

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/02/2021.



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

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

Paulo Sergio de Sousa

**Existe barreira de isolamento reprodutivo entre as espécies
do subcomplexo *vitticeps* (Hemiptera, Triatominae)?**

Botucatu
2020

Paulo Sergio de Sousa

**Existe barreira de isolamento reprodutivo entre as espécies
do subcomplexo *vitticeps* (Hemiptera, Triatominae)?**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Sousa, Paulo Sergio de.

Existe barreira de isolamento reprodutivo entre as espécies do subcomplexo vitticeps (Hemiptera, Triatominae)? / Paulo Sergio de Sousa. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Kaio Cesar Chaboli Alevi

Coorientador: Jader de Oliveira

Capes: 20400004

1. Chagas, Doença de. 2. Hemiptera. 3. Barbeiro (Inseto). 4. Cruzamento (Genetica). 5. Reprodução animal. 6. Técnicas Reprodutivas.

Palavras-chave: Cruzamentos experimentais; Doença de Chagas; Híbridos; Triatomíneos.

Paulo Sergio de Sousa

**Existe barreira de isolamento reprodutivo entre as espécies
do subcomplexo *vitticeps* (Hemiptera, Triatominae)?**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre 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
FCFAR/UNESP
Orientador

Profa. Dra. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira
IBILCE/UNESP

Prof. Dr. Luis Lenin Vincente Pereira
UNIJALES

Botucatu
2020

Dedicatória

É com muito orgulho que dedico esse trabalho às pessoas que foram imprescindíveis em minha vida:

Agradeço ao meu pai, Paulo Brauna de Sousa, e à minha mãe, Claudinei de Seles Sousa, pela dedicação, amor, apoio, carinho e incentivo. Agradeço especialmente à minha mãe que, diante de todas as expectativas negativas sobre os meus estudos, nunca desistiu: me incentivou, me apoiou, me fez acreditar e me fez entender que apenas o estudo é capaz de transformar (para melhor) a minha realidade e a realidade dos que estão ao meu redor.

Dedico às minhas filhas, Thamires Cavallero de Sousa, Maria Paula Cavallero de Sousa e Rafaela Ferreira da Silva de Sousa; é para vocês que, todos os dias, eu tento ser uma pessoa melhor. Dedico, especialmente, à minha esposa, Jilly Gabriela Ferreira da Silva, que, com amor, esteve sempre presente nas minhas vitórias e derrotas, sendo parte essencial nessa conquista. Você é essencial na minha vida! Amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço grandemente àqueles que me conduziram à melhoria, sejam com ensinamentos, palavras ou exemplos. Sou eternamente grato por sempre estar cercado de pessoas muito melhores que eu.

Agradeço aos meus pais, Paulo Brauna de Sousa e Claudinei de Seles Sousa, que mesmo com pouca instrução, me ensinaram valores essenciais para a vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi, pela dedicação desmedida, pelo zelo, por sempre fazer a diferença na minha vida, por ser esse ser humano fantástico e único, por todos os ensinamentos, pela confiança e pela parceria.

Ao meu coorientador, Dr. Jader de Oliveira, por toda a dedicação e ensinamentos durante a realização do nosso trabalho.

Agradeço aos membros da banca, Profa. Dra. Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira e Prof. Dr. Luis Lenin Vicente Pereira, pelo incentivo, pela orientação, pelas palavras e pelo direcionamento.

Ao meu amigo, Prof. Dr. Rodrigo Castro, amigo de todas as horas, que me apresentou ao meu orientador e com isso fez com que o meu sonho se tornasse realidade.

A todos os meus professores, desde os basais, em especial àqueles que me marcaram para toda a vida, dona Zenaide, dona Carmem, professor Manoel, professora Delaine (à quem dei muito trabalho), professor Maurício, aos docentes da graduação, Pedro, Rosani, Patrícia, Cecília, Neide, Jair, Margarete, Reinaldo, Fátima, João Paulo, e pós-graduação que me proporcionaram uma sólida formação de qualidade. Guardo todos com muito carinho.

Aos meus irmãos Simone, Marco e Camila: juntos somos mais. Passamos por momentos difíceis diversas vezes, mas sempre superamos e nos apegamos aos aprendizados e aos momentos bons e felizes.

A todos os meus familiares que sempre me incentivaram, que sempre demonstraram um grande orgulho em presenciar o meu crescimento pessoal. Em especial ao meu tio Carlos que foi quem me inseriu no mercado de trabalho e sempre que possível desfrutamos de altos papos; à tia Célia que sempre me colocou no mais alto dos pedestais, me incentivou e me apoiou; aos meus primos, meus “meio irmãos”, que sempre torceram por mim.

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

Aos meus amigos de toda a vida: Edmar, Ailton, Rinaldo, Marcos Paulo, que sempre vibram e comemoram as minhas conquistas.

Aos meus amigos da graduação, em especial à turma do fundão, Camila, Thiago, Flávio.

Às minhas amigas e parceiras do trabalho, professora Ana Stela, professora Rita, professora Rosemary Frushio, vocês foram grandes parceiras e me ajudaram muito nessa empreitada, supriram minhas ausências, e fizeram com que o fardo se tornasse mais leve.

À minha esposa Jilly Gabriela, sempre me apoiando e incentivando, sempre de platéia para os meus ensaios e minhas apresentações. Você é essencial e especial.

À toda a equipe da E.E. Genaro Domarco.

À toda a equipe do laboratório de Biologia Celular (IBILCE/UNESP) e do laboratório de Parasitologia (FCFAR/UNESP), pela ajuda e dedicação, vocês foram imprescindíveis na realização deste projeto.

À Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de São José do Rio Preto (FAPERP) pelo auxílio financeiro concedido (Auxílio Pesquisa, Processo nº 002/2019).

Muito obrigado! Sem vocês, eu não teria conseguido...

“Temos de nos tornar na mudança que queremos ver.”

Mahatma Gandhi

Sumário

Resumo.....	10
Abstract.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivos gerais.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Delineamento do estudo.....	17
3.2 Análises citogenéticas.....	19
3.3 Morfologia gonadal.....	20
3.4 Morfologia externa.....	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1 Cruzamentos experimentais.....	21
4.2 Regra de Haldane.....	23
4.3 Viabilidade reprodutiva.....	24
4.3.1 Morfologia gonadal.....	24
4.3.2 Espermatogênese.....	26
4.4 Segregação das características fenotípicas.....	26
5. DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

Resumo

Triatoma melanocephala e *T. vitticeps* foram inicialmente agrupados no subcomplexo *T. brasiliensis*. Contudo, análises cariossistemáticas demonstraram que essas espécies não deveriam ter sido agrupadas com as espécies desse subcomplexo. Recentemente, *T. melanocephala* e *T. vitticeps* foram agrupadas em um novo subcomplexo intitulado *T. vitticeps*. Essas espécies são irmãs, compartilham características morfológicas e citogenéticas e, sobretudo, existem relatos de possíveis híbridos naturais ocorrendo na natureza. Como essas espécies estão isoladas reprodutivamente de todos os triatomíneos da América do Sul (pela divergência no número de cromossomos), consideramos importante realizar cruzamentos experimentais e avaliar se existem barreiras reprodutivas instaladas entre as espécies do subcomplexo *T. vitticeps*, pois acredita-se que diversos fatores, como as atuais mudanças climáticas e ambientais provocadas pelo homem, provavelmente, influenciarão no aumento da probabilidade de hibridação para as comunidades futuras, pois estão reorganizando as assembleias de espécies e derrubando as barreiras reprodutivas físicas, temporais e comportamentais, o que pode resultar em eventos de extinção, introgressão, ou, até mesmo, especiação. Assim, analisou-se se as espécies do subcomplexo *T. vitticeps* apresentam barreiras reprodutivas pré e/ou pós-zigóticas, por meio de cruzamentos experimentais e análise dos híbridos resultantes até a segunda geração (F2), com ênfase na análise da dinâmica evolutiva dos cruzamentos experimentais (cópula interespecífica, oviposição, eclosão e desenvolvimento dos híbridos), bem como na análise da viabilidade reprodutiva dos híbridos (espermatogênese e morfologia das gônadas masculinas e femininas). Os cruzamentos entre ♀ *T. vitticeps* x *T. melanocephala* ♂ não resultaram em híbridos, caracterizando, dessa forma, barreira pré-zigótica (possivelmente associada com isolamento gamético ou incompatibilidade genômica). Já os cruzamentos entre ♀ *T. melanocephala* x *T. vitticeps* ♂ produziram híbridos que, após chegar à fase adulta, foram estéreis (barreira pós-zigótica de esterilidade do híbrido) e apresentaram disgenesia gonadal bilateral (sem formação de gametas), confirmando o *status* específico de *T. vitticeps* e *T. melanocephala*, com base no conceito biológico de espécie.

Palavras-chave: Triatomíneos; Híbridos; Cruzamentos experimentais; Doença de Chagas

Abstract

Triatoma melanocephala and *T. vitticeps* were initially grouped in the *T. brasiliensis* subcomplex. However, karyosystematic analyzes showed that these species should not have been grouped with the species of this subcomplex. Recently, *T. melanocephala* and *T. vitticeps* have been grouped into a new subcomplex entitled *T. vitticeps*. These species are sisters, share morphological and cytogenetic characteristics and, above all, there are reports of possible natural hybrids occurring in nature. As these species are reproductively isolated from all triatomines in South America (due to the divergence in chromosome numbers), we consider it important to conduct experimental crosses and to evaluate if there are reproductive barriers installed between *T. vitticeps* subcomplex species, as it is believed that several factors, as the current climate and environmental changes caused by man, probably influence the increased likelihood of hybridization for future communities, as they are reorganizing the assemblies of species and breaking down the physical reproductive barriers, temporal and behavioral, which can result in events of extinction, introgression, or even speciation. Thus, we analyzed whether the species of the *T. vitticeps* subcomplex present pre and/or post-zygotic reproductive barriers through experimental crosses and analysis of the resulting hybrids until the second generation (F2), with emphasis on the evolutionary dynamics of the species. Experimental crosses (interspecific copulation, oviposition, hatching and development of hybrids), as well as the analysis of reproductive viability of hybrids (spermatogenesis and morphology of male and female gonads). Crossings between ♀ *T. vitticeps* x *T. melanocephala* ♂ did not result in hybrids characterizing prezygotic barrier (possibly associated with gametic isolation or genomic incompatibility). The crosses between ♀ *T. melanocephala* x *T. vitticeps* ♂ produced hybrids that, after reaching adulthood, were sterile (post-zygotic hybrid sterility barrier) and presented bilateral gonadal dysgenesis (without gamete formation), confirming the status of *T. vitticeps* and *T. melanocephala*, based on the biological species concept.

Keywords: Triatomines; Hybrids; Experimental crossings; Chagas disease

1. INTRODUÇÃO

Em 1907, o médico e pesquisador Carlos Ribeiro Justiniano Chagas foi encaminhado a Minas Gerais, Brasil, pelo Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz, a fim de executar a campanha antimalárica nos serviços de construção da estrada de ferro central do Brasil. Em contato com a população local, teve a informação da existência de um hematófago conhecido como barbeiro, que habitava casas de paredes não rebocadas e telhados de capim (choupanas) e atacava o homem no período noturno (CHAGAS, 1909). Ao examinar o inseto *Conorhinus megistus* Burmeister, 1835 (Hemiptera, Triatominae), atualmente conhecido como *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), verificou em suas fezes a presença de um protozoário, até então, desconhecido. Assim, o renomado pesquisador descreveu uma nova espécie de *Trypanosoma* [*Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae)], bem como toda a cadeia epidemiológica da doença, que posteriormente foi denominada “moléstia de Chagas” (CHAGAS, 1909). Desse modo, Chagas identificou, não apenas o agente etiológico, mas também o vetor, o reservatório silvestre e o primeiro registro da doença em humanos, sem contar com os recursos tecnológicos atuais (AMATO NETO e PASTERNAK, 2009).

A tripanossomíase americana, também conhecida como doença de Chagas, é uma antroponose frequente nas Américas que tem como agente etiológico o protozoário flagelado *T. cruzi* (WHO, 2018). Mesmo após 110 anos de sua descrição, essa doença é considerada uma das principais endemias da América Latina, devido ao impacto social e econômico gerado, afetando, aproximadamente, oito milhões de pessoas no continente latino-americano, sendo transmitida, principalmente, pelas fezes de insetos hematófagos pertencentes à subfamília Triatominae (Hemiptera, Heteroptera) (uma vez que esses insetos tem o hábito de defecar durante o repasto

sanguíneo e, caso estejam infectados pelo *T. cruzi*, liberam o parasito pelas fezes, ocasionando a contaminação do hospedeiro vertebrado) (WHO, 2018).

Atualmente, existem 154 espécies descritas na subfamília Triatominae, agrupadas em 19 gêneros e cinco tribos (OLIVEIRA e ALEVI, 2017; DORN et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; LIMA-CORDÓN et al., 2019; POINAR, 2019, NASCIMENTO et al., 2019). Com base, principalmente, em dados morfológicos e na disposição geográfica, os triatomíneos do gênero *Triatoma* Laporte, 1832 foram inicialmente agrupados em oito subcomplexos específicos, a saber, *T. dimidiata*, *T. phyllosoma*, *T. brasiliensis*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. matrogrossensis*, *T. rubrovaria* e *T. sordida* (SCHOFIELD e GALVÃO, 2009). No entanto, com a disponibilidade de dados genéticos das espécies, diversos subcomplexos foram reagrupados (ALEVI et al., 2012, 2014; GARDIM et al., 2014; PITA et al., 2016), pois embora esses agrupamentos de espécies não sejam reconhecidos pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICNZ, 1999), Justi et al. (2014) destacam que eles devem representar grupos naturais (grupos monofiléticos).

Triatoma melanocephala Neiva & Pinto, 1923 e *T. vitticeps* (Stål, 1859) foram inicialmente agrupados no subcomplexo *T. brasiliensis* (SCHOFIELD e GALVÃO, 2009). Contudo, análises cariotípicas demonstraram que essas espécies não deveriam ter sido agrupadas com as espécies do subcomplexo *T. brasiliensis*, pois apresentam número de cromossomos totalmente diferente (ALEVI et al., 2012). Recentemente, Alevi e colaboradores (2017), com base em dados morfológicos, citogenéticos e suporte filogenético, agruparam-nas em um novo subcomplexo intitulado *T. vitticeps*. Esse subcomplexo pode ser diferenciado de todos os subcomplexos da América do Sul (*T. brasiliensis*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. matrogrossensis*, *T. rubrovaria* e *T. sordida*) pela cariosistemática, pois enquanto *T.*

melanocephala e *T. vitticeps* apresentam $2n = 24$ cromossomos ($2n = 20 + X_1X_2X_3Y$), as outras espécies de *Triatoma* da América do Sul apresentam 22 cromossomos ($2n = 20 + XY$) (ALEVI et al., 2018).

Um recente estudo que associa dados geológicos e filogenéticos sugere que o ancestral das espécies do subcomplexo *T. vitticeps* chegou à costa do Atlântico por dispersão e se diversificou antes da elevação do norte Andino (23-10 Ma) (JUSTI et al., 2016). *T. melanocephala* e *T. vitticeps* são táxons irmãos (GARDIM et al., 2014; JUSTI et al., 2016) que compartilham características morfológicas (SHERLOCK e GUITTON, 1980) e citogenéticas (ALEVI et al., 2012, 2017). São espécies endêmicas do Brasil (GALVÃO, 2014) e existem relatos de possíveis híbridos naturais coletados na natureza (ALEVI et al., 2017). Como essas espécies estão isoladas reprodutivamente de todos os triatomíneos da América do Sul, pois o número de cromossomos atua como uma importante barreira de isolamento reprodutivo para Triatominae (ALEVI, KCC, comunicação pessoal), consideramos importante realizar cruzamentos experimentais e avaliar se existem barreiras reprodutivas instaladas entre as espécies do subcomplexo *T. vitticeps*, pois acredita-se que diversos fatores (como as atuais mudanças climáticas e ambientais provocadas pelo homem), provavelmente, influenciarão no aumento da probabilidade de hibridação para as comunidades futuras (pois estão reorganizando as assembleias de espécies e derrubando as barreiras reprodutivas físicas, temporais e comportamentais), o que pode resultar em eventos de extinção, introgressão ou, até mesmo, especiação (CHUNCO, 2014).

O *status* específico de diversas espécies agrupadas nos complexos *T. brasiliensis* (COSTA et al., 2003, 2009; CORREIA et al., 2013; MENDONÇA et al., 2014, 2016; ALEVI et al., 2018), *T. phyllosoma* (MARTÍNEZ-IBARRA et al., 2005, 2008, 2011) e *T. dimidiata* (GARCÍA et al., 2013) foram corroborados por

meio de cruzamentos experimentais. Com base no exposto, fica claro que a realização de cruzamentos experimentais e a análise de fatores associados com os híbridos, como, por exemplo, taxa de eclosão, taxa de mortalidade, proporção entre machos e fêmeas [para avaliar a regra de Haldane que prediz que o primeiro sexo afetado na prole híbrida é o heterogamético, ou seja, XY no caso dos tritomíneos (TURELLI e ORR, 1995)] e viabilidade reprodutiva, também são importantes para a taxonomia dos triatomíneos, principalmente porque, de acordo com o conceito biológico de espécie apresentado por Mayr et al. (1963) e Dobzhansky (1970), “espécies são grupos de populações naturais que se inter cruzam real ou potencialmente e que são isoladas reprodutivamente de outros grupos (produzindo qualquer incompatibilidade reprodutiva entre os parentais, esterilidade dos híbridos ou ambos)”.

Diversos outros exemplos de cruzamentos experimentais interespecíficos podem ser observados em triatomíneos (MAZZOTTI e OSÓRIO, 1941, 1942; USINGER, 1944, 1966; ABALOS, 1948; RYCKMAN, 1962; CORRÊA e ESPÍNOLA, 1964; UESHIMA, 1966; ESPÍNOLA, 1971; CARVALHEIRO e BARRETTO, 1976; FRANCA-RODRÍGUEZ et al., 1979; GALÍNDEZ et al., 1994, PÉREZ et al 2005; SCHEREIBER et al., 1974; CERQUEIRA, 1982; HEITZMANN-FONTENELLE, 1984; COSTA et al., 2003; MARTÍNEZ-IBARRA et al., 2005, 2008, 2011, 2016a,b; CORREIRA et al., 2013; DÍAZ et al., 2014; MENDONÇA et al., 2014, 2016; CAMPOS-SOTO et al., 2016; NEVES et al., 2020). Essas análises apresentam grande valor científico, principalmente para os cruzamentos resultantes em ovos inférteis (isolamento reprodutivo pré-zigótico) ou híbridos inviáveis (isolamento reprodutivo pós-zigótica), pois o estudo dos cruzamentos experimentais e dos híbridos resultantes possibilita ajudar a compreender a sistemática deste grupo de vetores e auxiliar na análise dos

mecanismos de isolamento que limitam o fluxo gênico entre as diferentes espécies (ARNOLD, 1997; PÉREZ et al., 2005). A hibridação experimental também pode ser empregada para estabelecer o papel da hibridação natural na geração de novas variantes que podem resultar na evolução adaptativa e/ou na fundação de novas linhagens evolutivas (ARNOLD, 1997; PÉREZ et al., 2005).

6. CONCLUSÃO

Com base no exposto, foi possível caracterizar as barreiras reprodutivas que inviabilizam o fluxo gênico entre *T. vitticeps* e *T. melanocephala*, a saber, barreira pré-zigótica para o cruzamento entre ♀ *T. vitticeps* x *T. melanocephala* ♂, possivelmente associada com isolamento gamético ou incompatibilidade genômica, e barreira pós-zigótica por esterilidade do híbrido entre ♀ *T. melanocephala* x *T. vitticeps* ♂, confirmando o *status* específico das espécies do subcomplexo *T. vitticeps*, com base no conceito biológico de espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALOS JW. Sobre híbridos naturales y experimentales de *Triatoma*. Anais do Instituto Regional, v.2, p. 209-223, 1948.

ABALOS JW, WYGODZINSKY P. Las Triatominae argentinas. Monographia Inst. Med. Reg. Tucuman, v.1, p. 1-178, 1951.

ALEVI KCC, OLIVEIRA J, ROSA JA, AZEREDO-OLIVEIRA MTV. Karyotype Evolution of Chagas Disease Vectors (Hemiptera, Triatominae). American Journal of Tropical Medicine & Hygiene, v. 99, p. 87-89, 1951.

ALEVI KCC, MENDONÇA PP, SUCI M, PEREIRA NP, ROSA JA, AZEREDO-OLIVEIRA MTV. Karyotype and spermatogenesis in *Triatoma melanocephala* Neiva and Pinto (1923). Does this species fit in the *Brasiliensis* subcomplex? Infection, Genetics and Evolution, v. 12, p. 1652-1653, 2012.

ALEVI KCC, OLIVEIRA J, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA. *Triatoma vitticeps* subcomplex (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), a new grouping of Chagas disease vectors from South America. Parasites & Vectors, v. 10, p. 180, 2017.

ALEVI KCC, PINOTTI H, ARAÚJO RF, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA, MENDONÇA VJ. Hybrid collapse confirm the specific status of *Triatoma bahiensis* Sherlock and Serafim, 1967 (Hemiptera, Triatominae). The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 98, p. 475-477, 2018.

ALEVI KCC, ROSA JA, AZEREDO-OLIVEIRA MTV. Cytotaxonomy of the *Brasiliensis* subcomplex and the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Zootaxa, v. 3838, p. 583-589, 2014.

ALEVI KCC, MENDONÇA PP, PEREIRA NP, ROSA JA, AZEREDO-OLIVEIRA MTV. Heteropyknotic filament in spermatids of *Triatoma melanocephala* and *T. vitticeps* (Hemiptera, Triatominae). Invertebrate, Reproduction & Development, v. 58, p. 9–12, 2014.

ALMEIDA CE, OLIVEIRA HL, CORREIA N, DORNAK LL, GUMIEL M, NEIVA VL, HARRY M, MENDONÇA VJ, COSTA J, Galvão C. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. Acta Tropica, v. 122, p. 71-79, 2012.

ALMEIDA LM, CARARETO CMA. Gonadal hybrid dysgenesis in *Drosophila sturtevantii* (Diptera, Drosophilidae). *Ilheringia*, v. 92, p. 71-79, 2002.

AMATO NETO V, Pasternak J. Centenário da doença de Chagas. *Revista de Saude Publica*, v. 43 p. 381-382, 2009.

ARNOLD ML. *Natural Hybridization and Evolution*. University Press, New York, Oxford, v. 215, 1997.

ATELLA GC, GONDIM KC, MACHADO EA, MEDEIROS MN, SILVA-NETO MA, et al. Oogenesis and egg development in triatomines: a biochemical approach. *An Acad Bras Cienc*, v. 77, p. 405–430, 2005.

BARRETTO MP. Ecologia de triatomíneos e transmissão do *Trypanosoma cruzi*, com especial referência ao Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 6, p. 339-353, 1976.

BELISÁRIO CJ, D'ÁVILA PESSOA GC, DIOTAIUTI L. Biological aspects of crosses between *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) and *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera: Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, p. 517-521, 2007.

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.

CARVALHEIRO JR, BARRETTO MP. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LX – tentativas de cruzamento de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 com *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera, Reduviidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 18, p. 17-23, 1976.

CERQUEIRA RL. Estudos sobre populações de triatomíneos silvestres encontrado

em Santo Inácio – Bahia. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 68p, 1982.

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 mórbida do homem. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHUNCO AJ. Hybridization in a warmer world. Ecology Evolution, v. 4, p. 2019-2031, 2014.

CORRÊA RR, ESPÍNOLA H. Descrição de *Triatoma maculata*, nova espécie de triatomíneo de Sobral, Ceará (Hemiptera, Reduviidae). Arquivos de Higiene e Saúde Pública, v. 29, p. 115-127, 1964.

CORREIA N, ALMEIDA CE, LIMA-NEIVA V, GUMIEL M, LIMA MM, MEDEIROS LMO, MENDONÇA VJ, ROSA JA, COSTA J. Crossing experiments confirm *T. sherlocki* as a member of the *Triatoma brasiliensis* species complex. Acta Tropica, v. 128, p. 162-167, 2013.

COSTA J, ALMEIDA CE, DUJARDIN JP, BEARD CB. Crossing Experiments Detect Genetic Incompatibility among Populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, p. 637-639, 2003.

DE VAIO ES; GRUCCI B; CASTAGNINO AM; FRANCA ME; MARTINEZ ME. Meiotic differences between three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). Genetica, v. 67, p. 185-191, 1985.

DÍAZ S, PANZERA F, JARAMILLO-O N, PÉREZ R, FERNÁNDEZ R, VALLEJO G, SALDAÑA A, CALZADA JE, TRIANA O, GÓMEZ-PALÁCIO A. Genetic, Cytogenetic and Morphological Trends in the Evolution of the *Rhodnius* (Triatominae: Rhodniini) Trans-Andean Group. PLoS ONE v. 9, p. e87493, 2014.

DOBZHANSKY T. Genetics of the Evolutionary Process (New York: Columbia

University Press), pp. 71-93, 1970.

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

ENGELS WRP, Elements in *Drosophila melanogaster*. in: BERG, D.E. & HOWE, M.M. Mobile DNA, Washington, Amer. Soc. for Microb, 1989.

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

FRANCA-RODRÍGUEZ ME, YONGDG, LOZANO M. Estudio sobre los descendientes entre *Triatoma infestans* (Klug, 1834) y *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843, (Hemiptera, Reduviidae). *Revista de Biología do Uruguay*, v. 7, p. 101-115, 1979.

GALÍNDEZ GI, BARAZARTE R, MÁRQUEZ J, OVIEDO M, MÁRQUEZ Y, MORÓN L, CARCAVALLO RU. Relaciones reproductivas entre *Rhodnius prolixus* Stal y *Rhodnius robustus* Larrousse (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) bajo condiciones de laboratorio. *Entomología y Vectores*, v. 1, p. 3-13, 1994.

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

GARCÍA M, MENES M, DORN PL, MONROY C, RICHARDS B, PANZERA F, BUSTAMANTE DM. Reproductive isolation revealed in preliminary crossbreeding experiments using field collected *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) from three ITS-2 defined groups. *Acta Tropica*, v. 128, p. 714-718, 2013.

GARDIM S, ALMEIDA CE, TAKIYA DM, OLIVEIRA J, ARAÚJO RF, CICARELLI RMB, ROSA JA. Multiple mitochondrial genes of some sylvatic

Brazilian *Triatoma*: non-monophyly of the *T. brasiliensis* subcomplex and the need for a generic revision in the Triatomini. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 23, p. 74-79, 2014.

HEITZMANN-FONTENELLE T. Bionomia comparativa de triatomíneos. VI - Híbridos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 x *Triatoma lenti* Sherlocki & Serafim, 1967 (Hemiptera, Reduviidae). *Memórias do Instituto Butantan*, v. 47, p. 175-181, 1984.

HYPSE V, TIETZ D, ZRZAVY J, REGO RO, GALVÃO C, JURBERG J. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the asiatic clade. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, v. 23, p. 447-457, 2002.

INTERNATIONAL CODE ON ZOOLOGICAL NOMENCLATURE (ICZN), 1999. Disponível em: <http://www.nhm.ac.uk/hosted-sites/iczn/code/>, data de acesso: 20 de novembro de 2019.

JUSTI SA, GALVÃO C, SCHRAGO CG, Geological changes of the Americas and their Influence on the diversification of the Neotropical kissing bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *PLoS Neglected Tropical Disease*, v. 10, p. e0004527, 2016.

JUSTI SA, RUSSO CAM, MALLET JRS, OBARA MT, GALVÃO C, Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Parasites & Vectors*, v. 7, p. 149, 2014.

KIDWELL MG, KIDWELL JF, Selection for male recombination in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, v. 84, p. 333-338, 1976.

LIMA-CORDÓN RA, MONROY MC, STEVENS L, RODAS A, RODAS GA, DORNI PL, JUSTI SA, Description of *Triatoma huehuetenanguensis* sp. n., a

potential Chagas disease vector (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Zookeys, v. 820, p. 51-70, 2019.

MARTÍNEZ-IBARRA J A, LV VENTURA-RODRÍGUEZ, K MEILLON-ISAIS, H BARAJAS-MARTÍNEZ, R ALEJANDRE-AGUILAR, P LUPERCIOCORONEL, ROCHA-CHÁVEZ, B NOGUEDA-TORRES, Biological and genetic aspects of experimental hybrids from species of the *Phyllosoma* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 103, p. 236-243, 2008.

MARTÍNEZ-IBARRA JA, MORALES-CORONA ZY, MORENO-RUIZ MG, DEL RIEGO-RUIZ R, MUNDO-BARAJAS MA, Híbridos naturales y fértiles entre especies del complejo *Meccus phyllosomus* (Hemiptera: Reduviidae) en Jalisco, México. Entomological Society of Mexico, v. 4, p. 734-738, 2005.

MARTÍNEZ-IBARRA JA, NOGUEDA-TORRES B, SALAZAR-SCHETTINO PM, CABRERA-BRAVO M, VENCES-BLANCO MO, ROCHA-CHAVEZ G. Transmission Capacity of *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) by Three Subspecies of *Meccus phyllosomus* (Heteroptera: Reduviidae) and Their Hybrids. Medical and Veterinary Entomological, v. 53, p. 928-934, 2016.

MARTÍNEZ-IBARRA JA, Y GRANT-GUILLÉN, IN DELGADILLO-ACEVES, FA ZUMAYA-ESTRADA, G ROCHA-CHÁVEZ, PM SALAZARSCHETTINO, R ALEJANDRE-AGUILAR, G VILLALOBOS, B NOGUEDA-TORRES. Biological and genetic aspects of crosses between phylogenetically close species of Mexican Triatomines (Hemiptera: Reduviidae). Journal of Medical Entomology, v. 48, p. 705-707, 2011.

MARTÍNEZ-IBARRA, J.A., B. NOGUEDA-TORRES, J.C. GARCÍA-LINO, D. ARROYO-REYES, L.F. SALAZAR-MONTAÑO, J.Á. HERNÁNDEZ-NAVARRO,

C.G. DÍAZ-SÁNCHEZ, E.S. DEL TORO-ARREOLA, AND G. ROCHA-CHÁVEZ, Importance of hybrids of *Meccus phyllosomus mazzottii*, *M. p. pallidipennis* and *M. p. phyllosomus* in transmission of *Trypanosoma cruzi* in Mexico. Japan. J. Infect. Dis, v. 69, p. 202–206, 2016.

MAYR E. Animal Species and Evolution. Harvard University Press, Cambridge, 1963. MAZZOTTI L, OSORIO MT. Resultados obtenidos en cruzamientos con especies diferentes de *Triatoma*. Revista da Faculdade de Bogotá, v. 10, p. 159-160, 1941.

MAZZOTTI L, OSORIO MT. Cruzamientos experimentales entre varias especies de triatomas. Medicina, v. 22, p. 215-222, 1942.

MENDONÇA VJ, ALEVI KCC, MEDEIROS LMO, NASCIMENTO JD, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA. 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, 2002.

MENDONÇA VJ, ALEVI KCC, PINOTTI H, GURGEL-GONGALVES R, PITA S, GUERRA AL, PANZERA F, ARAÚJO RF, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA. 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 JD, DA ROSA JA, SALGADO-ROA FC, HERNÁNDEZ C, PARDO-DIAZ C, ALEVI KCC, 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. OLIVEIRA J, ALEVI KCC. Taxonomic status of

Panstrongylus herreri Wygodzinsky, 1948 and the number of Chagas disease vectors. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 50, p. 434-435, 2017.

NEVES JMS, SOUSA PS, OLIVEIRA J, RAVAZI A, MADEIRA FF, REIS YV, OLIVEIRA ABB, PINOTTI H, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, ROSA JA, ALEVI KCC. Prezygotic isolation confirms the exclusion of *Triatoma melanocephala*, *T. vitticeps* e *T. tibiamaculata* of the *T. brasiliensis* subcomplex (Hemiptera, Triatominae). Infection, Genetics and Evolution, v. 79, p. 104149, 2020.

OLIVEIRA J, AYALA JM, JUSTI SA, ROSA JA, 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.

PANZERA F, FERREIRO MJ, PITA S, CALLEROS L, PÉREZ R, BASMADJIÁN Y, et al. Evolutionary and dispersal history of *Triatoma infestans*, main vector of Chagas disease, by chromosomal markers. Infection Genetics and Evolution, v. 27, p. 105–13, 2014.

PANZERA F., DUJARDIN J.P., NICOLINI P., CARACCIO M.N., ROSE V., TELLEZ T., Genomic changes of Chagas disease vector, South America, Emerging Infection Disease, v. 10, p. 438-446, 2004.

PÉREZ R, HÉRNANDEZ M, QUINTERO O, SCVORTZOFF E, CANALE D, MÉNDEZ L, COHANOFF C, MARTINO M, PANZERA F, Cytogenetic analysis of experimental hybrids in species of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). Genetica, v. 125, p. 261-270, 2005.

PINTO C, 1927. Classification de genres d'hémiptères de la famille Triatomidae (Reduviidoidea). Boletim Biológico, v. 8, p. 103-114, 1927.

PITA S, LORITE P, NATTERO J, GALVÃO C, ALEVI KCC, TEVES SC, AZEREDO-OLIVEIRA MTV, PANZERA F, New arrangements on several species subcomplexes of *Triatoma* genus based on the chromosomal position of ribosomal genes (Hemiptera: Triatominae). *Infection, Genetics and Evolution*, v. 43, p. 225-231, 2016.

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

ROSA JA, BARATA JMS, BARELLI N, SANTOS JLF, BELDA NETO FM, Sexual distinction between 5th instar nymphs of six species (Hemiptera: Reduviidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, p. 257-264, 1992.

RYCKMAN RE, Biosystematics and hosts of the *Triatoma protracta* complex in North América (Hemiptera: Reduviidae) (Rodentia: Cricetidae). *University California Public Entomology*, v. 27, p. 93-240, 1962.

SCHEREIBER G, PINHO AC, PARENTONI R, SALGADO AA, GODOI JR. TL, 1974. Cytogenetics of Triatominae: II Spermatogenesis in hybrid between *Triatoma infestans* and *Triatoma pseudomaculata* (Hemiptera, Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 31, p. 1-9, 1974.

SCHOFIELD, C. J., GALVÃO, C, Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta tropica*, v. 110, p. 88-100, 2009.

SHERLOCK ÍA, GUITTON N, Fauna triatominae do estado da Bahia [Triatominae fauna of the State of Bahia], Brasil: IV. *Triatoma melanocephala* Neiva & Pinto, 1923. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 75, p. 23-31, 1980.

SVED JA, Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: a possible explanation in terms of spatial organization of chromosomes. *Australian*

Journal of Biological Sciences, v. 29, p. 375-382, 1976.

TURELLI M, ORR HA, The dominance theory of Haldane's rule. Genetics, v. 140, p. 389-402, 1995.

UESHIMA N, Cytotaxonomy of the Triatominae (Reduviidae, Hemiptera). Chromosoma, v. 18, p. 97-122, 1966.

USINGER RL, The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their Public Health Significance. Public Health Bulletin, 1944.

USINGER RL, WYGODZINSKY RYCKMAN ER, The Biosystematics of Triatominae. Annual Review of Entomology, v. 11, p. 309-329, 1966

WHO - World Health Organization, Weekly Epidemiological Record, v. 90, p. 33-44, 2018.