylogeny of trypanosomes: evidence for an early divergence of the Salivaria. **Mol Biochem Parasitol.** v. 91, p. 37-49. 1998.

HALL, T. A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series.** v. 41, p. 95-98. 1999.

HAMILTON, P. B.; TEIXEIRA, M. M.; STEVENS, J. R. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the 'bat seeding' hypothesis. **Trends Parasitol.** v. 28, n. 4, p. 136-41. 2012.

HAMILTON, P. B.; ADAMS, E. R.; NJIOKOU, F.; GIBSON, W. C.; CUNY, G.; HERDER, S. Phylogenetic analysis reveals the presence of the *Trypanosoma cruzi* clade in African terrestrial mammals. **Infect Genet Evol.** v. 9, n. 1, p. 81-6. 2009.

HAMILTON, P. B.; GIBSON, W. C.; STEVENS, J. R. Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. **Mol Phylogenet Evol.** v. 44, n. 1, p. 15-25. 2007.

HAYES, P. M.; LAWTON, S. P.; SMIT, N. J.; GIBSON, W. C.; DAVIES, A. J. Morphological and molecular characterization of a marine fish trypanosome from South Africa, including its development in a leech vector. **Parasit Vectors.** v. 7, n. 50. 2014.

HATAMA, S.; SHIBAHARA, T.; SUZUKI, M.; KADOTA, K.; UCHIDA, I.; KANNO, T. Isolation of a *Megatrypanum* trypanosome from sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Japan. **Vet Parasitol.** v. 149, n. 1-2, p. 56-64. 2007.

HEMMIGE, V.; TANOWITZ, H.; SETHI, A. *Trypanosoma cruzi* infection: a review with emphasis on cutaneous manifestations. **Int J Dermatol.** v. 51, n. 5, p. 501-8. 2012.

HENRIKSSON, J.; PORCEL, B.; RYDAKER, M.; RUIZ, A.; SABAJ, V.; GALANTI, N.; ET AL. Chromosome specific markers reveal conserved linkage groups in spite of extensive chromosomal size variation in *Trypanosoma cruzi*. **Mol Biochem Parasitol.** v. 73, p. 63-74. 1995.

HENRIKSSON, J.; PETTERSSON, U.; SOLARI, A. *Trypanosoma cruzi*: correlation between karyotype variability and isoenzyme classification. **Exp Parasitol.** v. 77, p. 334-48. 1993.

HERRERA, C. P.; LICON, M. H.; NATION, C. S.; JAMESON, S. B.; WESSON, D. M. Genotype diversity of *Trypanosoma cruzi* in small rodents and *Triatoma sanguisuga* from a rural area in New Orleans, Louisiana. **Parasit Vectors.** v. 24, n. 8, p. 123. 2015.

HERRERA, H. M.; ROCHA, F. L.; LISBOA, C. V.; RADEMAKER, V.; MOURÃO, G. M.; JANSEN, A. M. Food web connections and the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in the Pantanal Region, Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 2011.

HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals: a zoological monograph. **Oxford: Blackwell Scientific Publications.** 1972.

HUMBERG, R. M.; OSHIRO, E. T.; CRUZ, M. D. O. S.; RIBOLLA, P. E.; ALONSO, D. P.; FERREIRA, A. M.; BONAMIGO, R. A.; TASSO, N. JR.; DE OLIVEIRA, A. G. *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Am J Trop Med Hyg.** v. 87, n. 3, p. 470-2. 2012.

IUCN. 2016. **The IUCN Red List of Threatened species.** Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/>>. Acesso em Novembro de 2018.

JÁCOMO, A. T. A.; SILVEIRA, L.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab-eating fox (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brazil. **J. Zool.** v. 262, p. 99-106. 2004.

JAKES, K. A.; O'DONOGHUE, P. J.; ADLARD, R. D. Phylogenetic relationships of *Trypanosoma chelodina* and *Trypanosoma binneyi* from Australian tortoises and platypuses inferred from small subunit rRNA analyses. **Parasitology.** v. 123, n. 5, p. 483-7. 2001.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasit Vectors**. v. 6:11, n. 1, p. 502. 2018.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C.C.; ROQUE, A. L. R. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. **Acta Tropica**. v. 151, p. 1–15. 2015.

JANSEN, A. M. Marsupiais Didelfídeos: gambá e cuícas. In: ANDRADE, A., PINTO, SC., OLIVEIRA, RS., (Orgs). Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: **Editores FIOCRUZ**, 388 p. 2002.

JANSEN, A. M.; PINHO, A. P. S.; LISBOA, C. V.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R. H.; FERNANDES, O. The sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi*: A still unsolved puzzle. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 94, p. 203-204. 1999.

JANSEN, A. M. et al. *Trypanosoma cruzi* in *Didelphis marsupialis*: an parasitological and serological follow up of the acute phase. **Experimental Parasitology**, v. 73, p. 249-259. 1991.

KAUFER, A.; ELLIS, J.; STARK, D.; BARRATT, J. The evolution of trypanosomatid taxonomy. **Parasit Vectors**. v. 10, p. 287. 2017.

KEESING, F.; HOLT, R. D.; OSTFELD, R. S. Effects of species diversity on disease risk. **Ecology Letters**. v. 9, p.485–498. 2006.

KNAPP, S.; WINTER, M.; KLOTZ, S. Increasing species richness but decreasing phylogenetic richness and divergence over a 320-year period of urbanization. **Journal of Applied Ecology**. v. 54, p. 1152–1160. 2017.

KNAPP, S.; KÜHN, I.; SCHWEIGER, O.; KLOTZ, S. Challenging urban species diversity: Contrasting phylogenetic patterns across plant functional groups in Germany. **Ecology Letters** v. 11, p. 1054–1064. 2008.

LAGES-SILVA, E.; RAMIREZ, L. E.; PEDROSA, A. L.; CREMA, E.; DA CUNHA GALVÃO, L. M.; JUNHO PENA, S. D.; MACEDO, A. M.; CHIARI, E. Variability of kinetoplast DNA gene signatures of *Trypanosoma cruzi* II strains from patients with different clinical forms of Chagas' disease in Brazil. **J. Clin. Microbiol.** v. 44, n. 6, p. 2167-2171, 2006.

LEMOS, B.; CERQUEIRA, R. Morphological differentiation in the White-eared opossum group (Didelphidae: *Didelphis*). **Journal of Mammalogy**, Champaign, US, v. 83, n. 2, p. 354-369, 2002.

LENZ, J. et al. Seed-dispersal distributions by trumpeter hornbills in fragmented landscapes. **Proc. R. Soc. B Biol. Sci.** v. 278, p. 2257–2264. 2011.

LEWIS, M. D.; FRANCISCO, A. F.; JAYAWARDHANA, S.; LANGSTON, H.; TAYLOR, M. C.; KELLY, J. M. Imaging the development of chronic Chagas disease after oral transmission. **Sci Rep**. v. 26;8, n. 1, p. 11292. 2018.

LIMA, L.; ESPINOSA-ÁLVAREZ, O.; PINTO, C. M.; CAVAZZANA, M. JR.; PAVAN, A. C.; CARRANZA, J. C.; LIM, B. K.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S.; CAMARGO, E. P.; HAMILTON, P. B.; TEIXEIRA, M. M. New insights into the evolution of the *Trypanosoma cruzi* clade provided by a new trypanosomespecies tightly linked to Neotropical *Pteronotus* bats and related to an Australian lineage of trypanosomes. **Parasit Vectors**. v. 23, n. 8, p. 657. 2015.

LISBOA, C. V.; MANGIA, R. H.; DE LIMA, N. R. C.; MARTINS, A.; DIETZ, J.; BAKER, A. J.; RAMON-MIRANDA, C. R.; FERREIRA, L. F.; FERNANDES, O.; JANSEN, A. M. Distinct patterns of *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* in distinct Atlantic Coastal Rainforest fragments in Rio de Janeiro – Brazil. **Parasitology**. v. 129, p. 703–711. 2004.

LLEWELLYN, M. S.; MILES, M. A.; CARRASCO, H. J.; LEWIS, M. D.; YEO, M.; VARGAS, J.; TORRICO, F.; DIOSQUE, P.; VALENTE, V.; VALENTE, S. A.; GAUNT, M. W. Genome-scale multilocus microsatellite typing of *Trypanosoma cruzi* discrete typing unit I reveals phylogeographic structure and specific genotypes linked to human infection. **PLoS Pathog**. v. 5, n. 5. 2009.

LUKES, J.; JIRKU, M.; DOLEZEL, D.; KRALOVÁ, I.; HOLLAR, L.; MASLOV, D. A. Analysis of ribosomal RNA genes suggests that trypanosomes are monophyletic. **J Mol Evol**. v. 44, n. 5, p. 521-7. 1997.

MACEDO, A. M.; MARTINS, M. S.; CHIARI, E.; PENA, S. D. DNA fingerprinting of *Trypanosoma cruzi*: a new tool for characterization of strains and clones. **Mol Biochem Parasitol**.v. 55, p. 147-53. 1992.

MÁČOVÁ, A.; HOBLÍKOVÁ, A.; HYPŠA, V.; STANKO, M.; MARTINŮ, J.; KVIČEROVÁ, J. Mysteries of host switching: Diversification and host specificity in rodent-coccidia associations. **Mol Phylogenet Evol**. v. 127, p.179-189. 2018.

MAGURRAN, A. E. Medindo a diversidade biológica. **Editora UFPR**, Curitiba. 261p. 2011.

MAIA DA SILVA, F.; MARCILI, A.; ORTIZ, P. A.; EPIPHANIO, S.; CAMPANER, M.; CATAO-DIAS, J. L.; SHAW, J. J.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. Phylogenetic, morphological and behavioural analyses support host switching of *Trypanosoma (Herpetosoma) lewisi* from domestic rats to primates. **Infect Genet Evol**. v. 10, n. 4, p. 522-9. 2010.

MALTA, M. C. C.; LUPPI, M. M. 2006. Marsupialia: Didelphimorphia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds). Tratado de animais selvagens: Medicina veterinária. São Paulo: **Roca**. p.340-357.

MARCILI, A.; LIMA, L.; CAVAZZANA, M.; JUNQUEIRA, A. C.; VELUDO, H. H.; MAIA DA SILVA, F.; ET AL. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**. 2009.

MARTINS, A. V.; GOMES, A. P.; MENDONÇA, E. G.; FIETTO, J. L. R.; SANTANA, L. A.; OLIVEIRA, M. G. A.; SANTOS, M. G. R. F.; VITORINO, R. R.; BATISTA, R. S. Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. **Infectio**. v. 16, n. 1, p. 45-58. 2012.

MARTINS, R. L.; GRIBEL, R. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 30, p. 37-45. 2007.

MASIGA, D.K.; SMYTH, A. J.; HAYES, P.; BROMIDGE, T. J.; GIBSON, W. C. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. **International Journal of Parasitology**. v. 22, n. 7, p. 909-918. 1992.

MASLOV, D. A.; LUKES, J.; JIRKU, M.; SIMPSON, L. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of parasitism in the trypanosomatid protozoa. **Mol Biochem Parasitol**. v. 75, p. 197-205. 1996.

MASLOV, D. A.; AVILA, H. A.; LAKE, J. A.; SIMPSON, L. Evolution of RNA editing in kinetoplastid protozoa. **Nature**. v. 368:345, n. 8. 1994.

McDONALD, R. I.; URBAN, D. L. Edge effects on species composition and exotic species abundance in the North Carolina piedmont. **Biol Invasions**. v. 8, p. 1049–1060. 2006.

McDONNELL, M. J.; HAHS, A. K. The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: Current status and future directions. **Landscape Ecology**. v. 23, p. 1143–1155. 2008.

McDONNELL, M. J.; PICKETT, S. T. A. Ecosystem structure and function along urban-rural gradients: an unexploited opportunity for ecology. **Ecology** v. 71, p. 1232–1237. 1990.

McKINNEY, M. L. Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. **Urban Ecosystems**. v. 11, p. 161–176. 2008.

McKINNEY, M. L. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. **Biological Conservation**, v. 127, p. 247-260. 2006.

McKINNEY, M. L. Urbanization, biodiversity and conservation. **BioScience**. v. 52, p. 883–890. 2002.

McKINNEY, M. L.; LOCKWOOD, J. L. Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. **Trends in Ecology and Evolution**. v. 14, p. 450–453. 1999.

MEYER, C. F. J.; KALKO, E. K. V. Bat assemblages on neotropical landbridge islands: nested subsets and null model analyses of species co-occurrence patterns. **Diversity and Distributions** 14, 644–654. 2008.

MILES, M.A.; LLEWELLYN, M.S.; LEWIS, M.D.; YEO, M.; BALEELA, R.; FITZPATRICK, S.; ET AL. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. **Parasitol.** v. 136, p. 1509-1528. 2009.

MILES, M. A.; CEDILLOS, R. A.; POVOA, M. M.; DE SOUZA, A. A.; PRATA, A.; MACEDO, V. Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease? **Lancet.** v. 1, p. 1338-1340, 1981.

MILES, M. A.; LANHAM, S. M.; DE SOUZA, A. A.; PÓVOA, M. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** v. 74, n. 2, p. 221-37. 1980.

MILES, M. A.; SOUZA, A.; POVOA, M.; SHAW, J. J.; LAINSON, R.; TOYE, P. J. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with chagas' disease in Amazonian Brazil. **Nature.** v. 272, p. 819-21. 1978.

MILES, M. A.; TOYE, P. J.; OSWALD, S. C.; GODFREY, D. G. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** v. 71, n. 3, p. 217-25. 1977.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde - Consenso Brasileiro em doença de Chagas. **Rev Soc Bras Med Trop.** 38 Suppl v. 3, p. 7-29. 2005.

MORTARA, R. A.; ANDREOLI, W. K.; FERNANDES, M. C.; DA SILVA, C. V.; FERNANDES, A. B.; L'ABBATE, C.; ET AL. Host cell actin remodeling in response to *Trypanosoma cruzi*: trypomastigote versus amastigote entry. **Subcell. Biochem.** 2008.

MONTEIRO, W. M.; MAGALHAES, L. K.; SANTANA FILHO, F. S.; BORBOREMA, M.; SILVEIRA, H.; BARBOSA, M. *Trypanosoma cruzi* TcIII/Z3 genotype as agent of an outbreak of Chagas disease in the Brazilian Western Amazonia. **Trop Med Int Health.** v. 15, n. 9, p. 1049-1051. 2010b.

MONTEIRO, W. M.; BARBOSA, M.; TOLEDO, M. J.; FÉ, F. A.; FÉ, N. F. Series of acute Chagas' disease cases attended at a tertiary-level clinic in Manaus, State of Amazonas, from 1980 to 2006. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 43, n. 2, p. 207-210. 2010a.

MOREIRA, D.; LOPEZ-GARCÍA, P.; VICKERMAN, K. An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. **Int J Syst Evol Microbiol.** v. 54, n. 5, p. 1861-75. 2004.

MOREIRA, O. C.; RAMÍREZ, J. D.; VELÁZQUEZ, E.; MELO, M. F.; LIMA-FERREIRA, C.; GUHL, F.; SOSA-ESTANI, S.; MARIN-NETO, J. A.; MORILLO, C. A.; BRITTO, C. Towards the establishment of a consensus real-time qPCR to monitor *Trypanosoma cruzi* parasitemia in patients with chronic Chagas disease cardiomyopathy: a substudy from the BENEFIT trial. **Acta Trop.** v. 125, n. 1, p. 23-31. 2013.

MOREL, C. M.; CHIARI, E.; CAMARGO, E. P.; MATTEI, D. M.; ROMANHA, A. J.; SIMPSON, L. Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by pattern of restriction endonuclease products of kinetoplast DNA minicircles. **Proc Natl Acad Sci USA.** v. 7, p. 6810-6814. 1980.

MUÑOZ-SAN MARTÍN, C.; ZULANTAY, I.; SAAVEDRA, M.; FUENTEALBA, C.; MUÑOZ, G.; APT, W. Discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* detected by real-time PCR in Chilean patients with chronic Chagas cardiomyopathy. **Acta Trop.** v. 185, p. 280-284. 2018.

NAIFF, R. D.; BARRETT, T. V. *Trypanosoma (Megatrypanum) lainsoni* n. sp. from *Mesomys hispidus* (Rodentia: Echimyidae) in Brazil: trypomastigotes described from experimentally infected laboratory mice. **Parasite.** v. 20, n. 51, 5 p. 2013.

NOCK, C. A.; PAQUETTE, A.; FOLLETT, M.; NOWAK, D. J.; MESSIER, C. Effects of urbanization on tree species functional diversity in eastern North America. **Ecosystems** v. 16, p. 1487–1497. 2013.

NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Vet Res.** v. 40, n. 2, p. 26. 2009.

NUCCI, J. C. **Qualidade ambiental e adensamento:** um estudo de planejamento da paisagem do Distrito de Santa Cecília (Município de São Paulo). 1996. 229 p. Tese (Doutorado em Geografia Física) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

NUSSBAUM, K.; HONEK, J.; CADMUS, C. M.; EFFERTH, T. Trypanosomatid parasites causing neglected diseases. **Curr Med Chem.**v. 17, n. 15, p. 1594-617. 2010.

OLIFIERS, N.; JANSEN, A. M.; HERRERA, H. M.; BIANCHI, R. D. E. C.; D'ANDREA, P. S.; MOURÃO, G. D. E. M.; GOMPPER, M. E. Co-Infection and Wild Animal Health: Effects of Trypanosomatids and Gastrointestinal Parasites on Coatis of the Brazilian Pantanal. **PLoS One.** v. 14;10, n.12. 2015.

OLIFIERS, N.; GENTILE, R.; FISZON, J. T. Relation between small-mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Biologia.** v. 65, n. 3, p. 495-501. 2005.

ORTIZ, P. A.; GARCIA, H. A.; LIMA, L.; DA SILVA, F. M.; CAMPANER, M.; PEREIRA, C. L.; JITTAPALAPONG, S.; NEVES, L.; DESQUESNES, M.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. G. Diagnosis and genetic analysis of the worldwide distributed Rattus-borne *Trypanosoma (Herpetosoma) lewisi* and its allied species in blood and fleas of rodents. **Infect. Genet. Evol.** v. 63, p. 380-390. 2018.

OSTERMAYER, A. L.; CASTRO, A. M. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. Em: DIAS, JCP., and COURA, JR., org. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1997. 486 p.

PEDÓ, E.; TOMAZZONI, A.C.; HARTZ, S. M.; CHRISTOFF, A. U. Diet of crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnivora, Canidae), in a suburban area of southern Brazil. **Rev. Bras. Zool.** v. 23, n. 3, p. 637-641. 2006.

PENTER, C.; PEDÓ, E.; FABIÁN, M. E.; HARTZ, S. M. Inventário Rápido da Fauna de Mamíferos do Morro Santana, Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Biociências.** Porto Alegre, v. 6, n. 1, p. 117-125. 2008.

PEREIRA, P. C. M.; NAVARRO, E. C. Challenges and perspectives of Chagas' disease: a review. **J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.** v. 19, n. 34. 2013.

PICKETT, S. T. A.; CADENASSO, M. L.; GROVE, J. M.; NILON, C. H.; POUYAT, R. V.; ET AL. Urban ecological systems: linking terrestrial ecological, physical, and socioeconomic components of metropolitan areas. **Annual Review of Ecology and Systematics.** v. 32, p. 122–157. 2001.

PINHO, A. P., CUPOLLITO, E., MANGIA, R. H., FERNANDES, O.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.** v. 94, p. 509–514. 2000.

RAMÍREZ-IGLESIAS, J. R.; ELEIZALDE, M. C.; REYNA-BELLO, A.; MENDOZA, M. Molecular diagnosis of cattle trypanosomes in Venezuela: evidences of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* infections. **J Parasit Dis.** v. 41, n. 2, p. 450-458. 2017.

RAMÍREZ, J. D.; HERNÁNDEZ, C.; MONTILLA, M.; ZAMBRANO, P.; FLÓREZ, A. C.; PARRA, E. ET AL. First report of human *Trypanosoma cruzi* infection attributed to TcBat genotype. **Zoonoses Public Health.** v. 61, p. 477-9. 2014.

RAMÍREZ, J. D.; MONTILLA, M.; CUCUNUBÁ, Z. M.; FLÓREZ, A. C.; ZAMBRANO, P.; GUHL, F. Molecular epidemiology of human oral Chagas disease outbreaks in Colombia. **PLoS Negl Trop Dis.** v. 7. 2013.

RASSI, A. JR.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **Lancet.** v. 375, p. 1388–1402. 2010.

RAY, D. S. Conserved sequence blocks in kinetoplast minicircles from diverse species of Trypanosomes. **Molecular and Cellular Biology.** v. 9, n. 3, p 1365-1367. 1989.

REIG, O. Teoría Del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América Del Sul. **Monografía Natural**. v. 1, n. 1, p. 161. 1961.

RODRIGUES, A. C.; PAIVA, F.; CAMPANER, M.; STEVENS, JR.; NOYES, H. A.; TEIXEIRA, M. M. Phylogeny of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* and related trypanosomes reveals lineages of isolates associated with artiodactyl hosts diverging on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**. v. 132, n. 2, p. 215-24. 2006.

RODRIGUES, D. P.; SKUPIEN, F. L.; SAUSEN, J. O.; BRAUN, L. G. A.; LIMA, D. O. Pequenos mamíferos terrestres em fragmentos de mata no município de Cerro Largo, RS. **VI Jornada de Iniciação Científica e Tecnologia – UFFS**. 2016.

ROMAN, F.; IÑIGUEZ, A. M.; YEO, M.; JANSEN, A. M. Multilocus sequence typing: genetic diversity in *Trypanosoma cruzi* I (TcI) isolates from Brazilian didelphids. **Parasit Vectors**. v. 22;11, n. 1, p. 107. 2018.

SALZER, J. S.; RWEGO, I. B.; GOLDBERG, T. L.; KUHLENSCHMIDT, M. S.; GILLESPIE, T. R. *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. infections in primates in fragmented and undisturbed forest in western Uganda. **Journal of Parasitology**. v. 93, p. 439–440. 2007.

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

SCHOCHAT, E.; LERMAN, S. B.; ANDERIES, J. M.; WARREN, P. S.; FAETH, S. H.; NILON, C. H. Invasion, competition, and biodiversity loss in urban ecosystems. **Bioscience**. v. 60, p. 199–208. 2010.

SIH, A.; FERRARI, M. C. O.; HARRIS, D. J. Evolution and behavioral responses to human-induced rapid environmental change. **Evol Appl**. v. 4, p. 367–387. 2011.

SILVA, F. Mamíferos Silvestres Rio Grande do Sul. Publicação editada pela Fundação **Zoobotânica do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 1994.

SIMPSON, A. G. B.; STEVENS, JR.; LUKES, J. The Evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends Parasitol**. v. 74, p. 22-168. 2006.

SMITH, A.; CLARK, P.; AVERIS, S.; LYMBERY, A. J.; WAYNE, A. F.; MORRIS, K. D.; THOMPSON, R. C. A. Trypanosomes in a declining species of threatened Australian marsupial, the brush-tailed bettong *Bettongia penicillata* (Marsupialia: Potoroidae). **Parasitology**. v. 135, n. 11, p. 1329–1335, 2008.

SOARES, M. P. Verdes urbanos e rurais: orientação para arborização de cidades e sítios campestres. Porto Alegre: **Cinco Continentes**, 242 p. 1998.

SOUTO, R. P.; FERNANDES, O.; MACEDO, A. M.; CAMPBELL, D. A.; ZINGALES B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Mol Biochem Parasitol**. v. 52, p. 83:141. 1996.

- SOUTO, R. P.; ZINGALES, B. Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. **Mol Biochem Parasitol.** v. 62, n. 1, p. 45-52. 1993.
- STEVENS, J. R.; NOYES, H. A.; SCHOFIELD, C. J.; GIBSON, W. The molecular evolution of Trypanosomatidae. **Adv Parasitol** v. 48, p. 1-56. 2001.
- STEVENS, JR.; NOYES, H. A.; DOVER, G. A.; GIBSON, W. C. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi*. **Parasitology.** v. 118, n. 1, p. 107-16. 1999.
- STUART, K.; BRUN, R.; CROFT, S.; FAIRLAMB, A.; GURTNER, R. E.; MCKERROW, J.; ET AL. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. **J Clin Invest.** v. 118, p. 1301-10. 2008.
- TARRAGONA, E. L.; MASTROPAOLO, M.; ZURVERA, D.; BELDOMENICO, P. M.; GUGLIELMONE, A. A. Host-parasite association between *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae) and *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) in their southern ranges. **Exp Appl Acarol.** v. 75, n. 1, p. 129-134. 2018.
- TEELING, E. C.; SPRINGER, M. S.; MADSEN, O.; BATES, P.; O'BRIEN, S. J.; MURPHY, W. J. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science.** v. 307, p. 580–584. 2005.
- TERBORGH, J.; LOPEZ, L.; NUNEZ, V. P.; RAO, M.; SHAHABUDDIN, G.; ORIHEULA, G.; RIVEROS, R.; ADLER, G. H.; LAMBERT, T. D.; BALBAS, L. Ecological meltdown in predator-free forest fragments. **Science** v. 294, p. 1923–1926. 2001.
- TIBAYRENC, M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. **Int. J. Parasitol.** v. 28, p. 85–104. 1998.
- TIBAYRENC, M.; WARD, P.; MOYA, A.; AYALA, F. J. Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agente of Chagas disease, have a complex multiclonal stucture. **Proc Natl Acad Sci USA.** v. 83, p. 442-7. 1986.
- TOBIE, E. J. Observations on the development of *Trypanosoma rangeli* in the hemocoel of *Rhodnius prolixus*. **J Invertebr Pathol.** v. 15, p. 118-25. 1970.
- TOMAS, W. M.; ANTUNES, P. C.; BORDIGNON, M. O.; CAMILO, A. R.; CAMPOS Z.; CAMARGO, G.; CARVALHO, L. F. A. C.; CUNHA, N. L.; FISCHER, E.; GODOI, M. N.; HANNIBAL, W.; MOURÃO, G.; RIMOLI, J.; SANTOS, C. F.; SILVEIRA, M.; TOMAS, M. A. Checklist of mammals from Mato Grosso do Sul, Brazil. **Iheringia, Sér. Zool.** v. 107. 2017.
- TOMASINI, N. Introgression of the kinetoplast DNA: an unusual evolutionary journey in *Trypanosoma cruzi*. **Curr Genomics.** v. 19, n. 2, p. 133-139. 2018.

TRUC, P.; TIOUCHICHINE, M. L.; CUNY, G.; VATUNGA, G.; JOSENANDO, T.; SIMO, G.; HERDER, S. Multiple infections of *Trypanosoma brucei gambiense* in blood and cerebrospinal fluid of human African trypanosomiasis patients from Angola: consequences on clinical course and treatment outcome. **Infect Genet Evol.** v. 12, n. 2, p. 399-402. 2012.

URDANETA-MORALES, S; NIRONI, I. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums: I- isolation and experimental infections. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz,** Rio de Janeiro , v. 91, n. 4, p. 399-403, 1996.

VALLEJO, G. A.; GUHL, F.; SCHAUB, G. A. Triatominae—*Trypanosoma cruzi*/*T. rangeli*: vector.-parasite interactions. **Acta Trop.** v. 110, p. 137-147. 2009.

VAN, D. H.; BAGUETTE, M. et al. Dispersal and habitat fragmentation in invertebrates - examples from widespread and localized butterflies. In Dispersal Ecology and Evolution (CLOBERT, J., ed.), p. 413–418, **Oxford University Press.** 2012.

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **Int J Parasitol.** v. 24, p. 1317-31. 1994.

VIEIRA, M. F.; CARVALHO-OKANO, R. M.; SAZIMA, M. The common opossum, *Didelphis marsupialis*, as a pollinator of *Mabea fistulifera* (Euphorbiaceae). **Cienc. Cult.** v. 43, n. 5, p. 390-393. 1991.

VIOLA, L. B.; ATTIAS, M.; TAKATA, C. S.; CAMPANER, M.; DE SOUZA, W.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. Phylogenetic analyses based on small subunit rRNA and glycosomal glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase genes and ultrastructural characterization of two snake Trypanosomes: *Trypanosoma serpentis* n. sp. from *Pseudoboa nigra* and *Trypanosoma cascavelli* from *Crotalus durissus terrificus*. **J Eukaryot Microbiol.** v. 56, n. 6, p. 594-602. 2009.

VIOLA, L. B.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S.; FERREIRA, R. C.; RODRIGUES, A. C.; FREITAS, R. A.; DUARTE, M. R.; GREGO, K. F.; BARRETT, T.V.; CAMARGO, E. P.; TEIXEIRA, M. M. Phylogeny of snake trypanosomes inferred by SSU rDNA sequences, their possible transmission by phlebotomines, and taxonomic appraisal by molecular, cross-infection and morphological analysis. **Parasitology.** v. 135, n. 5, p. 595-605. 2008.

VOSS, R. S.; JANSA, S.A. Phylogenetic studies on didelphid marsupials II. Nonmolecular data and new IRBP sequences: separate and combined analyses of didelphine relationships with denser táxon sampling. **Bull. of the Amer. Mus. of Nat. Hist.** v. 276, p. 1-82. 2003.

VOTÝPKA, J.; SZABOVÁ, J.; RÁDROVÁ, J.; ZÍDKOVÁ, L.; SVOBODOVÁ, M. *Trypanosoma culicavium* sp. nov., an avian trypanosome transmitted by *Culex* mosquitoes. **Int J Syst Evol Microbiol.** v. 62, n. 3, p. 745-54. 2012.

VOTÝPKA, J.; SVOBODOVÁ, M. *Trypanosoma avium*: experimental transmission from black flies to canaries. **Parasitol Res.** v. 92, n. 2, p. 147-51. 2004.

- VOTÝPKA, J.; OBORNIK, M.; VOLF, P.; SVOBODOVÁ, M.; LUKES, J. *Trypanosoma avium* of raptors (Falconiformes): phylogeny and identification of vectors. **Parasitology**. v. 125, n. 3, p. 253-63. 2002.
- XAVIER, S. C. C.; ROQUE, A. L. R.; BILAC, D.; ARAÚJO, V. A. L.; NETO, S. F. C.; LOROSA, E. S. Distantiae Transmission of *Trypanosoma cruzi*: A New Epidemiological Feature of Acute Chagas Disease in Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.** v. 8, p. 1-9. 2014.
- XAVIER, S. C.; VAZ, V. C.; D'ANDREA, P. S.; HERRERA, L.; EMPERAIRE, L.; ALVES, J. R.; FERNANDES, O.; FERREIRA, L. F.; JANSEN, A. M. Mapping of the distribution of *Trypanosoma cruzi* infection among small wild mammals in a conservation unit and its surroundings (Northeast-Brazil). **Parasitol Int.** v. 56, n. 2, p. 119-28. 2007.
- ZABOTT, M. V.; BENGHI PINTO, S.; VIOTT, A. M.; GRUCHOUSKEI, L., BITTENCOURT, L. H. F. B. Helminthofauna de *Didelphis albiventris* (Lund, 1841) no município de Palotina, Paraná, Brasil. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** v. 20, n. 1, p. 19-22. 2017.
- ZANETTE, R. A.; DA SILVA, A. S.; LUNARDI, F.; SANTURIO, J. M.; MONTEIRO, S. G. Occurrence of gastrointestinal protozoa in *Didelphis albiventris* (opossum) in the central region of Rio Grande do Sul state. **Parasitol Int.** v. 57, n. 2, p. 217-8. 2008.
- ZINGALES, B.; MILES, M. A.; CAMPBELL, D. A.; TIBAYRENC, M.; MACEDO, A. M.; TEIXEIRA, M. M.; ET AL. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infect Genet Evol.** v.12, p. 240-53. 2012.
- ZINGALES, B.; ANDRADE, S. G.; BRIONES, M. R. S.; CAMPBELL, D. A.; CHIARI, E.; FERNANDES, O.; ET AL. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 104, p. 1051-54. 2009.
- ZINGALES, B.; SOUTO, R. P.; MANGIA, R. H.; LISBOA, C. V.; CAMPBELL, D. A.; COURA, J. R.; JANSEN, A. M.; FERNANDES, O. Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. **Int. J. Parasitol.**, v. 28, p. 105-112, 1998.
- WESTENBERGER, SJ; CERQUEIRA, GC; EL-SAYED, NM; ZINGALES, B; CAMPBELL, DA; STURM, NR. *Trypanosoma cruzi* mitochondrial maxicircles display species- and strain-specific variation and a conserved element in the non-coding region. **BMC Genomics.** v. 7, n. 60. 2006.
- WHO. Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. **WHO Tech Rep Ser.** v. 975, n. 5, p. 11–9. 2012.

YEO, M.; ACOSTA, N.; LLEWELLYN, M.; SÁNCHEZ, H.; ADAMSON, S.; MILES, G. A.; LÓPEZ, E.; GONZÁLEZ, N.; PATTERSON, J. S.; GAUNT, M. W.; DE ARIAS, A. R.; MILES, M. A. Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. **Int J Parasitol.** v. 35, n. 2, p. 225-33. 2005.