



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" INSTITUTO
DE BIOCÊNCIAS – CÂMPUS DE BOTUCATU (IBB/UNESP)
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

Paulo Sergio de Sousa

**Análise do padrão de segregação do exocório de ovos de
triatomíneos (Hemiptera, Triatominae) em híbridos experimentais**

Botucatu

2024

Paulo Sergio de Sousa

**Análise do padrão de segregação do exocório de ovos de
triatomíneos (Hemiptera, Triatominae) em híbridos experimentais**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia) junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu.

Orientador: Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi

Coorientador: Dr. Jader de Oliveira

Botucatu

2024

S725a Sousa, Paulo

 Análise do padrão de segregação do exocório de ovos de
 triatomíneos (Hemiptera, Triatominae) em híbridos experimentais /
 Paulo Sousa. -- Botucatu, 2024

 55 p. : tabs., fotos

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
 Instituto de Biociências, Botucatu

 Orientador: Kaio Alevi

 Coorientador: Jader Oliveira

 1. doença de Chagas. 2. vetores. 3. célula exocorial. 4. microscopia
 eletrônica de varredura. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Paulo Sergio de Sousa

**Análise do padrão de segregação do exocório de ovos de
triatomíneos (Hemiptera, Triatominae) em híbridos experimentais**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia) junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu.

Comissão examinadora

Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi
FIOCRUZ
Orientador

Prof. Dr. Cleber Galvão
FIOCRUZ

Prof. Dr. João Aristeu da Rosa
FCFAR/UNESP

Profa. Dra. Elaine Folly Ramos
UFPB

Prof. Dr. Luis Lenin Vicente Pereira
UNIJALES

Botucatu
2024

Dedicatória

É com muito orgulho que dedico este trabalho às pessoas cujo apoio foi fundamental ao longo desta jornada:

Dedico-o à minha mãe, cuja dedicação incansável me inspirou a valorizar a educação e a compreender a importância da minha formação...

Dedico também às minhas filhas, Thamires Cavallero de Sousa, Maria Paula Cavallero de Sousa e Rafaela Ferreira da Silva de Sousa; a presença de vocês em minha vida me faz tentar ser melhor a cada instante.

Em especial, dedico este trabalho à minha esposa, Jilly Gabriela Ferreira da Silva, cujo amor inabalável e apoio constante têm sido pilares essenciais em todas as batalhas cotidianas e nos caminhos percorridos.

A vocês, o meu amor e gratidão.

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho:

À minha mãe, dona Cláudia, dedico um agradecimento especial por seu incansável apoio, ensinamentos valiosos e cuidado constante, que foram fundamentais para minha jornada até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi, expresso minha eterna gratidão por seu tempo dedicado, vasto conhecimento e incalculáveis contribuições para o sucesso deste trabalho e para o meu desenvolvimento acadêmico. Sua generosidade, paciência e orientação serão lembradas com muito apreço.

Ao meu coorientador, Dr. Jader de Oliveira, sou grato pela disponibilidade incansável em esclarecer dúvidas, compartilhar conhecimentos e pela colaboração valiosa ao longo deste processo.

Aos amigos que compreenderam minha dedicação a este projeto, meu sincero agradecimento por seu apoio contínuo e compreensão.

À equipe dos laboratórios de Biologia Celular (IBILCE/UNESP) e de Parasitologia (FCFAR/UNESP), minha gratidão pela colaboração, assistência e recursos essenciais para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca, agradeço pelo valioso retorno e orientações que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus irmãos Simone, Marco e Camila, e a todos os familiares que sempre me incentivaram, meu sincero agradecimento por compartilharem essa conquista comigo.

Aos amigos de longa data - Edmar, Ailton, Rinaldo, Marcos Paulo – sou grato à vocês pela presença constante e apoio durante todo o percurso.

Aos meus avós (*in memoriam*), precursores dessa família grande e feliz.

Por fim, à minha esposa Jilly Gabriela, tenho à você profunda gratidão e reconhecimento por seu desmedido apoio, incentivo constante e presença indispensável em todas as minhas conquistas.

Muito obrigado a todos!

“ Importante não é ver o que ninguém nunca viu, mas sim pensar o que ninguém nunca
pensou sobre algo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer.

Resumo

Os estudos morfológicos aplicados à taxonomia dos triatomíneos abrangem diversas estruturas, como cabeça, asa, tórax, genitália e ovos. A primeira caracterização dos ovos (tamanho e coloração) ocorreu em 1913. No entanto, a aplicação do estudo dos ovos na taxonomia dos triatomíneos foi iniciada, em 1935, quando foi demonstrado que o exocório tem uma arquitetura peculiar na superfície externa, o que permitiu a diferenciação de *Rhodnius prolixus*, *Triatoma vitticeps*, *T. dimidiata*, *T. rubrovaria* e *T. protracta*. Em 2014, as estruturas exocoriais dos ovos híbridos foram caracterizadas e comparadas com os genitores, demonstrando que os híbridos apresentavam características idênticas ao padrão exocorial observado nas fêmeas dos cruzamentos, o que resultou na hipótese de que o padrão dos ovos de triatomíneos seja, possivelmente, uma característica herdada das fêmeas. Assim, analisamos o padrão de segregação do exocório de ovos de triatomíneos em doze espécies e híbridos, com o intuito de avaliar a hipótese de herança materna das características dos ovos. Cruzamentos experimentais foram realizados entre *Rhodnius* spp., entre *Triatoma* spp. e entre *Psammolestes* spp. e híbridos foram obtidos em pelo menos uma direção de todos os cruzamentos. A análise do exocório dos ovos dos híbridos evidenciou diferentes padrões de segregação, a saber, “exclusivamente paterna”, “predominantemente materna”, “predominantemente paterna”, “mútua” e “diferencial”. Curiosamente, nenhum dos híbridos avaliados apresentou características que segregassem exclusivamente das espécies parentais femininas. Assim, demonstramos que a hipótese de herança materna do padrão de exocório dos ovos não é válida e enfatizamos a importância de metodologias alternativas/combinadas (como a taxonomia integrativa) para a correta identificação desses insetos vetores (principalmente tendo em vista possíveis eventos de hibridização devido a mudanças climáticas e ambientais).

Palavras-chave: doença de Chagas; vetores; célula exocorial; Microscopia Eletrônica de Varredura

Abstract

Morphological studies applied to the taxonomy of triatomines cover various structures, such as head, wings, thorax, genitalia and eggs. The first characterization of eggs (size and color) occurred in 1913. However, the application of the study of eggs to the taxonomy of triatomines began in 1935, when it was demonstrated that the exocorium has a peculiar architecture on the external surface, which allowed the differentiation of *Rhodnius prolixus*, *Triatoma vitticeps*, *T. dimidiata*, *T. rubrovaria* and *T. protracta*. In 2014, the exochorial structures of hybrid eggs were characterized and compared with their parents, demonstrating that the hybrids presented characteristics identical to the exochorial pattern observed in the females of the crosses, which resulted in the hypothesis that the pattern of triatomine eggs is possibly a characteristic inherited from females. Thus, we analyzed the segregation pattern of the triatomine egg exocorium in different species and hybrids, with the aim of evaluating the hypothesis of maternal inheritance of egg characteristics. Experimental crosses were carried out between *Rhodnius* spp., between *Triatoma* spp. and between *Psammolestes* spp. and hybrids were obtained in at least one direction from all crosses. The analysis of the exochory of the hybrids' eggs showed different patterns of segregation, namely, “exclusively paternal”, “predominantly maternal”, “predominantly paternal”, “mutual” and “differential”. Interestingly, none of the hybrids evaluated presented characteristics that segregated exclusively from the female parental species. Thus, we demonstrate that the hypothesis of maternal inheritance of the egg exochorium pattern is not valid and we emphasize the importance of alternative/combined tools (such as integrative taxonomy) for the correct identification of these insect vectors (mainly in view of possible hybridization events due to climate and environmental changes).

Keywords: Chagas disease vectors; exochorial cell; Scanning Electron Microscopy

Sumário

Resumo.....	10
Abstract.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos gerais.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3. RESULTADOS (apresentados na forma de artigo científico).....	17
3.1 Artigo científico.....	18
3.2 Capítulo de livro.....	29
4. CONCLUSÃO.....	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

Os triatomíneos (Hemiptera, Triatominae) são insetos hematófagos que atuam como vetores do protozoário *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), agente etiológico da doença de Chagas (DC) (WHO, 2023). Atualmente, existem 159 espécies descritas na subfamília Triatominae (156 espécies vivas e três espécies fósseis), agrupadas em 18 gêneros e cinco tribos (ALEVI et al., 2021; ZHAO et al., 2021; GIL-SANTANA et al., 2022; OLIVEIRA CORREIA et al., 2022; TÉLLEZ-RENDÓN et al., 2023; OLIVEIRA-CORREIA et al., 2024), sendo todas consideradas como potenciais vetoras da DC.

Tabela 1. Tribos, gêneros e número de espécies que pertencem a subfamília Triatominae.

Tribo	Gênero	Espécie (n)
Alberproseniini	<i>Alberprosenia</i>	2
Bolboderini	<i>Belminus</i>	9
	<i>Bolbodera</i>	1
	<i>Microtriatoma</i>	2
	<i>Parabelminus</i>	2
Cavernicolini	<i>Cavernicola</i>	2
Rhodniini	<i>Psammolestes</i>	3
	<i>Rhodnius</i>	20
Triatomini	<i>Dipetalogaster</i>	1
	<i>Eratyrus</i>	2
	<i>Hermanlenticia</i>	1
	<i>Linshcosteus</i>	6
	<i>Mepraia</i>	3
	<i>Nesotriatoma</i>	3
	<i>Panstrongylus</i>	18
	<i>Paratriatoma</i>	2
	<i>Triatoma</i>	81
Total	<i>Paleotriatoma</i>	1
		159

A principal forma de minimizar a incidência de novos casos de DC se fundamenta no controle das populações de vetores (WHO, 2023), sendo os estudos relacionados com esses insetos de extrema importância para a saúde pública, uma vez que podem gerar subsídios para auxiliar os programas de controle de vetores na profilaxia da DC. Assim, desde o primeiro registro que demonstra que os triatomíneos atuam na transmissão do *T. cruzi* aos humanos – realizado há mais de 115 anos (CHAGAS, 1909) –, diversas abordagens têm contribuído para o conhecimento biológico, ecológico, genético, taxonômico, evolutivo e epidemiológico desses vetores (GALVÃO, 2014).

Atualmente, os estudos taxonômicos tem se pautado em análises morfológicas, morfométricas, genéticas, citogenéticas, filogenética, moleculares e, até mesmo, comportamentais (com base em cruzamentos experimentais) (ROSA et al., 2012, 2017; MENDONÇA et al., 2016; SOUZA et al., 2016; DORN et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; LIMA-CORDÓN et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2019; NEVES et al., 2020). Os estudos morfológicos e morfométricos relacionados à taxonomia abrangem diversas estruturas internas e externas dos triatomíneos, além de caracterizar os seus ovos (Figura 1) (ROSA et al., 2012, 2017; MENDONÇA et al., 2014, 2016; SOUZA et al., 2016; DORN et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; LIMA-CORDÓN et al., 2019).



Figura 1. Visão geral do ovo de *Triatoma*.

A primeira menção de características de ovos de triatomíneos na literatura (tamanho e coloração) foi realizada por Brumpt (1913), quando descreveu a biologia de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859. Posteriormente, Pinto (1924), ao analisar a morfologia e a coloração dos ovos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, demonstrou, pela primeira vez, que essas características permitiam auxiliar na diagnose dos triatomíneos. No entanto, a aplicação do estudo dos ovos na taxonomia dos triatomíneos só foi iniciada, em 1935, quando foi demonstrado que o exocório tem uma arquitetura peculiar na superfície externa, o que permitiu a diferenciação de *R. prolixus*, *T. vitticeps* (Stål, 1859), *T. dimidiata* (Latreille, 1811), *T. rubrovaria* (Blanchard, 1843) e *T. protracta* (Uhler, 1894) (GALLIARD, 1935). Além disso, Barata (1981), fundamentando-se nas características do exocório e do opérculo dos ovos, preparou uma chave para identificação que incluiu dez espécies de *Rhodnius* Stål, 1859, demonstrando, assim, o emprego dessas estruturas e ornamentações como caracteres diagnósticos. Recentemente, essas estruturas vêm sendo utilizadas na descrição e revalidação de espécies (Figura 2) (ROSA et al., 2012, 2017; MENDONÇA et al., 2016; SOUZA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

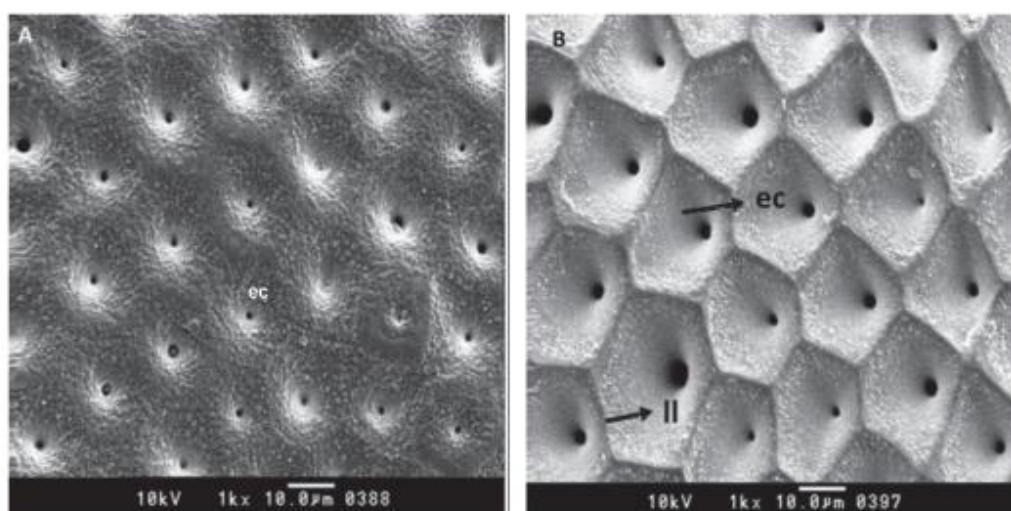


Figura 2. Padrão exocorial dos ovos de *Rhodnius montenegrensis* (A) e *R. robustus* (B). Adaptado de Rosa et al. (2012).

Entre as diferentes metodologias que podem integrar a taxonomia integrativa, a realização de cruzamentos experimentais e análise das barreiras reprodutivas interespecíficas pré e pós-zigóticas mostram-se de grande importância para avaliar o *status* específico dos táxons [com base no conceito biológico de espécie (MAYR, 1963; DOBZHANSKY, 1970)]. Embora a maioria dos estudos com cruzamentos experimentais estejam relacionados a abordagens taxonômicas (ESPÍNOLA, 1971; CORREIA et al., 2013; CAMPOS-SOTO et al., 2016; ALEVI et al., 2018; NEVES et al., 2020), alguns pesquisadores analisaram o padrão de segregação de características fenotípicas de triatomíneos em híbridos: Usinger (1966) analisou a segregação de caracteres morfológicas de *T. infestans* (Klug, 1834) e *T. rubrovaria* em híbridos e observou que a maioria das características examinadas foram herdadas de *T. rubrovaria*, sendo apenas o padrão de cor das pernas dos adultos igual a *T. infestans*. Por outro lado, Mendonça et al. (2014) observaram diferentes padrões de segregação das características morfológicas em híbridos experimentais resultantes do cruzamento entre *T. lenti* Sherlock & Serafim, 1967 e *T. sherlocki* Papa et al. (2002), principalmente relacionados ao tamanho do hemiélitro [uma vez que *T. sherlocki* é braquíptera e incapaz de voar (ALMEIDA et al., 2012)] e a coloração dos anéis femorais. Além disso, um estudo utilizando cruzamentos experimentais entre *Mepraia spinolai* (Porter, 1934) e *M. gajardoi* Frias, Henry e Gonzalez, 1998 demonstra que machos ápteros de *M. spinolai* produzem tanto híbridos machos ápteros como alados (CAMPOS-SOTO et al., 2016), derrubando, dessa forma, a hipótese de Frias e Átria (1998) que, baseado no conhecimento das fêmeas de *Mepraia* spp. serem ápteras ou micrópteras, sugeriram que o polimorfismo alar presente nos machos de *M. spinolai* estaria relacionado com uma possível quebra do cromossomo sexual Y (fragmento Y1 – exemplares com asas e fragmento Y2 – exemplares sem asas)].

Apenas em 2014, estruturas morfológicas dos ovos foram caracterizadas por

varredura e comparadas entre híbridos e parentais (*T. lenti* e *T. sherlocki*) (Figura 3) (MENDONÇA et al., 2014). Essas análises possibilitaram observar que híbridos de primeira geração (F1) apresentaram características idênticas ao padrão de exocório observado na fêmea do cruzamento, ou seja, os híbridos F1 do cruzamento entre *T. lenti* fêmea e *T. sherlocki* macho (Figura 3B) apresentaram padrão idêntico a *T. lenti* (Figura 3A) e os do cruzamento entre *T. sherlocki* fêmea e *T. lenti* macho (Figura 3C) apresentaram padrão idêntico a *T. sherlocki* (Figura 3D). Com base nisso, levantou-se a hipótese de que o padrão dos ovos de triatomíneos fosse uma característica herdada das fêmeas.

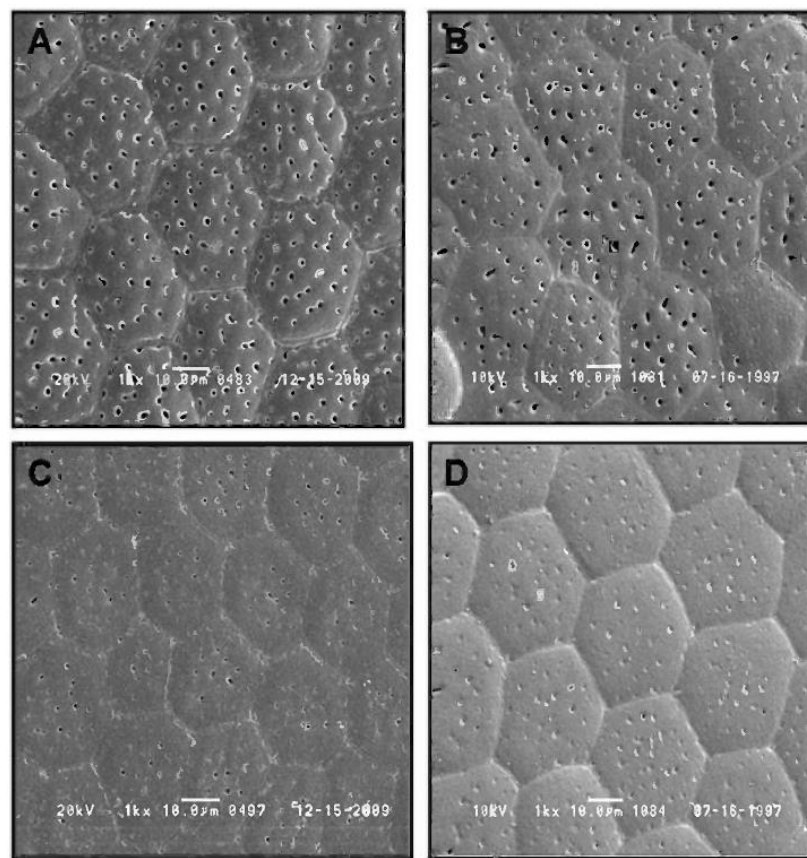


Figura 3. Padrão exocorial de ovos de *T. lenti* (A), híbridos resultantes do cruzamento entre *T. lenti* fêmea e *T. sherlocki* macho (B), *T. sherlocki* (C) e híbridos resultantes do cruzamento entre *T. sherlocki* fêmea e *T. lenti* macho (D). Notar que o padrão de segregação dos híbridos (B e D) é idêntico a característica a fêmea parental (A e C). Adaptado de Mendonça et al. (2014).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o padrão de segregação do exocório de ovos de triatomíneos em diferentes espécies e híbridos, com o intuito de avaliar a hipótese de herança materna das características dos ovos.

2.2 Objetivos específicos

- a)** Caracterizar o exocório de ovos de 12 espécies de triatomíneos dos gêneros *Psammolestes*, *Rhodnius* e *Triatoma*;
- b)** Caracterizar o exocório de ovos de 12 híbridos de triatomíneos obtidos dos cruzamentos experimentais;
- c)** Comparar o exocório dos ovos das diferentes espécies e dos híbridos experimentais;
- d)** Avaliar se o padrão de segregação do exocório dos ovos é de herança materna nas espécies de triatomíneos estudadas;
- e)** Realizar uma revisão de chaves dicotômicas fundamentadas em caracteres de ovos de Triatominae.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO (apresentados na forma de artigo científico e capítulo de livro)

3.1 Artigo científico publicado na revista internacional *Scientific Reports* (FI 4,5)

SOUSA P, OLIVEIRA J, RAVAZI A, REIS YV, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA, GALVÃO C, ALEVI KCC, 2024. Analysis of the maternal inheritance hypothesis of the exochorium in eggs from hybrids of Chagas disease vectors. Sci Rep 14, 722. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-51125-w>



OPEN

Analysis of the maternal inheritance hypothesis of the exochorium in eggs from hybrids of Chagas disease vectors

Paulo Sergio de Sousa^{1,6}, Jader de Oliveira^{2,6}, Amanda Ravazi¹, Yago Visinho dos Reis³, Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira⁴, João Aristeu da Rosa³, Cleber Galvão^{5✉} & Kaio Cesar Chaboli Alevi^{2,5}

Morphological studies applied to the taxonomy of the Triatominae cover various structures (head, wing, thorax, genitalia, and eggs). Exochorial structures of hybrid eggs were characterized and compared with the parents, demonstrating that hybrids presented characteristics identical to the exochorial pattern observed in the females of the crosses, which resulted in the hypothesis that the pattern of triatomine eggs is possibly a characteristic inherited from females. Thus, we characterized the exochorium of the eggs of several triatomine hybrids and compared them with the parents, to assess the pattern of segregation and test the hypothesis of maternal inheritance. Hybrids were obtained in at least one direction from all crosses. The analysis of the exochorium of the eggs of the hybrids showed different patterns of segregation: "exclusively paternal", "predominantly maternal", "predominantly paternal", "mutual", and "differential". Curiously, none of the hybrids evaluated presented characteristics that segregated exclusively from the female parental species. Thus, we demonstrate that the hypothesis of maternal inheritance of the exochorium pattern of eggs is not valid and we emphasize the importance of alternative/combined tools (such as integrative taxonomy) for the correct identification of these insect vectors (mainly in view of possible natural hybridization events due to climate and environmental changes).

Triatomines (Hemiptera, Triatominae) are hematophagous insects that act as vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), the etiologic agent of Chagas disease (CD)^{1,2}. This disease is considered neglected and affects about seven million people worldwide, causing approximately ten thousand deaths per year¹. Although there are different forms of transmission, such as organ transplantation, blood transfusion, ingestion of contaminated food and laboratory accidents, the vector is considered the main route of transmission by the World Health Organization¹.

Although the CD is curable if treatment with the antitrypanosomatides benznidazole and nifurtimox is initiated soon after infection (acute phase of the disease), the main way to minimize the incidence of new cases is based on the control of vector populations, as the acute phase is usually asymptomatic or causes nonspecific symptoms¹. That way, studies related to triatomines are extremely important for public health, since they can

¹Institute of Biosciences (IBB), Sao Paulo State University (Unesp), Dr. Antonio Celso Wagner Zanin, 250, Botucatu, SP 18618-689, Brazil. ²Laboratory of Entomology in Public Health, Department of Epidemiology, Faculty of Public Health (FSP), University of Sao Paulo (USP), Avenue Dr. Arnaldo, 715, Sao Paulo, SP 01246-904, Brazil. ³Laboratory of Parasitology, School of Pharmaceutical Sciences (FCFAR), Sao Paulo State University (Unesp), Road Araraquara/Jau, Km 01, Araraquara, SP 14801-902, Brazil. ⁴Laboratory of Cell Biology, Institute of Biosciences, Humanities and Exact Sciences (IBILCE), Sao Paulo State University (Unesp), Cristovao Colombo, 2265, Sao Jose do Rio Preto, SP 15054-000, Brazil. ⁵National and International Reference Laboratory On Triatomine Taxonomy, Oswaldo Cruz Institute (IOC), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Avenue Brasil, 4365, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brazil. ⁶These authors contributed equally: Paulo Sergio de Sousa and Jader de Oliveira. ✉email: clebergalvao@gmail.com

generate subsidies to help vector control programs in the prophylaxis of CD³. Thus, since the first record in humans over 110 years ago², several approaches have contributed to the biological, ecological, genetic, taxonomic, evolutionary and epidemiological knowledge of these vectors⁴.

Triatomines have the habit of defecating/urinating during or after a blood meal, thus releasing the parasite in the feces/urine if they are infected with *T. cruzi*¹. There are 160 described species (157 living species and three fossil species), grouped into 18 genera and five tribes^{5–9}, being all living species considered as potential vectors of CD. Currently, taxonomic studies of these vectors have been based on morphological, morphometric, genetic, cytogenetic, molecular analyses, and experimental crossings⁵. Morphological and morphometric studies applied to taxonomy cover various structures of triatomines, such as the head, wing, thorax and genitalia, as well as their eggs^{10–20}.

The eggs of these vectors have different structures, as lateral flattening, chorionic edge, opercular edge, neck, operculum, longitudinal bevel, collar, spermatic gutter, micropyles, aeropyles, sealing strip, hatching line, limiting lines, chorion, endochorion and exochorion, being many of these characteristics being used in taxonomic studies^{18–27}. Recently, Sousa et al.²⁸ grouped all dichotomous keys developed based on egg characteristics observed in light and scanning electron microscopy (SEM) and titled these keys EggKeys.

As mentioned above, among the different tools that can compound integrative taxonomy, carrying out experimental crosses and analysis of pre- and post-zygotic interspecific reproductive barriers are of great importance to assess the specific status of taxa (based on the biological species concept)^{29,30}. Although most studies associated with experimental crossings are associated with taxonomy^{3,21,31–49}, some researchers have studied the segregation pattern of phenotypic characteristics of triatomines in hybrids^{11,22,31,38,41,42}. Only in 2014, morphological structures of hybrid eggs of *Triatoma lenti* Sherlock & Serafim, 1967 and *T. sherlocki* Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira & Barata, 2002 were characterized by SEM and compared with the parents¹¹. These pioneering analyses into triatomines made it possible to observe that first-generation hybrids (F1) presented characteristics identical to the exochorion pattern observed in the females of the crosses, that is, the F1 hybrids from the cross between ♀ *T. lenti* and ♂ *T. sherlocki* showed an identical pattern to *T. lenti* and the cross between ♀ *T. sherlocki* and ♂ *T. lenti* showed an identical pattern to *T. sherlocki*¹¹. According to these results, a hypothesis was raised that the pattern of triatomine eggs is possibly a characteristic inherited from females.

Based on the above, we characterized the exochorion of the eggs of several triatomine hybrids and compared them with the parents, to assess the pattern of segregation and test the hypothesis of maternal inheritance.

Results

Hybrids were obtained in at least one direction from all crosses, i.e., between ♀ *Rhodnius robustus* Larrousse, 1927 and ♂ *R. prolixus* Stål, 1859, ♀ *R. prolixus* and ♂ *R. robustus*, ♀ *R. neivai* Lent, 1953 and ♂ *R. prolixus*, ♀ *R. prolixus* and ♂ *R. nasutus* Stål, 1859, ♀ *R. montenegrensis* Rosa et al., 2012 and ♂ *R. marabaensis* Souza et al., 2016, ♀ *R. marabaensis* and ♂ *R. montenegrensis*, ♀ *R. robustus* and ♂ *R. montenegrensis*, ♀ *R. montenegrensis* and ♂ *R. robustus*, ♀ *Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911 and ♂ *P. tertius* Lent & Jurberg, 1965, ♀ *T. brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and ♂ *T. lenti*, ♀ *T. melanica* (Neiva & Lent, 1941) and ♂ *T. lenti*, as well as ♀ *T. lenti* and ♂ *T. juazeirensis* Costa & Felix, 2006.

The analysis of the exochorion of the eggs of the hybrids and the parents (Figs. 1, 2, 3 and Tables 1, 2, 3) showed different patterns of segregation:

- i. "exclusively maternal" segregation: not observed in eggs of any of the hybrids.
- ii. "exclusively paternal" segregation: hybrids resulting from crosses between ♀ *T. lenti* × ♂ *T. juazeirensis*.
- iii. "predominantly maternal" segregation: hybrids resulting from crosses between ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. robustus*.
- iv. "predominantly paternal" segregation: hybrids resulting from crosses between ♀ *R. robustus* × ♂ *R. prolixus*, ♀ *R. montenegrensis* × ♂ *R. marabaensis*, and ♀ *R. robustus* × ♂ *R. montenegrensis*.
- v. "mutual" segregation: hybrids resulting from crosses between ♀ *R. robustus* × ♂ *R. prolixus*, and ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. nasutus*,
- vi. "differential" segregation: hybrids resulting from crosses between ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. robustus*, ♀ *R. neivai* × ♂ *R. prolixus*, ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. nasutus*, ♀ *R. montenegrensis* × ♂ *R. marabaensis*, ♀ *R. marabaensis* × ♂ *R. montenegrensis*, ♀ *R. robustus* × ♂ *R. montenegrensis*, ♀ *R. montenegrensis* × ♂ *R. robustus*, ♀ *P. coreodes* × ♂ *P. tertius*, ♀ *T. b. macromelasoma* × ♂ *T. lenti*, and ♀ *T. melanica* × ♂ *T. lenti*.

Discussion

Of the six segregation patterns evaluated, differential segregation was observed in most of the hybrid eggs (Tables 1, 2, 3). This phenomenon may result from the fact that hybrids are organisms resulting from the crossing of two different species⁴³, that is, two distinct haploid genomes unite and, in general, can form a hybrid organism genotypically different from the parents⁴³ (which may reflect in phenotypic characters not shared with the species that originated the hybrids).

Although Mendonça et al.¹¹ observed exclusively maternal segregation for eggs of hybrids resulting from crosses between *T. lenti* and *T. sherlocki*, curiously, none of the hybrids evaluated in the present work presented characteristics of the morphology of the egg that segregated exclusively from the female species. This fact makes the hypothesis of maternal segregation of eggs unfeasible (being, therefore, only a peculiar characteristic of the hybrids analyzed by Mendonça et al.¹¹).

Mendonça et al.¹¹ evaluated the morphological segregation pattern of the median process of the pygophore in F1 hybrids and also observed segregation of characters that were not present in the parents (called intermediate characters by the authors). In addition, the authors evaluated the phenotype of the hybrids and observed different segregation patterns related to the size of the hemelytra (since *T. sherlocki* is brachyptera and unable to fly)⁴¹ and

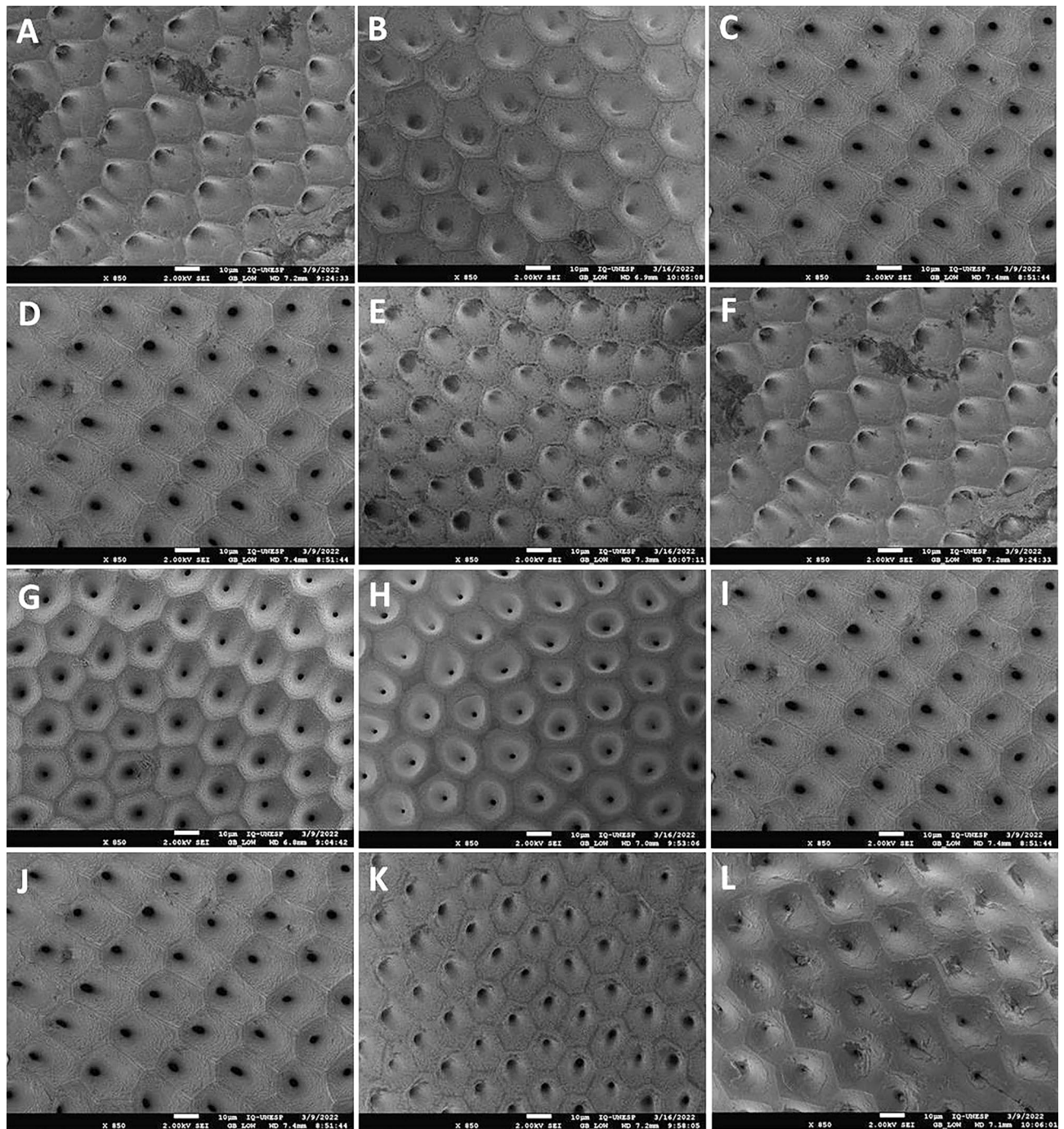


Figure 1. Characterization of the exochorium of the eggs of the parents and hybrids of *Rhodnius* spp. by SEM. (A,F) *R. robustus*, (B) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. robustus* × ♂ *R. prolixus*, (C,D,I,J) *R. prolixus*, (E) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. robustus*, (G) *R. neivai*, (H) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. neivai* × ♂ *R. prolixus*, (K) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. prolixus* × ♂ *R. nasutus*, (L) *R. nasutus*.

the color of the femoral rings. Pinotti et al.⁴² evaluated the segregation of morphological characters in hybrids of species of the *T. brasiliensis* subcomplex and observed that the hybrids resulting from the crosses between *T. b. brasiliensis* ♀ × *T. lenti* ♂, *T. juazeirensis* ♀ × *T. lenti* ♂, and *T. melanica* ♀ × *T. lenti* ♂ showed segregation of characteristics of both parental species. On the other hand, the hybrids between *T. lenti* ♀ × *T. juazeirensis* ♂, *T. b. macromelasoma* ♀ × *T. lenti* ♂, and *T. lenti* ♀ × *T. melanica* ♂ showed a specific pattern of *T. lenti*, *T. lenti* and *T. melanica*, respectively. In addition, a study using experimental crosses between *Mepraia spinolai* (Porter, 1934) and *M. gajardoi* Frias, Henry and Gonzalez, 1998 demonstrated that wingless males of *M. spinolai* produce both wingless and winged males³¹, thus demonstrating that the hypothesis of Frias and Átria⁵⁰ that relate the genes linked to the wings with the Y sex chromosome is not valid—as the females of *Mepraia* spp. are always apterous

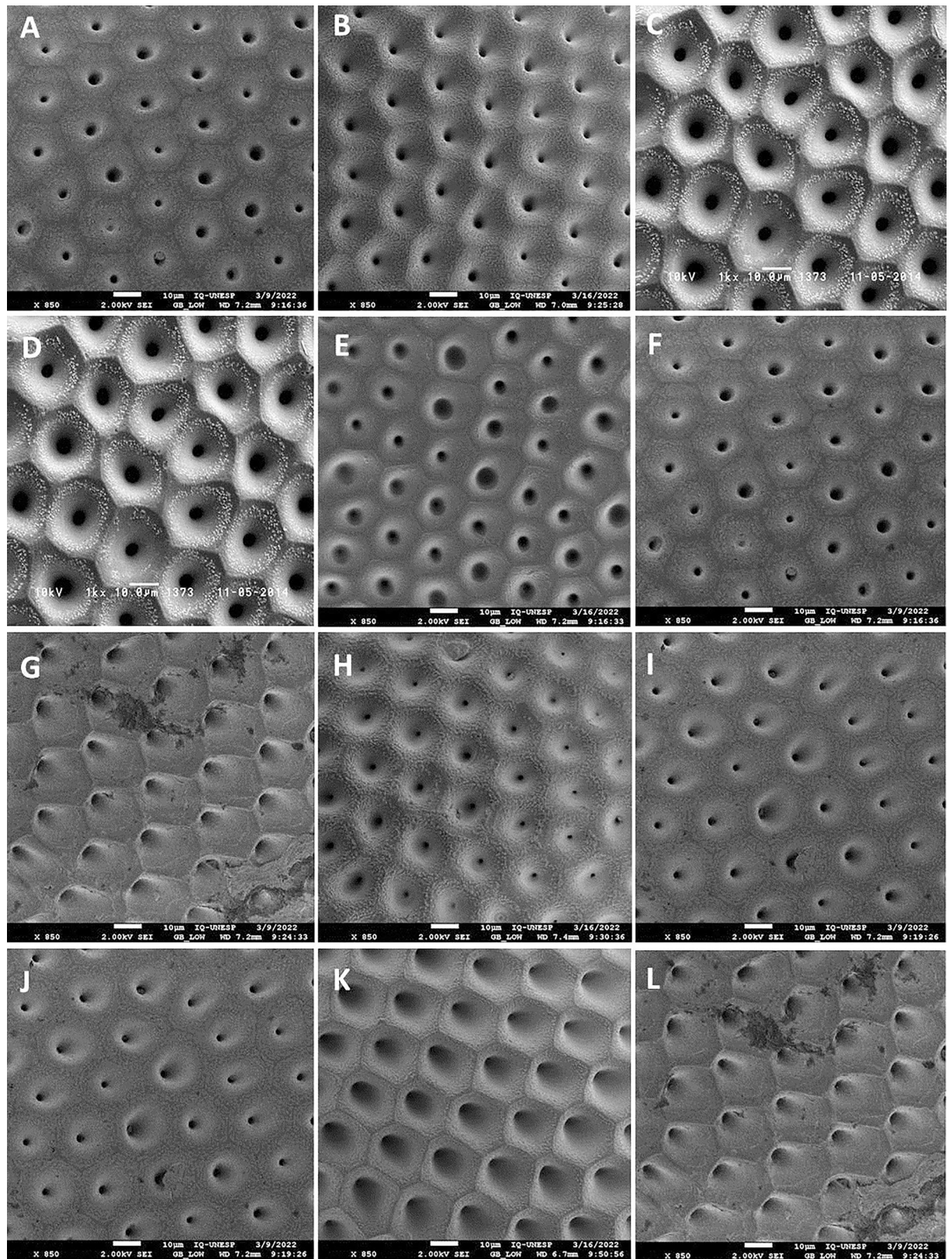


Figure 2. Characterization of the exochorium of the eggs of the parents and hybrids of *Rhodnius* spp. by SEM. (A,F,I,J) *R. montenegrensis*, (B) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. montenegrensis* × ♂ *R. marabaensis*, (C,D) *R. marabaensis*, (E) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. marabaensis* × ♂ *R. montenegrensis*, (G,L) *R. robustus*, (H) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. robustus* × ♂ *R. montenegrensis*, (K) Hybrid resulting from the cross between ♀ *R. montenegrensis* × ♂ *R. robustus*.

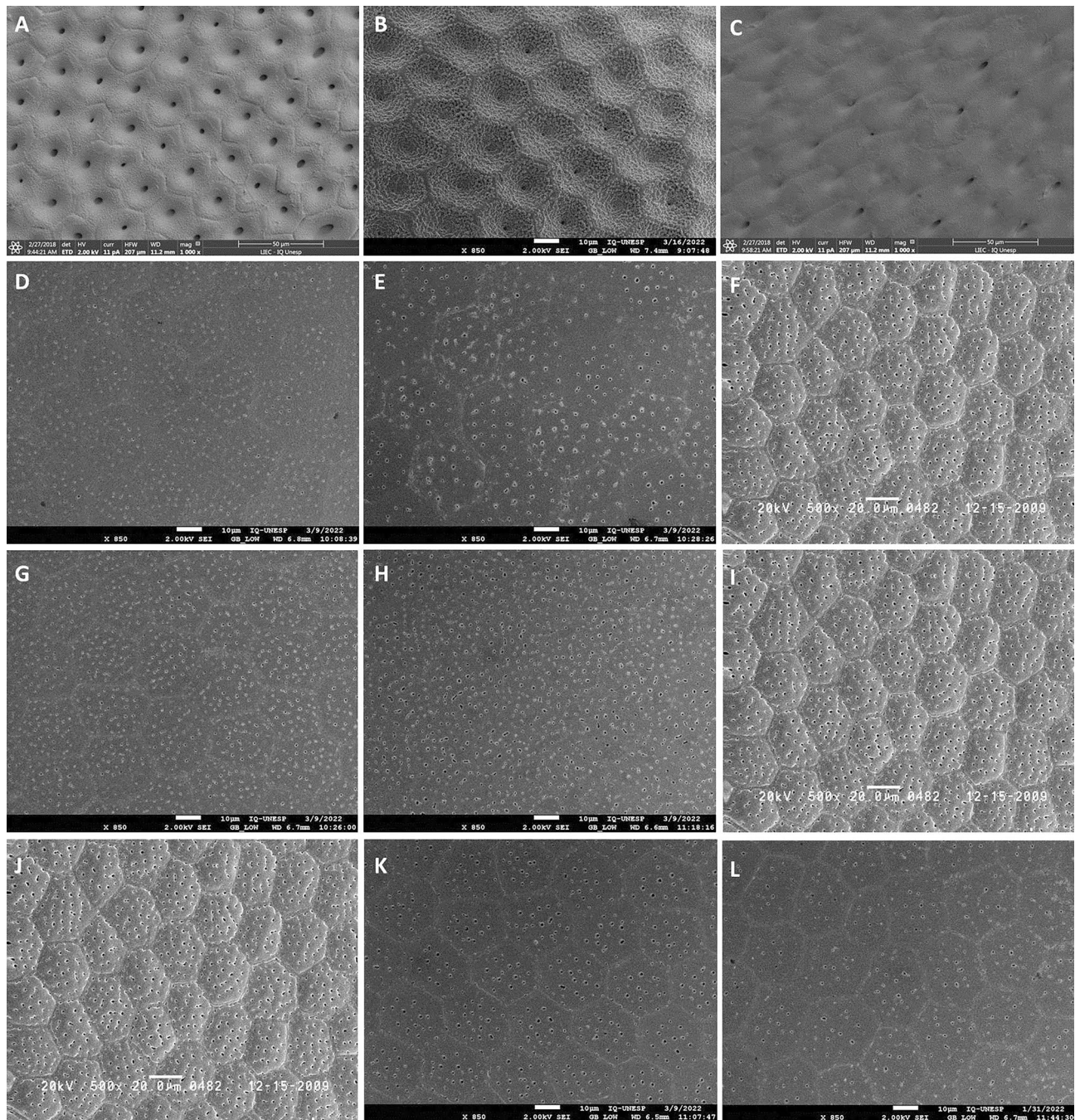


Figure 3. Characterization of the exochorium of the eggs of the parents and hybrids of *Psammolestes* spp. and *Triatoma* spp. by SEM. (A) *P. coreodes*, (B) Hybrid resulting from the cross between ♀ *P. coreodes* × ♂ *P. tertius*, (C) *P. tertius*, (D) *T. b. macromelasoma*, (E) Hybrid resulting from the cross between ♀ *T. b. macromelasoma* × ♂ *T. lenti*, (F,I,J) *T. lenti*, (G) *T. melanica*, (H) Hybrid resulting from the cross between ♀ *T. melanica* × ♂ *T. lenti*, (K) Hybrid resulting from the cross between ♀ *T. lenti* × ♂ *T. juazeirensis*, (L) *T. juazeirensis*.

or micropterous, the authors had suggested that the wing polymorphism present in males of *M. spinolai* would be related to a possible breakage of the Y sex chromosome (fragment Y1—specimens with wings and fragment Y2—specimens without wings).

Recently, Ravazi et al.⁵¹ evaluated the hybridization capacity of species from the Rhodniini tribe that live in sympatry and parapatry in the face of anthropogenic changes (environmental and climate changes). The authors observed that hybrids were produced in at least one direction of all crosses performed. This fact, when associated with the segregation patterns observed for the *Rhodnius* spp. and *Psammolestes* spp. (Tables 1, 2, 3), highlight the importance of other methodologies to confirm the specific status of species from the Rhodniini tribe, once climate and environmental changes may be influencing the dynamics of species distribution, which may lead

Characteristics	<i>R. robustus</i> (Fig. 1A)	<i>R. prolixus</i> (Fig. 1C)	Hybrid (Fig. 1B) (♀ <i>R. robustus</i> × ♂ <i>R. prolixus</i>)
Cells	Hexagonal	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal
Limiting lines	Evident	Very evident (easy to see)	Very evident (easy to see)
Granulations	Irregular and less abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant	Regular and abundant
Characteristics	<i>R. robustus</i> (Fig. 1F)	<i>R. prolixus</i> (Fig. 1D)	Hybrid (Fig. 1E) (♀ <i>R. prolixus</i> × ♂ <i>R. robustus</i>)
Cells	Hexagonal	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal
Limiting lines	Evident	Very evident (easy to see)	Less evident
Granulations	Irregular and less abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant	Irregular and less abundant, with greater concentration around the LL
Characteristics	<i>R. neivai</i> (Fig. 1G)	<i>R. prolixus</i> (Fig. 1I)	Hybrid (Fig. 1H) (♀ <i>R. neivai</i> × ♂ <i>R. prolixus</i>)
Cells	Pentagonal and hexagonal	Pentagonal and hexagonal	Pentagonal and hexagonal
Limiting lines	Very evident (easy to see)	Very evident (easy to see)	Less evident
Granulations	Regular and abundant	Regular and abundant	Regular and abundant, with greater concentration around the LL
Characteristics	<i>R. prolixus</i> (Fig. 1J)	<i>R. nasutus</i> (Fig. 1L)	Hybrid (Fig. 1K) (♀ <i>R. prolixus</i> × ♂ <i>R. nasutus</i>)
Cells	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal and irregular	Hexagonal
Limiting lines	Very evident (easy to see)	Less evident	Evident
Granulations	Regular and abundant	Irregular and less abundant, frequently forming clumps	Regular and abundant

Table 1. Morphological characteristics of the exochorion of the parents and segregation pattern in the hybrids of *Rhodnius* spp.

Characteristics	<i>R. montenegrensis</i> (Fig. 2A)	<i>R. marabaensis</i> (Fig. 2C)	Hybrid (Fig. 2B) (♀ <i>R. montenegrensis</i> × ♂ <i>R. marabaensis</i>)
Cells	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal and irregular	Hexagonal
Limiting lines	Evident	Evident	Less evident
Granulations	Regular and abundant	Regular and abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant, with greater concentration around the LL
Characteristics	<i>R. montenegrensis</i> (Fig. 2F)	<i>R. marabaensis</i> (Fig. 2D)	Hybrid (Fig. 2E) (♀ <i>R. marabaensis</i> × ♂ <i>R. montenegrensis</i>)
Cells	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal and irregular	Hexagonal and irregular
Limiting lines	Evident	Evident	Less evident
Granulations	Regular and abundant	Regular and abundant, with greater concentration around the LL	Irregular and less abundant
Characteristics	<i>R. robustus</i> (Fig. 2G)	<i>R. montenegrensis</i> (Fig. 2I)	Hybrid (Fig. 2H) (♀ <i>R. robustus</i> × ♂ <i>R. montenegrensis</i>)
Cells	Hexagonal	Pentagonal and hexagonal	Pentagonal and hexagonal
Limiting lines	Evident	Less evident	Less evident
Granulations	Irregular and less abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant, frequently forming clumps
Characteristics	<i>R. robustus</i> (Fig. 2L)	<i>R. montenegrensis</i> (Fig. 2J)	Hybrid (Fig. 2K) (♀ <i>R. montenegrensis</i> × ♂ <i>R. robustus</i>)
Cells	Hexagonal	Pentagonal and hexagonal	Hexagonal
Limiting lines	Evident	Less evident	Very evident (easy to see)
Granulations	Irregular and less abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant, with greater concentration around the LL	Regular and abundant

Table 2. Morphological characteristics of the exochorion of the parents and segregation pattern in the hybrids of *Rhodnius* spp.

to the formation of hybrids under natural conditions (thus making it difficult to use EggKeys²⁸ for the correct identification of species).

This same issue may be happening with the species of the *T. brasiliensis* subcomplex, since entomoepidemiological studies and analyses of the distribution potential of this group of species in the face of climate change demonstrate that many taxa of this subcomplex have already been reported in sympatry^{52–55}. These findings, when combined with the hybridization ability of most species in this subcomplex [except *T. petrocchiaie* (Pinto & Barreto, 1925)]^{3,36} and with the pattern of egg segregation observed (Table 3), highlights the importance of alternative methodologies/keys in addition to the characterization of the egg exochorion^{12,56} for the taxonomy of the group.

Characteristics	<i>P. coreodes</i> (Fig. 3A)	<i>P. tertius</i> (Fig. 3C)	Hybrid (Fig. 3B) (♀ <i>P. coreodes</i> × ♂ <i>P. tertius</i>)
Cells	Pentagonal, hexagonal and irregular	Hexagonal and irregular	Pentagonal and hexagonal
Limiting lines	Less evident	Absent	Very evident (easy to see)
Granulations	Irregular and abundant, with less concentration around the LL	Regular and abundant	Regular and abundant
Characteristics	<i>T. b. macromelasoma</i> (Fig. 3D)	<i>T. lenti</i> (Fig. 3F)	Hybrid (Fig. 3E) (♀ <i>T. b. macromelasoma</i> × ♂ <i>T. lenti</i>)
Cells	Hexagonal and irregular	Pentagonal, hexagonal and irregular	Hexagonal
Limiting lines	Less evident	Evident	Less evident
Pores	Regular and abundant	Regular and abundant	Irregular and abundant
Characteristics	<i>T. melanica</i> (Fig. 3G)	<i>T. lenti</i> (Fig. 3I)	Hybrid (Fig. 3H) (♀ <i>T. melanica</i> × ♂ <i>T. lenti</i>)
Cells	Pentagonal, hexagonal and irregular	Pentagonal, hexagonal and irregular	Pentagonal and hexagonal
Limiting lines	Less evident	Evident	Absent
Pores	Regular and abundant	Regular and abundant	Regular and abundant
Characteristics	<i>T. juazeirensis</i> (Fig. 3L)	<i>T. lenti</i> (Fig. 3J)	Hybrid (Fig. 3K) (♀ <i>T. lenti</i> × ♂ <i>T. juazeirensis</i>)
Cells	Pentagonal, hexagonal and irregular	Pentagonal, hexagonal and irregular	Pentagonal, hexagonal and irregular
Limiting lines	Less evident	Evident	Less evident
Pores	Regular and less abundant	Regular and abundant	Regular and less abundant

Table 3. Morphological characteristics of the exochorion of the parents and segregation pattern in the hybrids of *Psammolestes* spp. and *Triatoma* spp.

Alevi et al.⁵ rescued the analyzes used in the description of the species of the Triatominae subfamily and observed that most taxa were described based on classical taxonomy (phenotypic analyses). However, the authors highlighted a trend towards the use of integrative taxonomy (which integrates morphological and morphometric studies with other approaches, such as molecular, ecological, behavioral, genetic, chromosomal, and reproductive, among others) in recent years. The genus *Rhodnius* Stål, 1859, in general, presents a very complex taxonomy, as cryptic speciation events and phenotypic plasticity have already been described in these triatomines^{57,58}. Thus, the use of integrative taxonomy, as performed in the description of *R. montenegrensis*¹⁰, *R. barretti* Abad-Franch et al.⁵⁷ and *R. marabaensis*¹³, allows greater reliability of the specific status of the species of this genus.

Likewise, several events of description, redescription, and synonymization have already been carried out in the *T. brasiliensis* subcomplex^{12,59–63}. *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967, for example, was described in 1967⁶⁴, synonymized with *T. lenti* in 1979⁵⁰ and only in 2016 was it revalidated, based on integrative taxonomy¹². Several comparative analyses between *T. bahiensis* and *T. lenti* were carried out (including the study of the exochorion of eggs in SEM). Although morphological and genetic differences were observed, experimental crosses were essential to confirm the specific status of *T. bahiensis*.

Thus, we demonstrate that the hypothesis of maternal inheritance of the exochorium pattern of eggs is not valid, and, above all, we emphasize the importance of alternative/combined tools (such as integrative taxonomy) for the correct identification of these insect vectors (mainly in view of possible natural hybridization events due to climate and environmental changes).

Methods
Experimental crosses

In order to obtain the eggs of the hybrids, interspecific crosses were performed between *R. robustus* and *R. prolixus* (both directions), *R. neivai* and *R. prolixus* (♀ *R. neivai* × ♂ *R. prolixus*), *R. prolixus* and *R. nasutus* (♀ *R. prolixus* × ♂ *R. nasutus*), *R. montenegrensis* and *R. marabaensis* (both directions), *R. robustus* and *R. montenegrensis* (both directions), *P. coreodes* and *P. tertius* (♀ *P. coreodes* × ♂ *P. tertius*), *T. b. macromelasoma* and *T. lenti* (♀ *T. b. macromelasoma* × ♂ *T. lenti*), *T. melanica* and *T. lenti* (♀ *T. melanica* × ♂ *T. lenti*), as well as *T. juazeirensis* and *T. lenti* (♀ *T. lenti* × ♂ *T. juazeirensis*). The species used were provided by the Triatominae Insectarium of the School of Pharmaceutical Sciences (FCFAR/UNESP), Araraquara, São Paulo, Brazil, where the crossings were also carried out. To ensure the virginity of the tested insects, fifth instar nymphs were separated and sexed¹¹. After reaching the adult stage, the crosses were initiated and lasted 4 months⁴⁰. Insect feeding were performed weekly during this period. The insects were kept at room temperature (average of 24 °C) and relative humidity of 63%⁶⁵. After the hybrids reached the adult phase, intercrosses (♀ hybrid × ♂ hybrid) were performed to obtain the hybrid eggs. In addition, intraspecific crosses were performed to obtain eggs from the parents.

Study of the exochorium of eggs in SEM

For the SEM analyses, ten eggs of each of the 12 parental species used in the crosses and of the 12 hybrids resulting from the interspecific crosses were prepared and analyzed in SEM, according to Mendonça et al.¹¹: cleaned in an ultrasound machine, dehydrated in alcoholic series, dried in an oven at 45° for 20 min and then fixed in small aluminum cylinders “stubs” with colorless enamel. Subsequently, they were metalized by “sputtering” for 2 min with a power of 10 mA in a “Sputter” SCD 050 device and, finally, they were analyzed and photo-documented in SEM Topcon SM-300 (total magnification of 850 ×).

Analyzed structures and classification of the segregation pattern

Among the different structures that make up the exochorium^{25,26}, we analyzed the pattern of segregation of exochorial cells, limiting lines and granulation (for *Rhodnius*) or pores (for *Triatoma* Laporte, 1832).

The classification of the segregation pattern of the phenotypic characteristics of the exochorium was carried out as follows:

- i. "exclusively maternal" segregation, when all the characteristics of the eggs of the hybrids are the same as those of the female species used in the crosses;
- ii. "exclusively paternal" segregation, when all the characteristics of the eggs of the hybrids are the same as the male species used in the crosses;
- iii. "predominantly maternal" segregation, when most of the characteristics of the eggs of the hybrids (two or more) are the same as the female species used in the crosses;
- iv. "predominantly paternal" segregation, when most of the characteristics of the eggs of the hybrids (two or more) are the same as the male species used in the crosses;
- v. "mutual" segregation, when at least one characteristic of the eggs of the hybrids is inherited from each of the parents;
- vi. "differential" segregation, when at least one of the characteristics of the eggs of the hybrids is different from those observed in the parents.

Data availability

All relevant data are within the manuscript.

Received: 3 November 2023; Accepted: 31 December 2023

Published online: 06 January 2024

References

- WHO (World Health Organization). *Chagas disease (also known as American trypanosomiasis)* [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)) (2023).
- Chagas, C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **1**, 159–218 (1909).
- Pinotti, H. *et al.* Revisiting the hybridization processes in the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera, Triatominae): interspecific genomic compatibility point to a possible recent diversification of the species grouped in this monophyletic complex. *PLoS ONE* **16**, e0257992 (2021).
- Galvão, C. *Vetores da doença de Chagas no Brasil* (ed. Galvão, C.) 289 (Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014).
- Alevi, K. C. C., Oliveira, J., Rocha, D. S. & Galvão, C. Trends in taxonomy of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): from Linnaean to integrative taxonomy. *Pathogens.* **10**, 1627 (2021).
- Oliveira Correia, J. P. S., Gil-Santana, H. R., Dale, C. & Galvão, C. *Triatoma guazu* Lent and Wygodzinsky is a junior synonym of *Triatoma williamsi* Galvão. *Souza and Lima. Insects.* **13**, 591 (2022).
- Gil-Santana, H. R., Chavez, T., Pita, S., Panzera, F. & Galvão, C. *Panstrongylus noireaudi*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *ZooKeys.* **1104**, 203–225 (2022).
- Téllez-Rendón, J. *et al.* *Triatoma yalapensis* sp. nov. (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico, with a Key of *Triatoma* Species Recorded in Mexico. *Insects.* **14**, 331 (2023).
- Zhao, Y., Fan, M., Li, H. & Cai, W. Review of Kissing Bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from China with Descriptions of Two New Species. *Insects.* **14**, 450 (2023).
- Rosa, J. A. *et al.* Description of *Rhodnius montenegrensis* n. sp. (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae) from the state of Rondônia, Brazil. *Zootaxa.* **3478**, 62–76 (2012).
- 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). *Inf. Gen. Evol.* **26**, 123–131 (2014).
- Mendonça, V. J. *et al.* Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. *Zootaxa.* **4107**, 239–254 (2016).
- Souza, E. S. *et al.* Description of *Rhodnius marabaensis* sp. N. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Pará State, Brazil. *Zookeys.* **621**, 45–62 (2016).
- Dorn, P. L. *et al.* Description of *Triatoma mopan* sp. n. (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from a cave in Belize. *Zookeys.* **775**, 69–95 (2018).
- Oliveira, J., Ayala, J. M., Justi, S. A., Rosa, J. A. & Galvão, C. 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). *J. Vector Ecol.* **43**, 148–157 (2018).
- Lima-Cordón, R. A. *et al.* Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Zookeys.* **820**, 51–70 (2019).
- Belintani, T., de Paiva, V. F., de Oliveira, J. & da Rosa, J. A. New in morphometry: geometric morphometry of the external female genitalia of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Trop.* **229**, 106383 (2022).
- Villalobos, G., Martínez-Ibarra, J. A., Martínez-Hernández, F., López-Alcaide, S. & Alejandre-Aguilar, R. The morphological variation of the eggs and genital plates of two morphotypes of *Triatoma protracta* Uhler, 1894. *J. Vector Ecol.* **37**, 179–186 (2012).
- Rivas, N. *et al.* Morphological study of eggs from five Mexican species and two morphotypes in the genus *Triatoma* (Laporte, 1832). *J. Vector Ecol.* **38**, 90–96 (2013).
- Rivas, N., Sánchez-Espíndola, E., Camacho, A. D. & Alejandre-Aguilar, R. Comparative egg morphology of six *Meccus* species and *Triatoma recurva* (Stål, 1868) Hemiptera: Reduviidae. *J. Vector Ecol.* **41**, 135–141 (2016).
- Usinger, R. L. The Triatominae of North and Central America and West Indies and their public health significance. *Public Health Bull.* **228**, 1–83 (1944).
- Usinger, R. L., Wygodzinsky, P. & Ryckman, E. R. The Biosystematics of Triatominae. *Annu. Rev. Entomol.* **11**, 309–329 (1966).
- Abalos, J. W. & Wygodzinsky, P. Las Triatominae Argentinas (Reduviidae, Hemiptera). *An. Inst. Med. Regional.* **2**, 1–179 (1951).
- Carcavallo, R. & Tonn, R. J. Clave gráfica de Reduviidae (Hemiptera) hematofagos de Venezuela. *Bol. Dir. Malarial. Saneam. Amb.* **16**, 244–265 (1976).

25. Barata, J. M. S. Aspectos morfológicos de ovos de Triatominae. II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stal, 1856 (Hemiptera - Reduviidae). *Rev. Saude Publ.* **15** 490–542 (1981).
26. Rocha, D. S., Jurberg, J., Rosa, J. A., Schaefer, C. W. & Galvão, C. Description of eggs and nymphal instars of *Triatoma baratai* Carcavallo & Jurberg, 2000 based on optical an scanning electron microscopy (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa*. **2064**, 1–20 (2009).
27. Santos, C. M. *et al.* Comparative descriptions of eggs from three species of *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **104**, 1012–1018 (2009).
28. Sousa P. S. *et al.* Eggkeys: chaves de identificação para os vetores da doença de Chagas desenvolvidas a partir das características dos ovos in *Atualidades em Medicina Tropical: Vetores* (eds. Oliveira, J., Alevi, K. C. C., Camargo, L. M. A. & Meneguetti, D. U. O.) 20–36 (Stricto Sensu editora, 2021).
29. Mayr, E. *Animal Species and Evolution* (eds. Mayr, E.) 797 (Harvard University Press, 1963).
30. Dobzhansky, T. *Genetics of the Evolutionary Process* (eds. Dobzhansky, T.) 505 (Columbia University Press, 1970).
31. Campos-Soto, R. *et al.* Experimental crosses between *Mepraia gajardoi* and *M. spinolai* and hybrid chromosome analyses reveal the occurrence of several isolation mechanisms. *Inf. Gen. Evol.* **45**, 205–212 (2016).
32. Alevi, K. C. C. *et al.* Hybrid collapse confirms the specific status of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera, Triatominae), an endemic species in Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **98**, 475–477 (2018).
33. Alevi, K. C. C. *et al.* *Triatoma rosai* sp. nov. (Hemiptera, Triatominae): A New Species of Argentinian Chagas Disease Vector Described Based on Integrative Taxonomy. *Insects.* **11**, 830 (2020).
34. Santos, J. M. N. *et al.* Prezygotic isolation confirms the exclusion of *Triatoma melanocephala*, *T. vitticeps* and *T. tibiamaculata* of the *T. brasiliensis* subcomplex (Hemiptera, Triatominae). *Inf. Gen. Evol.* **79**, 104149 (2020).
35. Cesaretto, N. R. *et al.* Trends in taxonomy of Triatomini (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): Reproductive compatibility reinforces the synonymization of *Meccus* Stål, 1859 with *Triatoma* Laporte, 1832. *Parasit. Vectors.* **14**, 340 (2021).
36. Delgado, L. M. G. *et al.* Revisiting the Hybridization Processes in the *Triatoma brasiliensis* Complex (Hemiptera, Triatominae): Reproductive Isolation between *Triatoma petrocchiai* and *T. b. brasiliensis* and *T. lenti*. *Insects.* **12**, 1015 (2021).
37. Madeira, F. F. *et al.* *Triatoma sordida* (Hemiptera, Triatominae) from La Paz, Bolivia: An incipient species or an intraspecific chromosomal polymorphism? *Parasit. Vectors.* **14**, 553 (2021).
38. Ravazi, A. *et al.* Trends in evolution of the Rhodniini tribe (Hemiptera, Triatominae): experimental crosses between *Psammolestes tertius* Lent & Jurberg, 1965 and *P. coreodes* Bergroth, 1911 and analysis of the reproductive isolating mechanisms. *Parasit. Vectors.* **14**, 350 (2021).
39. Ravazi, A. *et al.* Trends in Taxonomy of the Rhodniini Tribe (Hemiptera, Triatominae): Reproductive Incompatibility between *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 and *Psammolestes* spp. Confirms the Generic Status of *Psammolestes* Bergroth, 1911. *Diversity.* **14**, 761 (2022).
40. Reis, Y. V. *et al.* Trends in evolution of the Triatomini tribe (Hemiptera, Triatominae): Reproductive incompatibility between four species of geniculatus clade. *Parasit. Vectors.* **15**, 403 (2022).
41. Almeida, C. E. *et al.* Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. *Acta Trop.* **122**, 71–79 (2012).
42. Pinotti, H. *et al.* Segregation of phenotypic characteristics in hybrids of *Triatoma brasiliensis* species complex (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Inf. Gen. Evol.* **91**, 104798 (2021).
43. Schwenk, K., Brede, N. & Streit, B. Introduction. Extent, processes and evolutionary impact of interspecific hybridization in animals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **363**, 2805–2811 (2008).
44. Martínez-Ibarra, J. A. *et al.* Biological and genetic aspects of crosses between species of the *Phyllosoma* complex (Hemiptera: Reduviidae Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **103**, 236–243 (2008).
45. Martínez-Hernández, F. *et al.* Natural crossbreeding between sympatric species of the *Phyllosoma* complex (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) indicate the existence of only one species with morphologic and genetic variations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **82**, 74–82 (2010).
46. Martínez-Ibarra, J. A. *et al.* Biological and genetic aspects of crosses between species of the genus *Meccus* (Hemiptera: Reduviidae Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **106**, 293–300 (2011).
47. Martínez-Ibarra, J. A. *et al.* Biological and genetic aspects of crosses between phylogenetically close species of Mexican Triatomines (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* **48**, 705–707 (2011).
48. Martínez-Ibarra, J. A. *et al.* Biological aspects of crosses between *Triatoma recurva* (Stal), 1868 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and other members of the *Phyllosoma* complex. *J. Vector Ecol.* **40**, 117–122 (2015).
49. Martínez-Ibarra, J. A. *et al.* Biological parameters of interbreeding subspecies of *Meccus phyllosomus* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in western Mexico. *Bull. Entomol. Res.* **105**, 763–770 (2015).
50. Frias, D. & Átria, J. Chromosomal variation, macroevolution and possible parapatric speciation in *Mepraia spinolai* (Porter) (Hemiptera: Reduviidae). *Gen. Mol. Biol.* **21**, 179–184 (1998).
51. Ravazi, A. *et al.* Climate and environmental changes and their potential effects on the dynamics of chagas disease: Hybridization in Rhodniini (Hemiptera, Triatominae). *Insects.* **14**, 378 (2023).
52. Costa, J., Dornak, L. L., Almeida, C. E. & Peterson, A. T. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. *Parasit. Vectors.* **7**, 238 (2014).
53. Costa, J. *et al.* Phenotypic variability confirmed by nuclear ribosomal DNA suggests a possible natural hybrid zone of *Triatoma brasiliensis* species complex. *Inf. Gen. Evol.* **37**, 77–87 (2016).
54. Lilião, M. *et al.* *Triatoma petrocchiai* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): a Chagas disease vector of *T. brasiliensis* species complex associated to reptiles. *Inf. Gen. Evol.* **82**, 104307 (2020).
55. Lima-Oliveira, T. M. *et al.* Molecular eco-epidemiology on the sympatric Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma petrocchiai*: ecotopes, genetic variation, natural infection prevalence by trypanosomatids and parasite genotyping. *Acta Trop.* **201**, 105188 (2020).
56. Costa, J. *et al.* Morphological Studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) Genital Structures and Eggs of Different Chromatic Forms. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **92**, 493–498 (1997).
57. Abad-Franch, F. *et al.* *Rhodnius barretti*, a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **108**, 92–99 (2013).
58. Monteiro, F. A., Weirauch, C., Felix, M., Lazoski, C. & Abad-Franch, F. Evolution, systematics, and biogeography of the Triatominae, vectors of Chagas disease. *Adv. Parasitol.* **99**, 265–344 (2018).
59. Lent, H. & Wygodzinsky, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **163**, 123–520 (1979).
60. Galvão, C., Carcavallo, R., Rocha, D. S. & Jurberg, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa.* **202**, 1–36 (2003).
61. Costa, J., Argolo, A. M. & Felix, M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, New Status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa.* **385**, 47–52 (2006).
62. Costa, J. & Felix, M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **102**, 87–90 (2007).

63. Costa, J. *et al.* Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and an identification key for the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **108**, 785–789 (2013).
64. Sherlock, I.A. & Serafim, E.M. *Triatoma lenti* sp.n., *Triatoma pessoai* sp.n. e *Triatoma bahiensis* sp.n. do Estado da Bahia. Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Gaz Méd. Bahia.* **67**, 75–92 (1967).
65. Olaia, N. *et al.* Biology of Chagas disease vectors: biological cycle and emergence rates of *Rhodnius marabaensis* Souza *et al.* 2016 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) under laboratory conditions. *Parasitol. Res.* **120**, 2939–2945 (2021).

Acknowledgements

We appreciate the *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo* (FAPESP), *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES)—Finance Code 001, *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) and *Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro* (FAPERJ) for financial support.

Author contributions

P.S.S. conceptualization, conducted the experiments, investigation, analyzed the results, writing—original draft preparation, writing—review and editing. J.O. conceptualization, conducted the experiments, investigation, analyzed the results, writing—review and editing, supervision, funding acquisition. A.R. conducted the experiments, investigation, analyzed the results, writing—review and editing, funding acquisition. Y.V.R. conducted the experiments, investigation, analyzed the results, writing—review and editing, funding acquisition. M.T.V.A.O. investigation, analyzed the results, writing—review and editing, funding acquisition. J.A.R. Investigation, analyzed the results, writing—review and editing, funding acquisition. C.G. investigation, analyzed the results, writing—review and editing, funding acquisition. K.C.C.A. conceptualization, conducted the experiments, investigation, analyzed the results, writing—original draft preparation, writing—review and editing, supervision, funding acquisition. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to C.G.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2024

3.2 Capítulo publicado no livro “Atualidades em Medicina Tropical na América do Sul: Vetores”

SOUSA P, OLIVEIRA J, GALVÃO C, ROCHA DS, RAVAZI A, ALEVI KCC, 2021. EggKeys: chaves de identificação para os vetores da doença de Chagas desenvolvidas a partir das características dos ovos. OLIVEIRA J, ALEVI KCC, CAMARGO LMA, MENEGUETTI DUO, eds. Atualidades em Medicina Tropical na América do Sul: Vetores. Rio Branco, Brazil: Stricto Sensu Editora, p. 04–37. DOI: <https://doi.org/10.35170/ss.ed.9786586283587.02>.

ATUALIDADES EM MEDICINA TROPICAL
NA AMÉRICA DO SUL:

VETORES



ISBN: 978-65-86283-58-7

Organizadores:

Jader de Oliveira

Kaio Cesar Chaboli Alevi

Luís Marcelo Aranha Camargo

Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti

2021

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A886

Atualidades em medicina tropical na América do Sul : vetores
/ Jader de Oliveira ... [et al] (org.). – Rio Branco : Stricto
Sensu, 2021.
345 p. : il.

ISBN: 978-65-86283-58-7

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283587

1. Medicina. 2. Tropical. 3. Vetores. I. Oliveira, Jader de.
II. Alevi, Kaio Cesar Chaboli. III. Camargo, Luís Marcelo
Aranha. IV. Meneguetti, Dionatas Ulises de Oliveira. V. Título.

CDD 22. ed. 616.9918

Bibliotecária Responsável: Tábata Nunes Tavares Bonin / CRB 11-935

O conteúdo dos capítulos do presente livro, correções e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

É permitido o download deste livro e o compartilhamento do mesmo, desde que sejam atribuídos créditos aos autores e a editora, não sendo permitido à alteração em nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.sseditora.com.br

EGGKEYS: CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO PARA OS VETORES DA DOENÇA DE CHAGAS DESENVOLVIDAS A PARTIR DAS CARACTERÍSTICAS DOS OVOS

Paulo Sergio de Sousa¹, Jader de Oliveira², Cleber Galvão³, Dayse da Silva Rocha³,
Amanda Ravazi¹ e Kaio Cesar Chaboli Alevi^{1,2}

1. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, São Paulo, Brasil;
2. Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, São Paulo, Brasil;
3. Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma doença endêmica da América Latina que mata, todos os anos, mais latino-americanos do que qualquer outra doença parasitária. A principal forma de transmissão do agente etiológico da DC (*Trypanosoma cruzi*) para seres humanos e outros mamíferos ocorre pelos triatomíneos. Atividades de investigações ecoepidemiológicas, bem como planejamentos e monitoramentos de intervenções de controle de vetores, dependem de identificações taxonômicas precisas. Entre os diversos estudos morfológicos que contribuíram para a taxonomia desses vetores, a caracterização dos ovos merece destaque, pois permitiu que diversas chaves de identificação fossem construídas. Diante do exposto, revisamos a literatura e agrupamos todas as chaves dicotômicas que utilizaram caracteres relacionados aos ovos dos triatomíneos.

Palavras-chave: Triatomíneos, Taxonomia e Morfologia.

ABSTRACT

Chagas disease (CD) is an endemic disease in Latin America that kills, every year, more Latin Americans than any other parasitic disease. The main form of transmission of the etiological agent of CD to humans and other mammals (which function as natural reservoirs) occurs by triatomines. Ecoepidemiological investigation activities, as well as planning and monitoring of vector control interventions, depend on accurate taxonomic identifications. Among the various morphological studies that contributed to the taxonomy of these vectors, the characterization of eggs deserves to be highlighted, as it allowed several identification keys to be created. Given the above, we reviewed the literature and grouped all the dichotomous keys that used characters related to triatomine eggs.

Keywords: Triatomines, Taxonomy and Morphology.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é uma doença endêmica da América Latina que mata, todos os anos, mais latino-americanos do que qualquer outra doença parasitária (DNDi, 2021). Essa enfermidade, causada pelo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), é considerada uma doença negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (DNDi, 2021; WHO, 2021). Atualmente, existem cerca de oito milhões de pessoas infectadas e estima-se que 70 milhões estejam em risco de contrair a doença (DNDi, 2021; WHO, 2021).

Menos de 10% das pessoas que vivem com DC nas Américas são diagnosticadas, e somente cerca de 1% dessas recebe tratamento antiparasitário com Benznidazol ou Nifurtimox (DNDi, 2021; WHO, 2021). Esses fármacos, embora descobertos há meio século, são eficazes, principalmente, na fase aguda da doença, o que dificulta o tratamento terapêutico, pois a maioria das pessoas não apresenta sintomas nessa fase (DNDi, 2021).

A principal forma de transmissão do agente etiológico da DC para seres humanos e outros mamíferos (que funcionam como reservatórios naturais) ocorre pelos triatomíneos (DNDi, 2021; WHO, 2021), o que levou a OMS a ressaltar que o controle de vetores é a principal medida para diminuir a incidência da doença (WHO, 2021). Esses insetos hematófagos tem o hábito de defecar/urinar durante ou após o repasto sanguíneo e, caso estejam infectados com o *T. cruzi*, liberam o parasito nas fezes/urina (WHO, 2021).

Atualmente, a subfamília Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) é composta de 157 espécies, sendo todas consideradas como potenciais vetoras da DC (ALEVI et al., 2020; DALE; JUSTI; GALVÃO, 2021; ZHAO; GALVÃO; CAI, 2021). Abad-Franch e Monteiro (2005) destacam a necessidade da correta identificação desses vetores, uma vez que atividades de investigações ecoepidemiológicas, bem como planejamentos e monitoramentos de intervenções de controle, dependem de identificações taxonômicas precisas.

Entre os diversos estudos morfológicos que contribuíram para a taxonomia desses vetores, a caracterização dos ovos merece destaque, pois permitiu que diversas chaves de identificação fossem desenvolvidas (USINGER, 1944; ABALOS; WYGODZINSKY, 1951; CARCAVALLO; TONN, 1976; BARATA, 1981; ROCHA et al., 2009; SANTOS, 2009). Diante do exposto, revisamos a literatura e agrupamos todas as chaves dicotômicas que utilizaram caracteres relacionados aos ovos dos triatomíneos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. BREVE HISTÓRICO DO ESTUDO TAXONÔMICO DOS OVOS DE TRIATOMINAE

Os triatomíneos são insetos hematófagos que apresentam desenvolvimento hemimetábolo, cujo ciclo de vida, de ovo um adulto, passa por cinco estádios ninfais (LAZZARI, 2014). Os ovos desses vetores apresentam diversas estruturas, como achatamento lateral, borda corial da casca, borda opercular, colo, opérculo, chanfradura longitudinal, pescoço, colarinho, goteira espermática, orifício externo das micrópilas e das aerópilas, faixa de vedação, linha de eclosão, linhas limitantes, cório, endocório e exocório (BARATA et al., 1981), sendo muitas dessas características utilizadas em estudos taxonômicos (USINGER, 1944; ABALOS; WYGODZINSKY, 1951; CARCAVALLO; TONN, 1976; BARATA, 1981; ROCHA et al., 2009; SANTOS, 2009).

A primeira menção de características de ovos de triatomíneos na literatura (tamanho e coloração) foi realizada por Brumpt (1913), quando descreveu a biologia de *Rhodnius prolixus* Stål, 1859. No entanto, Pinto (1924), ao analisar a morfologia e a coloração dos ovos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, foi quem demonstrou, pela primeira vez, que essas características do ovo podem auxiliar na diagnose dos triatomíneos. Posteriormente, Galliard (1935) caracterizou tanto os aspectos macroscópicos, como os exocoriais, e demonstrou que a arquitetura da superfície externa também pode ser utilizada para diferenciar espécies de triatomíneos.

Na sequência, Usinger (1944) propôs a primeira chave dicotômica a partir de caracteres morfológicos e morfométricos dos ovos de triatomíneos dos gêneros *Rhodnius* Stål, 1859, *Triatoma* Laporte, 1832 e *Paratriatoma* Barber, 1938. Por sua vez, Abalos e Wygodzinsky (1951) também desenvolveram uma chave dicotômica para triatomíneos (no caso, para as espécies da Argentina) a partir de caracteres dos ovos. No entanto, além dos caracteres utilizados por Usinger (1944), os autores incluíram, pela primeira vez, as estruturas do cório (exocório).

Todas as descobertas listadas acima foram analisadas em Microscópio Estereoscópio (ME) e Microscópio de Luz (ML). Apenas em 1958, a caracterização da superfície dos ovos foi detalhada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (BARTH; MUTH, 1958). Além dos estudos em MEV, esses autores também realizaram, pela primeira vez, estudos histológicos nos ovos dos triatomíneos. A partir dessas análises, Barth e Muth (1958)

sugeriram que a superfície do cório permitiu classificar espécies de triatomíneos do Brasil com importância vetorial, a saber, *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), *T. infestans* (Klug, 1834), *T. sordida* (Stål, 1859), *T. brasiliensis*, *T. vitticeps* (Stål, 1859), *R. prolixus* e *R. neglectus* Lent, 1954.

Embora os primeiros estudos histológicos nos ovos dos triatomíneos foram realizados por Barth e Muth (1958), foi Barata (1981) quem utilizou, pela primeira vez, esses caracteres (que foram combinados com outras análises em ML) em uma chave dicotômica desenvolvida para a identificação de espécies do gênero *Rhodnius*. Além disso, Barata (1981) também desenvolveu uma chave para *Rhodnius* spp. utilizando apenas caracteres do exocório observados em MEV. Somente após 50 anos dos estudos de Barth e Muth (1958), Páez-Colasante e Aldana (2008) aplicaram, pela primeira vez, a morfometria geométrica no estudo dos ovos de Triatominae.

2.2. CHAVES DICOTÔMICAS DESENVOLVIDAS A PARTIR DO ESTUDO DOS OVOS

2.2.1. Chave desenvolvida por Usinger (1944)

2.2.1.1. Chave desenvolvida por Usinger (1944) para classificação de 12 espécies do gênero *Triatoma*, *Rhodnius* e *Paratriatoma*

1. Ovo com colar curto, mas nitidamente contraído; cada reticulação corial com uma abertura mediana em uma pequena cavidade.....***R. prolixus***
Gradualidade do ovo arredondado ou afilando até a borda do opérculo, não agudamente contraído em um colar; reticulações coriais sem cavidades.....**2**
2. Ovos ovais, com a largura quase atingindo o tamanho do comprimento; cório bastante fino e transparente, com superfície plana e brilhante, sem espinhos ou outras características especiais.....**3**
Ovos alongados-ovalados, com a largura menor ou com metade do tamanho do comprimento; cório variável.....**5**
3. Ovos com a largura um pouco maior que o comprimento.....***T. rubida***
Ovos com a largura representando dois terços do comprimento.....**4**

4. Tamanho grande, mais de 2 mm de comprimento.....***T. phyllosoma* e *T. recurva***
Tamanho pequeno, menos de 2 mm de comprimento.....***T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri* e *T. sanguisuga***
5. Superfície brilhante; reticulação do córion bastante plana, sem espinhos.....***T. protracta* (ovo liso) e *T. barberi***
Superfície opaca, com reticulações convexas.....6
6. Reticulações coriais com espinhos curtos nos ângulos.....***T. protracta* (ovo áspero)**
Reticulações coriais sem espinhos.....7
7. Ovos com, aproximadamente, o dobro do comprimento; reticulações coriais pequenas, fortemente convexas, em forma de cúpula; opérculo com pequenas reticulações em forma de cúpula.....***T. leticularia***
Ovos com o dobro do comprimento; reticulações coriais maiores e moderadamente elevadas; opérculo com elevações maiores em forma de tubérculo.....***P. hirsuta***

2.2.2. Chave desenvolvida por Abalos e Wygodzinsky (1951)

2.2.2.1. Chave desenvolvida por Abalos e Wygodzinsky (1951) para classificação de espécies de triatomíneos da Argentina

1. Cório e opérculo sem células, apenas com pequenas perfurações; corpo principal do ovo com constrição subapical; opérculo quase plano.....***P. coreodes***
Cório e opérculo com estrutura celular; corpo principal do ovo sem constrição subapical; opérculo mais convexo.....2
2. Interior das células do cório sem qualquer estrutura particular.....3
Interior das células do cório com pontilhado, espinhos ou uma cavidade central longe dos limites da célula.....7
3. Limites das células do cório muito delicados; opérculo sem espinhos.....4
Limites das células do cório mais espessos; opérculo com espinhos.....6

4. Limites das células do opérculo de largura uniforme.....5
Limites das células do opérculo um pouco mais espessos em suas interseções.....***P. megistus***
5. Limites das células do opérculo muito delicados.....***T. eratyrusiformis***
Limites das células do opérculo um pouco mais fortes.....***T. rubrofasciata***
6. Opérculo com cavidades centrais conspícuas; células do opérculo uniformes.....***T. platensis***
Opérculo sem cavidades centrais conspícuas; opérculo com células simples e outras globulares, elevadas.....***T. delpontei***
7. Interior das células do cório e do opérculo com uma cavidade conspícua.....***T. infestans***
Interior das células do cório e do opérculo com estruturas diferentes.....8
- 8 Limites das células do cório visíveis em grande aumento.....9
Limites das células do cório imperceptíveis com grande aumento; cório com pontilhado irregular.....***T. guasayana* e *T. patagonica***
- 9 Limites das células do cório formados por linhas inteiras; interior das células com estruturas em favo de mel.....***T. sordida***
Limites da célula cório formados por linhas pontilhadas; interior das células pontilhado.....***T. rubrovaria***

2.2.3. Chave desenvolvida por Carcavallo e Tonn (1976)

2.2.3.1. Chave desenvolvida por Carcavallo e Tonn (1976) para classificação de triatomíneos, com ênfase em gêneros

1. Opérculo rodeado de uma coroa.....**Physoderinae (*Chryptophysoderes* sp.)**
Opérculo sem coroa periférica convexo.....**Triatominae (2)**

2. Ovo de forma cilíndrica.....	<i>P. arthuri</i>
Ovo de forma ovoide.....	3
3. Ovos presos à superfície de oviposição, agrupados.....	<i>Rhodnius</i>
Ovos não aderidos e não agrupados.....	4
4. Ovos muito pequenos, menor que 1,5 mm.....	<i>Belminus</i>
Ovos maiores que 2 mm.....	5
5. Escultura de cório com estrias longitudinais.....	<i>C. pilosa</i>
Escultura de cório com desenho irregular.....	6
6. Escultura do cório pouco visível mesmo com grande aumento; superfície polida e brilhante.....	<i>Panstrongylus</i>
Escultura de padrão hexagonal irregular do cório visível em pequeno aumento; superfície sem brilho.....	<i>Triatoma e Eratyrus</i>

2.2.4. Chaves desenvolvidas por Barata (1981)

2.2.4.1. Chave desenvolvida por Barata (1981) para classificação de 10 espécies do gênero *Rhodnius*, baseada em características das cascas e opérculos visualizadas em ML

1. Ovos com cascas de tonalidade branca ou esbranquiçada.....	2
Ovos com cascas de tonalidade castanha.....	8
2. Ovos com colarinho.....	3
Ovos sem colarinho.....	5
3. Opérculo castanho-escuro; linhas limitantes (LL) lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes.....	4
Opérculo castanho-pálido; LL pouco evidentes, rugosas, largas, irregulares e sem refringência; granulações grandes, abundantes e revestindo uniformemente o tegumento, inclusive as LL.....	<i>R. neivai</i>

4. Funis muito rasos, com bordas arredondadas, em corte histológico, sem nenhuma evidência de demarcação das LL; LLs pouco evidenciáveis e não salientes; granulações irregulares com predomínio de grandes e distribuição também irregular sobre o tegumento.....***R. nasutus***
 Funis com bordas levemente pontiagudas em corte histológico, com fraca evidência de demarcação das LL; LLs frequentemente evidenciáveis, lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes; granulações pequenas com distribuição uniforme sobre o tegumento.....***R. neglectus***

5. Funis profundos, com aspecto característico de favos de mel; LLs refringentes e de fácil visualização; granulações de fácil observação, frequentemente grandes, abundantes e mais concentradas na área das LLs.....**6**
 Funis rasos, sem o aspecto nítido de favos de mel; LLs pouco refringentes e, conseqüentemente, de difícil visualização; granulações de difícil observação, pequenas ou irregulares; ovos alongados e colo aparentemente estreito.....**7**

6. Funis com bordas pontiagudas e culminadas por proeminência do traçado das LLs; tubos foliculares frequentemente curtos, com largura irregular, retilíneos ou encurvados e com dilatação apical; ovos alongados e com colo aparentemente normal.....***R. prolixus***
 Funis com bordas arredondadas e lisas, isto é, sem proeminência do traçado das LLs; tubos foliculares longos e finos, com discretas encurvaturas e dilatação apical; ovos atarracados e com colo aparentemente largo.....***R. robustus***

7. Bordas dos funis, em corte histológico, arredondadas, culminadas por pequenas proeminências biseladas relativas aos traçados das LLs; granulações irregulares e com distribuição também irregular; tubos foliculares, em corte, longos e com acentuada dilatação apicais.....***R. domesticus***
 Bordas dos funis, em corte histológico, arredondadas, culminadas por largas proeminências abauladas relativas ao traçado das LLs; granulações pequenas, esparsas e frequentemente mais concentradas na área das LLs; tubos foliculares, em corte, curtos, largos e com discreta dilatação apical ***R. ecuadoriensis* (ovos "albinos")**

8. Ovos com cascas mais fortemente pigmentadas nas áreas do opérculo, do colarinho e/ou da chanfradura longitudinal.....9
 Ovos com cascas com coloração homogênea nessas áreas.....10
9. Ovos castanho-pálido e com leve brilho dourado; ausência de colarinho e de chanfradura longitudinal; opérculo e anel situado na área do colarinho com pigmentação em castanho mais escuro.....***R. ecuadoriensis***
 Ovos castanho-bronzeado; presença de colarinho, embora com expansões discretas; opérculo, colarinho e chanfradura longitudinal com pigmentação castanho-escuro.....***R. pallescens***
- 10 Ovos com colarinho.....11
 Ovos sem colarinho, castanho-bronzeado, com leve brilho áureo e colo estreito; exocório com aspecto uniforme e limpo, mesmo quando observado através de ME; LLs de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....***R. pictipes***
11. Ovos castanhos, muito pálidos e com discreto brilho bronzeado; colarinho com expansões discretas; ovos alongados e de conformação bem definida; exocório com aspecto uniforme e "limpo", mesmo quando observado através de ME; LLs de difícil visualização, estreitas, lisas, retilíneas e sem refringência, quando visíveis.....***R. pallescens* (ovos "albinos")**
 Ovos castanhos, com coloração mais forte e sem brilho; colarinho com expansões acentuadas, praticamente encobrindo o colo; ovos atarracados e de conformação mal definida; exocório com aspecto irregular e "sujo", mesmo quando observado através de ME; LLs de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....***R. paraensis***

2.2.4.2. Chave desenvolvida por Barata (1981) para classificação de 10 espécies do gênero *Rhodnius*, baseada em características exocoriais e da casca visualizadas em MEV

1. Ovos com colarinho.....2
 Ovos sem colarinho.....6

2. Ausência de chanfradura longitudinal; colarinho com expansões evidentes.....3
 Presença de chanfradura longitudinal; colarinho com expansões discretas; LLs ausentes ou com traçado delineado por ausência de granulações; granulações pequenas, com distribuição abundante e uniforme ou escassa e irregular; presença frequente de esferas situadas no fundo dos funis.....***R. pallescens***

- 3 Granulações com distribuição regular ou irregular, porém quando aglutinadas não formando desenhos "mapeiformes".....4
 Granulações com distribuição muito característica, aglutinadas formando desenhos "mapeiformes"; LLs muito evidentes, proeminentes, largas, lisas e retilíneas.....***R. paraensis***

4. Funis mais ou menos profundos, com aspecto característico de favos de mel.....5
 Funis rasos, sem o aspecto característico de favos de mel; LLs ausentes, com traçado delineado pela concentração de granulações ou pela ausência dessas formações; granulações de tamanho e distribuição irregular, frequentemente formando aglomerados.....***R. nasutus***

5. LLs presentes ou ausentes; quando presentes, são estreitas, retilíneas, fracamente salientes, levemente rugosas, evidenciáveis pela ausência de granulações; granulações pequenas, abundantes, esféricas, com distribuição uniforme.....***R. neglectus***
 LLs pouco evidenciáveis, delineadas pela concentração de granulações; granulações grandes, abundantes, com distribuição uniforme, embora sejam mais escassas no fundo dos funis e, com frequência, podem formar pequenos aglomerados, particularmente sobre as LLs.....***R. neivai***

6. Granulações com distribuição regular ou irregular, porém quando aglutinadas não formando desenhos "mapeiformes".....7
 Granulações com distribuição muito característica, pois aglutinadas formando desenhos "mapeiformes"; LLs muito evidentes, proeminentes, largas, lisas e retilíneas.....***R. pictipes***

7. LLs com delimitação pouco ou muito evidente.....8
 LLs sem delimitação evidente, com área suavemente proeminente, sendo, aparentemente, largas, retilíneas e levemente rugosas; granulações pequenas, esparsas, raramente aglutinadas e frequentemente mais distribuídas em torno das LLs.....***R. ecuadoriensis***

8. Granulações grandes, irregulares, abundantes, com maior concentração em torno das LLs; LLs evidentes, proeminentes, largas, frequentemente rugosas e retilíneas.....***R. proluxus e R. robustus***
 Granulações irregulares quanto a tamanho, forma e distribuição, frequentemente esparsas, recobrindo ou não as LLs, sem, contudo, lhes conferir aspecto rugoso; LLs pouco evidentes, embora proeminentes, estreitas, lisas e retilíneas.....***R. domesticus***

2.2.5. Chaves desenvolvidas por Santos et al. (2009)

2.2.5.1. Chave desenvolvida por Santos (2009) para classificação de 13 espécies do gênero *Rhodnius*, baseada em características do exocório visualizadas em ML.

1. Ovos com cascas de tonalidade branca ou esbranquiçada.....2
 Ovos com cascas de tonalidade castanha.....10

2. Ovos com colarinho.....3
 Ovos sem colarinho.....6

3. Opérculo castanho escuro; LLs lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes.....4
 Opérculo castanho-pálido; LLs pouco evidentes, rugosas, largas, irregulares e sem refringência; granulações grandes, abundantes e revestindo uniformemente o tegumento, inclusive as LLs.....5

4. Funis muito rasos com bordas arredondadas, em corte histológico, sem nenhuma evidência de demarcação das LLs; LLs debilmente evidenciáveis e não salientes;

- granulações irregulares, predominantemente grandes e com distribuição também irregular sobre o tegumento.....***R. nasutus***
- Funis com bordas levemente pontiagudas, em corte histológico, com fraca evidência de demarcação das LLs; LLs frequentemente evidenciáveis, lisas, estreitas, retilíneas e pouco refringentes; granulações pequenas com distribuição uniforme sobre o tegumento.....***R. neglectus***
5. Ovos atarracados; colo curto e largo; colarinho com expansões que encobrem o colo.....***R. milesi***
- Ovos alongados; colo longo e estreito.....***R. neivai***
6. Funis profundos, com aspecto característico de favos de mel; LL refringentes e de fácil visualização; granulações de fácil observação, frequentemente grandes, abundantes e mais concentradas na área das LLs.....**8**
- Funis rasos, sem o aspecto nítido de favos de mel; LLs pouco refringentes e consequentemente de difícil visualização; granulações de difícil observação, pequenas ou irregulares; ovos alongados e colo aparentemente estreito.....**9**
7. Funis com bordas pontiagudas e culminadas por proeminência do traçado das LLs; tubos foliculares frequentemente curtos, com largura irregular, retilíneos ou encurvados e com dilatação apical; ovos alongados e com colo aparentemente normal.....***R. prolixus***
- Funis com bordas arredondadas e lisas, isto é, sem proeminência do traçado das LLs; tubos foliculares longos e finos com discretas curvaturas e dilatação apical; ovos atarracados e com colo aparentemente largo.....***R. robustus***
8. Bordas dos funis arredondadas, em corte histológico, culminadas por pequenas proeminências biseladas relativas aos traçados das LLs; granulações irregulares e com distribuição também irregular; tubos foliculares em corte, longos e com acentuada dilatação apical.....***R. domesticus***
- Bordas dos funis arredondadas, em corte histológico, culminadas por largas proeminências abauladas relativas ao traçado das LLs; granulações pequenas,

esparsas e frequentemente mais concentradas na área das LLs; tubos foliculares, curtos, largos e com discreta dilatação apical.....**R. ecuadoriensis (ovos “albinos”)**

9. Ovos com cascas mais fortemente pigmentadas nas áreas do opérculo, do colarinho e/ou da chanfradura longitudinal.....**10**
Ovos com cascas com coloração homogênea nessas áreas.....**11**
10. Ovos com leve brilho dourado; ausência de colarinho e de chanfradura longitudinal; opérculo e anel situado na área do colarinho com pigmentação em castanho mais escuro.....**12**
Presença de colarinho, embora com expansões discretas; opérculo, colarinho e chanfradura longitudinal com pigmentação castanho escura.....**R. pallescens**
11. Ovos com colarinho.....**13**
Ovos sem colarinho, colo estreito; exocório com aspecto uniforme e limpo, mesmo quando observado através de ME; LLs de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....**14**
12. Ovos castanho-amarelado; borda corial sem anel de pigmentação mais escura.....**R. colombiensis**
Ovos castanho-pálido; borda corial com um anel de pigmentação mais escura.....**R. ecuadoriensis**
13. Ovos castanhos, muito pálidos, e discreto brilho bronzeado; colarinho com expansões discretas; ovos alongados e de conformação bem definida; exocório com aspecto uniforme e “limpo”, mesmo quando observado na lupa; LLs de difícil visualização, estreitas, lisas, retilíneas e sem refringência, quando visíveis**R. pallescens (ovos “albinos”)**
Ovos castanho-escuro e sem brilho; colarinho com expansões acentuadas, praticamente encobrindo o colo; ovos atarracados e de conformação mal definida.; exocório com aspecto irregular e “sujo”, mesmo quando observado no ME; LLs de fácil visualização, largas, lisas, retilíneas e muito refringentes.....**R. paraensis**

14. Ovos castanho-bronzeado, com discreto brilho áureo; acentuada inclinação do opérculo em relação ao achatamento lateral.....***R. pictipes***
 Ovos castanho-dourado; cascas com as laterais mais arredondadas ou ovos mais abaulados; discreta inclinação em relação ao achatamento lateral.....***R. stali***

2.2.5.2. Chave desenvolvida por Santos (2009) para classificação de 13 espécies do gênero *Rhodnius*, baseada em características do exocório visualizadas em MEV.

1. Ovos com colarinho.....**2**
 Ovos sem colarinho.....**6**

2. Ausência de chanfradura longitudinal; colarinho com expansões evidentes.....**3**
 Presença de chanfradura longitudinal; colarinho com expansões discretas; LLs ausentes ou com traçado delineado por ausência de granulações; granulações pequenas, com distribuição abundante e uniforme ou escassa e irregular; presença frequente de esferas situadas no fundo dos funis.....***R. pallescens***

3. Granulações com distribuição regular ou irregularmente no tegumento.....**4**
 Granulações que formam desenhos semelhantes a mapas quando aglutinados; LL fácil de ver, proeminente, larga, lisa e reta.....***R. paraensis***

4. Funis não muito profundos, com aspecto característico de favo de mel.....**5**
 Funis rasos, sem o aspecto característico de favos de mel; Ausência de LLs, com traçado delineado pela concentração ou falta de granulações; granulações irregulares, frequentemente formando aglomerados.....***R. nasutus***

5. LL difícil de ver, projetado pela concentração de granulações; granulações grandes, abundantes, distribuídas regularmente no tegumento, mal distribuída nos funis, frequentemente formando aglomerados, incluindo no LL.....**6**
 LLs presentes ou ausentes; quando presentes, são estreitas, retilíneas, fracamente salientes, levemente rugosas, evidenciáveis pela ausência de granulações;

- granulações pequenas, abundantes, com distribuição uniforme no tegumento.....***R. neglectus***
6. Colar com expansões que não cobrem o pescoço.....***R. neivai***
 Colar com expansões que cobrem o pescoço.....***R. milesi***
7. Granulações de fácil visualização.....8
 Granulações de difícil visualização.....***R. stali***
8. Granulações com distribuição regular ou irregular, não formando padrões em forma de mapas quando aglutinadas.....9
 Granulações com distribuição muito característica, formando padrões em forma de mapas quando aglutinadas; LLs muito evidentes, proeminentes, largas, lisas e retilíneas.....***R. pictipes***
9. LL sem evidência de demarcação e pouco proeminente; granulações minúsculas e raramente aglutinadas.....10
 LLs dificilmente evidente ou fácil de ver.....11
10. LLs sem evidências.....***R. colombiensis***
 LLs largo reto e enrugado; granulações pequenas e esparsas, frequentemente mais distribuídas em torno das LLs.....***R. ecuadoriensis***
11. Granulações irregulares, grandes e abundantes, mais concentradas ao redor do LL; LL fácil de ver, proeminente, largas, frequentemente enrugado e reto.....***R. prolixus e R. robustus***
 Granulações irregulares com distribuição irregular, frequentemente esparsas, recobrindo ou não o LL; LL com demarcação tênue, proeminente, estreito, liso e reto.....***R. domesticus***

2.2.6. Chave desenvolvida por Rocha et al. (2009)

2.2.6.1. Chave desenvolvida por Rocha et al. (2009) para classificação de quatro espécies do antigo complexo *T. oliveirai* [atualmente as espécies estão agrupadas nos subcomplexos *matogrossensis* e *rubrovaria* (JUSTI; GALVÃO, 2017)]

1. Cório com células pentagonais, hexagonais e poucas heptagonais.....***T. baratai***
Cório sem células heptagonais.....**2**
2. Cório com células pentagonais, hexagonais e quadrangulares.....***T. oliveirai***
Cório só com células pentagonais e hexagonais.....**3**
3. Cório com pequenas ranhuras, sem pontos.....***T. jurbergi***
Cório sem pequenas ranhuras, com pontos.....***T. guazu***

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados apresentados, fica evidente a importância das chaves de identificação com dados dos ovos para a correta identificação dos vetores da DC, com ênfase no gênero *Rhodnius* [grupo de espécies que apresentam eventos (como especiação críptica e plasticidade fenotípica) que dificultam a identificação (ABAD-FRANCH et al., 2013). Além disso, ressalta-se a necessidade de caracterizar os ovos de novas espécies de triatomíneos e, principalmente, utilizar essas informações para desenvolver novas chaves dicotômicas.

4. REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH F.; MONTEIRO F. Molecular research and the control of Chagas disease vectors. An. **Acad Bras Ciênc**, v. 77, p. 437-454, 2005.
- ABAD-FRANCH, F.; PAVAN, M.G.; JARAMILLO-O, N.; PALOMEQUE, F.S.; DALE, C.; CHAVERRA, D.; et al. *Rhodnius barretti*, a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. **Mem Inst Osw Cruz**, v. 108, p. 92-99, 2013.

ABALOS, J.W.; WYGODZINSKY, P. Las Triatominae Argentinas. **Anales del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional de Tucumán**, v. 2, p. 1-179, 1951.

ALEVI, K.C.C.; OLIVEIRA, J.; GARCIA, A.C.C.; CRISTAL, D.C.; DELGADO, L.M.G.; BITTINELLI, I.F.; et al. *Triatoma rosai* sp. nov. (Hemiptera, Triatominae): A new species of Argentinian Chagas disease vector described based on integrative taxonomy. **Insects**, v. 11, p. 830, 2021.

BARATA, J.M.S. Aspectos morfológicos de ovos de Triatominae II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae). **Rev Saúde Publ**, v. 15, p. 490-542, 1981.

BARTH, R.; MUTH, H. Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). VIII parte: Observações sobre a superfície de ovos das espécies mais importantes, **Mem Inst Osw Cruz**, v. 56, p.197-208, 1958.

BRUMPT, E. **Précis de parasitologie**. Masson, 1913.

CARCAVALLO, R.; TONN, R.J. Clave grafica de Reduviidae (Hemiptera) hematofagos de Venezuela. **Bol Direcc Malar Saneam Amb**, v. 16, p. 244-65, 1976.

DALE, C.; JUSTI, S.A.; GALVÃO, C. *Belminus santosmalletae* (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae): New Species from Panama, with an Updated Key for *Belminus* Stål, 1859 Species. **Insects**, v. 12, p. 686, 2021.

DNDI. **Drugs for Neglected Diseases Initiative América Latina**. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>. Acesso em 20/08/2021.

GALLIARD, H. **Recherches morphologiques et biologiques pur la reproduction de Reduvides hématophages (*Rhodnius* et *Triatoma*)**. (Thèse) Faculté dès Sciences de l'Université de Paris, Paris, 1935.

JUSTI, S.A.; GALVÃO, C. The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. **Trends Parasit**. v. 33, p. 42-52, 2017.

LAZZARI, C.R. **Biologia e Comportamento**. In: GALVÃO, C. Vetores da doença de Chagas no Brasil, 2014.

PÁEZ-COLASANTE, X.; ALDANA, E. Morfometría geométrica del borde corial y del collar de huevos de cinco especies del género *Rhodnius* Stal (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). **EntomoBrasilis**, v. 1, p. 57-61, 2008.

PINTO, C. Biologia do *Triatoma brasiliensis* Neiva, **Sci Med**, v. 2, p. 541-543, 1924.

ROCHA, D.S.; JURBERG, J.; DA ROSA, J.A.; SCHAEFER, C.W.; GALVÃO, C. Description of eggs and nymphal instars of *Triatoma baratai* Carcavallo & Jurberg, 2000 based on optical an scanning electron microscopy (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Zootaxa**, v. 2064, p. 1-20, 2009.

ROCHA, D.S; SANTOS, C.M. **Morfologia dos ovos e ninfas**. In: GALVÃO, C. Vetores da doença de Chagas no Brasil, 2014.

SANTOS, C.M.; JURBERG, J; GALVÃO, C; ROSA, J.A.; JÚNIOR, W.C.; BARATA, J.M.S; et al. Comparative descriptions of eggs from three species of *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Mem Inst Osw Cruz**, v. 104, p. 1012-1018, 2009.

USINGER, R.L. The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance. **Publ Hlth Bull**, v. 288, p. 1-83, 1944.

WHO. **Chagas disease**. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em 17/08/2021.

ZHAO, Y.; GALVÃO, C.; CAI, W. *Rhodnius micki*, a new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. **ZooKeys**, v. 1012, p. 71-93, 2021.

4. CONCLUSÕES GERAIS

As análises estruturais do exocório dos ovos de *Rhodnius* spp., *Triatoma* spp., *Psammolestes* spp. e seus híbridos demonstraram que o padrão de segregação pode ocorrer de diferentes formas (“exclusivamente paterna”, “predominantemente materna”, “predominantemente paterna”, “mútua” e “diferencial”), refutando a hipótese de herança materna. Esses resultados destacam a importância de ferramentas alternativas/combinadas (como a taxonomia integrativa) para a correta identificação desses insetos vetores (principalmente diante dos possíveis eventos de hibridação natural que poderão ocorrer devido às alterações climáticas e ambientais).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEVI, K.C.C.; DE OLIVEIRA, J.; ROCHA, D.S.; GALVÃO, C. Trends in taxonomy of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): from Linnaean to integrative taxonomy. *Pathogens*, v. 10, p. 1627, 2021.

ALEVI, K.C.C.; PINOTTI, H.; DE ARAÚJO, R.F.; DE AZEREDO OLIVEIRA, M.T.V.; DA ROSA, J.A.; MENDONÇA, V.J. Hybrid collapse confirms the specific status of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera, Triatominae), an endemic species in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 98, p. 475–477, 2018.

ALMEIDA, C.E.; OLIVEIRA, H.L.; CORREIA, N.; DORNAK, L.L.; GUMIEL, M.; NEIVA, V.L.; HARRY, M.; MENDONÇA, V.J.; COSTA, J.; GALVÃO, C. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. *Acta Tropica*, v. 122, p. 71–79, 2012.

BARATA, J.M.S. Aspectos morfométricos de ovos de Triatominae. II - Características macroscópicas e exocoriais de dez espécies do gênero *Rhodnius* Stal, 1856 (Hemiptera - Reduviidae). Rev Saude Publ., v. 15, p. 490-542, 1981.

BRUMPT, E. Précis de parasitologie. Masson, 1913.

CAMPOS-SOTO, R.; PANZERA, F.; PITA, S; LAGES, C.; SOLARI, A.; BOTTO-MAHAN. Experimental crosses between *Mepraia gajardoi* and *M. spinolai* and hybrid chromosome analyses reveal the occurrence of several isolation mechanisms. Infection, Genetics and Evolution ,v. 45 p. 205-212, 2016.

CHAGAS, C. Nova tripanozomiaze humana. Estudo sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotripanum cruzi* n. gen. sp, agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 1, p. 159–218, 1909.

CORREIA, N.; ALMEIDA, C.E.; LIMA-NEIVA, V.; GUMIEL, M.; LIMA, M.M.; MEDEIROS, L.M.O.; MENDONÇA, V.J.; ROSA, J.A.; COSTA, J. Crossing experiments confirm *T. sherlocki* as a member of the *Triatoma brasiliensis* species complex. Acta Tropica, v. 128, p.162-167, 2013.

DOBZHANSKY, T. Genetics of the Evolutionary Process. Columbia University Press, New York, 1970.

DORN, P.L.; JUSTI, S.A.; DALE, C.; STEVENS, L.; GALVÃO, C.; CORDON, R.L.; MONROY, C. Description of *Triatoma mopan* sp. n. (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from a cave in Belize. Zookeys, v. 775 p. 69-95, 2018.

ESPÍNOLA, H.N. Reproductive isolation between *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 and *Triatoma petrochii* Pinto & Barretto, 1925 (Hemiptera Reduviidae). *Revista Brasileira de Bioliologia*, v. 31, p. 277-281, 1971.

FRIAS, D.; ÁTRIA, J. Chromosomal variation, macroevolution and possible parapatric speciation in *Mepraia spinolai* (Porter) (Hemiptera: Reduviidae). *Genetics and Molecular Biology*, v. 21, p. 179-184, 1998.

GALLIARD, H. Recherches morphologiques et biologiques pur la reproduction de Reduvides hématophages (Rhodnius et Triatoma). Thèse. Faculté dès Sciences de l'Université de Paris. 160 pp., 1935.

GALVÃO, C., 2014. Vetores da doença de Chagas no Brasil. Curitiba, Brasil: Sociedade Brasileira de Zoologia.

GIL-SANTANA, H.R.; CHAVEZ, T.; PITA, S.; PANZERA, F.; GALVÃO, C. *Panstrongylus noireau*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *ZooKeys*, v. 1104, p. 203-225, 2022.

LIMA-CORDÓN, R.A.; MONROY, M.C.; STEVENS, L.; RODAS, A.; RODAS, G.A.; DORNI, P.L.; JUSTI, S.A. Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Zookeys*, v. 820: p. 51-70, 2019.

MAYR, E. *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, 1963.

MENDONÇA, V.J.; ALEVI, K.C.C.; MEDEIROS, L.M.O.; NASCIMENTO, J.D.; AZEREDOOLIVEIRA, M.T.V.; ROSA, J.A. 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, v. 26, p. 123-131, 2014.

MENDONÇA, V.J.; ALEVI, K.C.C.; PINOTTI, H.; GURGEL-GONGALVES, R.; PITA, S.; GUERRA, A.L.; PANZERA, F.; ARAÚJO, R.F.; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V.; ROSA, J.A. Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. Zootaxa, v. 4107, p. 239-254, 2016.

NASCIMENTO, J.D.; DA ROSA, J.A.; SALGADO-ROA, F.C.; HERNÁNDEZ, C.; PARDODIAZ, C.; ALEVI, K.C.C., et al. Taxonomical over splitting in *the Rhodnius prolixus* (Insecta: Hemiptera: Reduviidae) clade: Are *R. taquarussuensis* (da Rosa et al., 2017) and *R. neglectus* (Lent, 1954) the same species? PLoS ONE, v. 14, p. e0211285, 2019.

NEVES, J.M.S.; SOUSA, P.S.S.; OLIVEIRA, J.; RAVAZI, A.; MADEIRA, F.F.; REIS, Y. V.; OLIVEIRA, A.B.B.; PINOTTI, H.; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V.; ROSA, J. A.; ALEVI, K.C.C. Prezygotic Isolation Confirms the Exclusion of *Triatoma melanocephala*, *T. vitticeps* and *T. tibiamaculata* of the *T. brasiliensis* Subcomplex (Hemiptera, Triatominae). Infect Genet Evol., v. 79, p. 104149, 2020.

OLIVEIRA CORREIA, J.P.S.; GIL-SANTANA, H.R.; DALE, C.; GALVÃO, C. *Triatoma guazu* Lent and Wygodzinsky is a junior synonym of *Triatoma williamsi* Galvão. Souza Lima Insects, v. 13, 591, 2022.

OLIVEIRA-CORREIA JPS, DE OLIVEIRA J, GIL-SANTANA HR, DA SILVA ROCHA D, GALVÃO C. Taxonomic reassessment of *Rhodnius zeledoni* Jurberg, Rocha

& Galvão: a morphological and morphometric analysis comparing its taxonomic relationship with *Rhodnius domesticus* Neiva & Pinto. BMC Zool, v. 9, p. 6, 2024.

OLIVEIRA, J.; AYALA, J.M.; JUSTI, S.A.; ROSA, J.A.; GALVÃO, C. 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, v.43, p. 148-157, 2018.

PINTO, C. Biologia do *Triatoma brasiliensis* Neiva, Scientia Medica, v. 2, p. 541-543, 1924.

ROSA, J.A.; JUSTINO, H.H.G.; NASCIMENTO, J.D.; MENDONÇA, V.J.; ROCHA, C.S.; CARVALHO, D.B.; FALCONE, R.; AZEREDO-OLIVEIRA, M.T.V.; ALEVI, K.C.C; DE OLIVEIRA, J. A. New species of *Rhodnius* from Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Zookeys, v. 675 p. 01-25, 2017.

ROSA, J.A.; ROCHA, C.S.; GARDIM, S.; PINTO, M.C.; MENDONÇA, V.J.; FERREIRAFILHO, J.C.R.; CARVALHO, E.O.C.; CAMARGO, L.M.A.; OLIVEIRA, J.; NASCIMENTO, J.D.; CILENSE, M.; ALMEIDA, C.E. Description of *Rhodnius montenegrensis* n. sp. (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae) from the state of Rondônia, Brazil. Zootaxa, v. 3478, p. 62-76, 2012.

SOUZA, E.S.; ATZINGER, N.C.B.V.; FURTADO, M.B.; OLIVEIRA, J.; DAMIELI, J.N.; VENDRAMINI, D.P.; GARDIM, S.; ROSA, J.A. Description of *Rhodnius marabaensis* sp. N. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Pará State, Brazil. Zookeys. v. 621, p. 45-62, 2016.

TÉLLEZ-RENDÓN, J.; ESTEBAN, L.; RENGIFO-CORREA, L.; DÍAZ-ALBITER, H.; HUERTA, H.; DALE, C. *Triatoma yelapensis* sp. nov. (Hemiptera: Reduviidae) from Mexico, with a Key of *Triatoma* Species Recorded in Mexico. *Insects*, v. 14, p. 331, 2023.

USINGER, R.L.; WYGODZINSKY RYCKMAN, E.R. The Biosystematics of Triatominae. *Annual Review of Entomology*, v. 11, p. 309-329, 1966.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagasdisease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagasdisease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em 30 de janeiro de 2024.

ZHAO, Y.; GALVÃO, C.; CAI, W. *Rhodnius micki*, a new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *ZooKeys*, v. 1012, p. 71-93, 2021.