

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/08/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Yago Visinho dos Reis

**Estudo das barreiras reprodutivas no gênero *Panstrongylus*
(Hemiptera, Triatominae)**

São José do Rio Preto
2019

Yago Visinho dos Reis

**Estudo das barreiras reprodutivas no gênero *Panstrongylus*
(Hemiptera, Triatominae)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi

São José do Rio Preto
2019

R375e

Reis, Yago Visinho dos

Estudo das barreiras reprodutivas no gênero *Panstrongylus* (Hemiptera, Triatominae) / Yago Visinho dos Reis. -- São José do Rio Preto, 2019
35 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira

Coorientador: Kaio Cesar Chaboli Alevi

1. Evolução (Biologia). 2. Hibridação. 3. Reduviidae. 4. Vetores artrópodes.
5. Chagas, Doença de. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Yago Visinho dos Reis

**Estudo das barreiras reprodutivas no gênero *Panstrongylus*
(Hemiptera, Triatominae)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira
UNESP – Câmpus São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Luis Lênin Vicente Pereira
União das Faculdades dos Grandes Lagos – UNILAGO

Prof. Dr. João Aristeu da Rosa
UNESP – Câmpus Araraquara

São José do Rio Preto
22 de Fevereiro de 2019

Dedico esse trabalho à vida, em todas as suas formas e à beleza que existe em cada pedacinho desse grande planeta. Dedico, também, ao respeito e ao amor com a natureza e com o próximo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Gerson e Andréa, grandes guerreiros, que sempre batalharam para nos dar o melhor que podiam, sempre insistindo para que estudássemos ao máximo. Por todo amor, carinho e dedicação durante toda a minha vida, sempre me incentivando em busca dos meus sonhos. Muito obrigado!

Aos meus irmãos, Yasmin, Ysabella e Ygor, pelo carinho e companheirismo, que mesmo distantes, não diminuí. Por cada lagrima que escorre sempre que faço uma visita e preciso ir embora, e que sempre aumenta o amor que sinto por vocês. Vocês são incríveis!

Agradeço, especialmente, à minha noiva Leticia, por transformar completamente o mundo que eu conhecia. Por me mostrar uma vida maravilhosa ao seu lado, estando sempre presente, por aceitar e incentivar todas as minhas escolhas. Por todas as nossas discussões que nos levam sempre a melhorar e que só aumenta a certeza de querer estar ao seu lado pelo resto da vida. Agradeço pelo companheirismo, pela paciência, pela força e por todo amor e carinho que nunca nos faltou. Obrigado, meu amor.

Aos meus sogros, Marcos e Andrea, e às minhas cunhadas, Paloma, Natália e Maria Eduarda, por todo o carinho desde que os conheci. Por sempre fazerem eu me sentir em casa, em família. Por serem um exemplo de família e cumplicidade.

Aos meus amigos de longe, Roger, Katia e Bárbara, pela força nos momentos difíceis, e por sempre estarem presentes, mesmo distantes.

Aos meus amigos de perto, Gabriel, Corvinho, Isadora, Pizza e Guilherme, amizades incríveis, pessoas que tive um grande prazer de conhecer e que levarei comigo para a vida toda.

Aos meus amigos do Laboratório de Biologia Celular, Amanda, Ana Beatriz, Fernanda e Ana Letícia, pelas idas semanais para Araraquara e pelas viagens de guincho, que não foram poucas, rss.

Agradeço à professora Maria Tercília, um exemplo de pessoa e profissionalismo, por toda dedicação e ensinamentos durante todos esses anos de orientação no laboratório. Obrigado pela oportunidade de ter sido seu aluno.

Ao meu coorientador, Kaio, por todo o conhecimento transmitido, por todo tempo e disponibilidade na minha orientação, tanto acadêmica quanto pessoal, e que se tornou um grande amigo. Obrigado!

Ao professor João Aristeu, por ter aberto as portas do Insetário de Triatominae para a execução desse trabalho e por toda dedicação na manutenção desse importante centro de pesquisa para a doença de Chagas!

E finalmente, ao IBILCE, por ser uma segunda casa, onde pude realizar o sonho de me graduar e me tornar Mestre. Uma casa onde vivi grande parte das minhas alegrias, frustrações... Uma casa que estará para sempre na minha memória, por todas as experiências incríveis que eu vivenciei por aqui. Uma casa de onde talvez eu parta, mas que sempre retornarei.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.

“Nada em biologia faz sentido exceto à luz da evolução”

(DOBZHANSKY, 1973, p125-129)

RESUMO

Os triatomíneos são insetos hematófagos suscetíveis à infecção pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Todas as espécies são potenciais vetoras do parasito, embora algumas sejam consideradas de importância primária, que são associadas ao domicílio humano, e outras de menor importância, devido à associação apenas com habitats silvestres. Considerando que as alterações climáticas e ações antrópicas no meio ambiente podem influenciar na distribuição de espécies que antes estavam isoladas, conhecer o potencial de hibridização entre elas é extremamente importante, pois a produção de híbridos pode levar a eventos de introgressão e especiação. Levando em consideração que para o clado *geniculatus* (agrupamento das espécies de *Panstrongylus* spp. + *Nesotriatoma* spp. + *Triatoma tibiamaculata*) não existem estudos que avaliem a hibridização entre essas espécies, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de barreiras reprodutivas por meio de cruzamentos interespecíficos experimentais entre quatro espécies do clado *geniculatus*. Para cada par de espécies foram montados três cruzamentos em cada direção. Os experimentos foram mantidos durante quatro meses e os casais foram alimentados semanalmente, assim como a contagem de ovos. Em todos os cruzamentos não houve eclosão de ovos, demonstrando a presença de barreiras pré-zigóticas entre todas as espécies analisadas. Esses resultados não eram esperados, uma vez que, mesmo entre espécies filogeneticamente distantes, de outros grupos da tribo Triatomini, existe a possibilidade de hibridação, ressaltando a importância desse grupo para estudos evolutivos. Além disso, consideramos também, que mesmo que essas espécies se encontrem no futuro, devido às mudanças ambientais, as fortes barreiras reprodutivas impedirão a produção de híbridos entre elas.

Palavras-chave: Barreira pré-zigótica. Cruzamento interespecífico. Reduviidae. Doença de Chagas. Insetos vetores.

ABSTRACT

Triatomines are hematophagous insects susceptible to infection by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, an etiologic agent of Chagas' disease. All species are potential vectors of the parasite, although some are considered of primary importance, which are associated to human domicile, and others of minor importance, due to the association with wild habitats only. Considering that climate change and anthropogenic actions in the environment may influence the distribution of species that was previously isolated, knowing the hybridization potential between them is extremely important, since the production of hybrids can lead to introgression and speciation events. Considering that for clado *geniculatus* (grouping of the species of *Panstrongylus* spp. + *Nesotriatoma* spp. + *Triatoma tibiamaculata*) there are no studies that evaluate the hybridization between these species, the objective of this work was to evaluate the presence of reproductive barriers by means of Interspecific crosses between four species of *geniculatus* clade. For each pair of species, three crosses were assembled in each direction. The experiments were maintained for four months and the couples were fed weekly, as well as the egg count. In all the crosses there was no hatching of eggs, demonstrating the presence of pre-zygotic barriers among all species analyzed. These results were not expected, since even among phylogenetically distant species, from other groups of the Triatomini tribe, there is the possibility of hybridization, emphasizing the importance of this group for evolutionary studies. In addition, we also believe that even if these species meet in the future due to environmental changes, strong reproductive barriers will prevent the production of hybrids between them.

Keywords: Pré zygotic barriers. Interspecific crossing. Reduviidae. Chagas disease. Insects vectors.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVO	13
3	MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1	Obtenção do material biológico	14
3.2	Cruzamentos interespecíficos	14
3.2	Manutenção das colônias	15
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1	Capítulo 1 – Trends in Evolution of the Triatomini tribe (Hemiptera, Triatominae): genetic incompatibility in the <i>geniculatus</i> clade – [artigo a ser submetido para a revista <i>Scientific Reports</i> (FI: 4,25)]	16
	Introduction	16
	Materials and Methods	19
	Results and Discussion	19
	References	22
5	CONCLUSÕES	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os triatomíneos são insetos hematófagos pertencentes à subfamília Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) (LENT; WYGODZINSKY, 1979) que podem, durante o repasto sanguíneo, se contaminar com o protozoário *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), agente causador da doença de Chagas (NOIREAU; DIOSQUE; JANSEN, 2009). Todas as espécies dessa subfamília, uma vez infectadas, são potenciais vetoras do parasito, e poderão contaminar, por meio das fezes, outros mamíferos, inclusive o homem, uma vez que esses insetos tem o hábito de defecar durante ou logo após a hematofagia (NOIREAU; DIOSQUE; JANSEN, 2009).

Já foram descritas 154 espécies de triatomíneos, das quais três fosseis, que estão distribuídas em 19 gêneros e cinco tribos (GALVÃO, 2014; JUSTI; GALVÃO, 2017; ROSA *et al.*, 2017; DORN *et al.*, 2018; POINAR, 2019). Dois dos gêneros mais numerosos, *Triatoma* Laporte, 1832 e *Panstrongylus* Berg, 1879, estão agrupados na tribo Triatomini que, recentemente, foi dividida em clados, grupos, complexos e subcomplexos, devido a alguns gêneros agrupados nessa tribo serem parafiléticos (como, por exemplo, *Triatoma* e *Panstrongylus*), e apesar desses agrupamentos não possuírem validade taxonômica, eles representam grupos naturais (monofiléticos) (JUSTI *et al.*, 2014, JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016)

O gênero *Panstrongylus* é facilmente diferenciado de *Triatoma* por meio da localização dos tubérculos anteníferos próxima à borda anterior dos olhos (LENT; WYGODZINSKY, 1979). Contudo, diversas análises moleculares têm mostrado relações filogenéticas entre as espécies de *Nesotriatoma* Usinger, 1944 e *T. tibiamaculata* (Pinto, 1926) com o gênero *Panstrongylus*, as quais formam o clado *geniculatus* (HYPISA, 2002; JUSTI *et al.*, 2014, JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016).

As espécies de *Nesotriatoma* são endêmicas das Antilhas e acredita-se que o ancestral tenha dispersado em associação com um roedor da família Capromyidae (JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016), uma vez que a divergência entre as populações continentais e insulares das espécies dessa família é estimada para o mesmo período da separação entre os ancestrais de *Nesotriatoma* (FABRE *et al.*,

2014; JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016). Devido à relação entre esse gênero e *Panstrongylus* ser recente, muitos autores que não consideravam *Nesotriatoma* como um gênero válido incluíam as espécies em *Triatoma* (LENT; WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2009; PANZERA *et al.*, 2012; JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016; JUSTI; GALVÃO, 2017), mostrando que as características morfológicas podem levar ao agrupamento errôneo das espécies de Triatominae. Isso também pode ser evidenciado em *T. tibiamaculata*, que apesar de ser morfológicamente caracterizada como *Triatoma*, apresenta diversas características em comum com o gênero *Panstrongylus*, como semelhanças no formato de sensilas dos segmentos abdominais ventrais de ninfas de quinto estágio (ROSA; BARATA; BARELLI, 1995), no formato da espermateca (NASCIMENTO *et al.*, 2017) e no padrão morfométrico das asas (OLIVEIRA *et al.*, 2017), ressaltando a importância de novas abordagens para o esclarecimento dessas relações evolutivas. Além disso, tanto as espécies do gênero *Nesotriatoma* quanto *T. tibiamaculata* possuem 23 cromossomos (20A + X₁X₂Y) (PANZERA *et al.*, 1996; DUJARDIN; SCHOFIELD; PANZERA, 2002; SEVERI-AGUIAR; AZEREDO-OLIVEIRA, 2004; REIS *et al.*, 2016; ALEVI *et al.*, 2016; BORSATTO *et al.*, 2018), o mesmo cariótipo das espécies de *Panstrongylus* spp., exceto *P. lutzii* (Neiva & Pinto, 1923), que apresenta 2n = 24 cromossomos [20A + X₁X₂X₃Y (SANTOS *et al.*, 2016; ALEVI *et al.*, 2018)] e *P. megistus* (Burmeister, 1835), que apresenta 2n = 21 cromossomos [18A + X₁X₂Y (CROSSA *et al.*, 2002; ALEVI *et al.*, 2015)].

Os estudos de hibridização na subfamília Triatominae são muito importantes e interessantes, uma vez que mesmo entre espécies filogeneticamente mais distantes, existe a produção de híbridos, como é o caso de *T. infestans* (Klug, 1834) x *T. rubrovaria* (Blanchard, 1843), *T. maculata* (Erichson, 1848) x *T. sordida* (Stål, 1859), *T. maculata* x *T. infestans*, *T. maculata* x *T. brasiliensis* Neiva, 1911 e *T. pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 x *T. infestans* (CARCAVALLO *et al.*, 2000). Uma vez que se trata de vetores, é possível que os descendentes de cruzamentos interespecíficos tenham potencial de transmissão, do *T. cruzi*, diferente dos indivíduos parentais, como foi recentemente observado para híbridos de *Meccus* (MARTÍNEZ-IBARRA *et al.*, 2016). Além disso, os cruzamentos experimentais também podem contribuir para corroborar o *status* específico de espécies, caso existam barreiras reprodutivas entre elas. Por exemplo, *Triatoma petrochiae* Pinto &

Barreto, 1925 é uma espécie que já foi considerada sinônima de *T. brasiliensis* Neiva, 1911 (LUCENA, 1970). Entretanto, enquanto a primeira é, até o momento, estritamente silvestre, apresentando baixa importância na transmissão da doença de Chagas, *T. brasiliensis* é uma das principais espécies vetoras na região Nordeste do Brasil (GALVÃO, 2014), e o *status* específico de *T. petrochiae* só foi validado por meio de cruzamentos experimentais interespecíficos (ESPÍNOLA, 1971). Outras espécies também tiveram seus *status* específicos corroborados por meio de cruzamentos experimentais, como, algumas espécies do complexo *T. brasiliensis* (COSTA *et al.*, 2003; COSTA; PETERSON; DUJARDIN, 2009; CORREIA *et al.*, 2013; MENDONÇA *et al.*, 2014, 2016), do complexo *Meccus phyllosoma* (MARTÍNEZ-IBARRA *et al.*, 2008, 2011) e do complexo *T. dimidiata* (GARCÍA *et al.*, 2013), ressaltando a importância dos estudos de hibridização para a taxonomia dos triatomíneos.

A possibilidade de hibridização pode resultar, ainda, na formação de novos táxons, que poderão conter uma mistura de genes de cada espécie parental, ou mesmo a introgressão de algum gene vantajoso de uma espécie para outra caso haja retrocruzamento dos híbridos com, uma ou ambas, espécies que os originaram (RHYMER; SIMBERLOFF, 1996). Para os triatomíneos esses eventos podem representar um grande problema, pois se sabe, por exemplo, que a resistência a pesticidas, apesar de multifatorial, pode estar relacionada com herança autossômica (PESSOA *et al.*, 2015). Uma vez que as mudanças ambientais, de origem antrópica ou naturais, podem aproximar espécies que antes estavam isoladas, e favorecer a hibridização entre elas (RHYMER; SIMBERLOFF, 1996), como já foi relatado para duas espécies de anuros (LAMB; AVISE, 1986), conhecer o potencial de hibridização dos triatomíneos, mesmo entre espécies alopátricas, é importante do ponto de vista evolutivo e, sobretudo, epidemiológico.

Uma vez que não existem dados sobre hibridização entre espécies de *Panstrongylus* e, considerando o parafiletismo do gênero, ressaltamos a importância de cruzamentos experimentais envolvendo espécies do clado *geniculatus* (composto de 15 espécies de *Panstrongylus* (OLIVEIRA; ALEVI, 2017), três de *Nesotriatoma* (OLIVEIRA *et al.*, 2018) e *T. tibiamaculata*) (JUSTI; GALVÃO; SCHRAGO, 2016) para auxiliar no esclarecimento das relações evolutivas entre essas espécies.

5 CONCLUSÕES

Esses resultados nos mostram que, diferente do relatado para outros grupos da tribo Triatomini (CARCAVALLO *et al.*, 1998), existem barreiras reprodutivas pré-zigóticas entre as espécies avaliadas do clado *geniculatus* que impedem a formação de híbridos em todos os cruzamentos, independente da direção, confirmando também o *status* específico desses táxons. Sendo assim, consideramos, que mesmo que essas espécies se encontrem no futuro, devido às mudanças ambientais, as fortes barreiras reprodutivas impedirão a produção de híbridos entre elas. Além disso, sugerimos que esse grupo possa representar um importante modelo para estudos evolutivos na subfamília Triatominae e ressaltamos a importância de novas análises, taxonômicas e evolutivas, com maior esforço amostral do clado *geniculatus*.

REFERÊNCIAS

- ALEVI, K. C. C. *et al.* Homogeneidade cromossômica em diferentes populações de *Panstrongylus megistus* do Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 2015, 36(2): 307-310.
- ALEVI, K. C. C. *et al.* Karyosystematic and karyotype evolution of *Panstrongylus lutzi* (Neiva & Pinto, 1923) (Hemiptera, Triatominae). **Brazilian Journal of Biology**, 2018, 78(1):180-182. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.166442>
- ALEVI, K. C. C. *et al.* Would *Nesotriatoma bruneri* Usinger, 1944 be a valid species? **Zootaxa**, 2016, vol. 4103, pp. 396–400.
- BELISÁRIO, C. J.; PESSOA, G. C. D.; DIOTAIUTI, L. Biological aspects of crosses between *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) and *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera: Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2007, 102: 517-521.
- BORSATTO, K. C. *et al.* New evidence of the evolutionary relationship of the *flavida* complex with the genus *Panstrongylus* (Hemiptera, Triatominae) by karyosystematic. **Brazilian Journal of Biology**, 2018, 78.
- CARCAVALLO R. U. *et al.* Mutations, Hybrids and Teratologies. *In*: CARCAVALLO, R. U. *et al.* (Org). **Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas**. Editora FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 1998, 515-536.
- CORREIA, N. *et al.* Crossing experiments confirm *T. sherlocki* as a member of the *Triatoma brasiliensis* species complex. **Acta Tropica**, 2013, 128: 162-167.
- COSTA, J. *et al.* Crossing Experiments Detect Genetic Incompatibility among Populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2003, 98: 637-639.
- COSTA, J.; PETERSON, A. T.; DUJARDIN, J. P. Morphological evidence suggests homoploid hybridization as a possible mode of speciation in the Triatominae (Hemiptera, Heteroptera, Reduviidae). **Infection, Genetics and Evolution**, 2009, 9: 263-270.
- CROSSA, R. P. *et al.* Chromosomal evolution trends of the genus *Panstrongylus* (Hemiptera, Reduviidae), vectors of Chagas disease. **Infection, Genetics and Evolution**, 2002, 2, 47–56.

DOBZHANSKY, Theodosius. Nothing in Biology Makes Sense except in the Light of Evolution. **The American Biology Teacher**, 1973, Vol. 35, No. 3, pp. 125-129.

DORN, P. L. *et al.* Description of *Triatoma mopan* sp. n. from a cave in Belize (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **ZooKeys**, 2018, 775: 69-95. DOI: <https://doi.org/10.3897/zookeys.775.22553>

DUJARDIN, J. P.; SCHOFIELD, C. J.; PANZERA, F. Los vectores de la enfermedad de Chagas. **Royal Academy for Overseas Sciences**, Brussels, Belgium, 2002.

ESPÍNOLA, Hélio. Reproductive isolation between *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 and *Triatoma petrochii* Pinto & Barretto, 1925 (Hemiptera Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 1971, 31: 277-281.

FABRE, P. *et al.* Rodents of the Caribbean: origin and diversification of hutias unravelled by next-generation museomics Rodents of the Caribbean: origin and diversification of hutias unravelled by next-generation museomics. **Biology Letters**, 2014; 10: 2014. 266. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0266>.

GALVÃO, Cleber (Org). **Vetores da doença de chagas no Brasil**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, 289p.

GARCÍA, M. *et al.* Reproductive isolation revealed in preliminary crossbreeding experiments using field collected *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from three ITS-2 defined groups. **Acta Tropica**, 2013, 128: 714–718.

JUSTI, S.; GALVÃO, C.; SCHRAGO, C. G. Geological changes of the Americas and their influence on the diversification of the Neotropical kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **PLOS Neglected Tropical Disease**, 2016; 10(4): e0004527.

JUSTI, Silvia; GALVÃO, Cleber. The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. **Trends in Parasitology**, 2017; 33: 42-52.

LAMB, Trip; AVISE, John. Directional introgression of mitochondrial DNA in a hybrid population of tree frogs: The influence of mating behavior. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, 1986 [s.l.], v. 83, n. 8, p.2526-2530. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.83.8.2526>.

LENT, Herman; WYGODZINSKY, Pedro. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vector of Chagas's disease. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 1979, 163: 123-520.

LUCENA, Durval. Estudos sobre a doença de Chagas no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, 1970, 22: 3-173.

MARTÍNEZ-IBARRA, J. A. *et al.* Biological and genetic aspects of crosses between phylogenetically close species of Mexican Triatomines (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology**, 2011, 48: 705-707.

MARTÍNEZ-IBARRA, J. A. *et al.* Biological and genetic aspects of experimental hybrids from species of the *Phyllosoma* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2008, 103: 236-243.

MARTÍNEZ-IBARRA, J. A. *et al.* Importance of Hybrids of *Meccus phyllosomus mazzottii*, and *M. p. pallidipennis*, and *M. p. phyllosomus* to the Transmission of *Trypanosoma cruzi* in Mexico. **Japanese Journal Of Infectious Diseases**, 2016 [s.l.], v. 69, n. 3, p.202-206. DOI: <http://dx.doi.org/10.7883/yoken.jjid2015.111>

MENDONÇA, V. J. *et al.* Cytogenetic and morphologic approaches of hybrids from experimental crosses between *Triatoma lenti* Sherlock & Serafim, 1967 and *T. sherlocki* Papa *et al.*, 2002 (Hemiptera: Reduviidae). **Infection, Genetics and Evolution**, 2014, 26: 123-131.

MENDONÇA, V. J. *et al.* Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. **Zootaxa**, 2016, 4107: 239-254.

NASCIMENTO, J. D. *et al.* Morphology of the spermathecae of twelve species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) vectors of Chagas disease. **Acta Tropica**, 2017, [s.l.], v. 176, p.440-445.

NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, 2009, 40(2): 26.

OLIVEIRA, J. *et al.* Combined phylogenetic and morphometric information to delimit and unify the *Triatoma brasiliensis* species complex and the Brasiliensis subcomplex. **Acta Tropica**, 2017, [s.l.], v. 170, p.140-148.

OLIVEIRA, J. *et al.* Description of a new species of *Nesotriatoma* Usinger, 1944 from Cuba and revalidation of synonymy between *Nesotriatoma bruneri* (Usinger, 1944) and *N. flavida* (Neiva, 1911) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Journal of Vector Ecology**, 2018, 43: 148-157.

OLIVEIRA, Jader; ALEVI, Kaio Cesar Chaboli. Taxonomic status of *Panstrongylus herreri* Wygodzinsky, 1948 and the number of Chagas disease vectors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2017; 50: 434-435.

PANZERA F. *et al.* Chromosome numbers in the Triatominae (Hemiptera-Reduviidae): a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1996, v. 91, n. 4, p. 515-518.

PANZERA, Y. *et al.* High dynamics of rDNA cluster location in kissing bug holocentric chromosomes (Triatominae, Heteroptera). **Cytogenetic and Genome Research**, 2012; 138: 56-67.

PESSOA, G. C. D. *et al.* History of insecticide resistance of Triatominae vectors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2015, [s.l.], v. 48, n. 4, p.380-389. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0081-2015>.

POINAR, George. A primitive triatomine bug, *Paleotriatoma metaxytaxa* gen. et sp. nov. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), in mid-Cretaceous amber from northern Myanmar. **Cretaceous Research**, 2019, v. 93, p 90-97.

REIS, Y. V. *et al.* Spermatogenesis in *Nesotriatoma bruneri* (Usinger 1944) (Hemiptera, Triatominae). **Genetics and Molecular Research**, 2016, 19;15(3). <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038286>

RHYMER, Judith; SIMBERLOFF, Daniel. Extinction by Hybridization and Introgression. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Vol. 27, 1996, pp. 83-109.

ROSA, J. A; BARATA, J. M, S; BARELLI, N. Morphology of abdominal bristles determined by scanning electron microscopy in six species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1995, 90: 487-488.

ROSA, J. A. *et al.* A new species of *Rhodnius* from Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **ZooKeys**, 2017, 675: 1-25. DOI: <https://doi.org/10.3897/zookeys.675.12024>

SANTOS, S. M. *et al.* New sex-determination system in the genus *Panstrongylus* (Hemiptera: Reduviidae) revealed by chromosomal analysis of *Panstrongylus lutzi*. **Parasites and Vectors**, 2016, 9:295.

SCHOFIELD, Christopher John; GALVÃO, Cleber. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. **Acta Tropica**, 2009; 110: 88-100.

SEVERI-AGUIAR, Grasiela Dias de Campos; AZEREDO-OLIVEIRA, Maria Tercília Vilela. Cytogenetic study of holocentric chromosomes in three species of Triatomines (Heteroptera, Reduviidae). **Cytologia**, 2004, v. 69, n. 1, p. 53-57.