Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(2):293-296
ISSN 1808-4532

Espermiogênese como ferramenta citotaxonômica para diferenciar *Triatoma guazu* e *T. williami*, espécies vetoras da doença de Chagas

Yago Visinho dos Reis1; Kaio Cesar Chaboli Alevi[1,*]; João Aristeu da Rosa[2]; Maria Tercília Vilela de Azeredo Oliveira[1]

[1]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" UNESP/IBILCE, Departamento de Biologia, São José do Rio Preto, SP, Brasil.
[2] Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" UNESP/FCFar, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, Brasil.

RESUMO

Os triatomíneos pertencem à ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae. Todas as 148 espécies são hematófagas estritas e potenciais vetoras do protozoário *Trypanosoma cruzi*, **agente etiológico da doença de Chagas. Algumas espécies são extremamente semelhantes do ponto de vista morfológico, o que pode dificultar o trabalho dos programas de controle de vetores.** *Triatoma guazu* **e** *T. williami* **são consideradas como espécies irmãs e não podem ser diferenciadas por diferentes abordagens, como análises morfométricas, isoenzimáticas e cromossômicas. Assim, o presente trabalho analisou as células haplóides durante a espermiogênese, com o objetivo de auxiliar na diferenciação desses vetores. A análise das espermátides de** *T. guazu* **e** *T. williami* **permitiu diferenciá-los, pois** *T. williami* **apresentou apenas um filamento heteropicnótico nas espermátides iniciais que foi parcialmente mantido durante o alongamento celular e** *T. guazu* **apresentou dois filamentos heteropicnóticos periféricos que se uniram durante o alongamento celular, dando origem a uma espermátide alongada totalmente heteropicnótica. Assim, ressaltando a importância dessa ferramenta na diferenciação de espécies relacionadas. No entanto, sugerimos que cruzamentos híbridos experimentais devem ser realizados entre esses triatomíneos, com o intuito de confirmar o status específico desses insetos vetores da doença de Chagas.**
Palavras-chave: Citogenética. Espermátides. Triatominae. Subcomplexo Matogrossensis.

Autor correspondente: Kaio Cesar Chaboli Alevi, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" UNESP/IBILCE, Departamento de Biologia, São José do Rio Preto, SP, Brasil.
E-mail: kaiochaboli@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Os triatomíneos pertencem à Ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae (Lent & Wygodzinsky, 1979). A subfamília Triatominae é composta por 148 espécies distribuídas em 18 gêneros e seis tribos (Abad-Franch et al., 2013; Alevi et al., 2013a; Jurberg et al., 2013; Poinar, 2013). Todos os triatomíneos são potenciais vetores do protozoário *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), agente etiológico da doença de Chagas. A transmissão ocorre por meio das fezes dos triatomíneos que tem o hábito de defecar durante o repasto, uma vez que, após a eclosão, a hematofagia é obrigatória em todos os estádios ninfais (N1, N2, N3, N4 e N5) até a fase adulta (Noireau et al., 2009).

Esses vetores foram agrupados em complexos e subcomplexos específicos, baseados, principalmente, em caracteres morfológicos e na disposição geográfica (Schofield & Galvão, 2009). No entanto, entre os triatomíneos existem muitas espécies morfologicamente semelhantes como, por exemplo, as espécies do gênero *Rhodnius* (Rosa et al., 2012), ressaltando a importância de diferentes ferramentas para o estudo desses vetores.

A princípio, os triatomíneos eram associados à pobreza e precárias condições de vida. No entanto, por meio de ações antrópicas, como queimadas e desmatamento, esses vetores estão domiciliando em busca de alimento e abrigo (Dias & Schofield, 1998). Dessa forma, é necessário que diferentes ferramentas sejam utilizadas para facilitar a diferenciação dessas espécies morfologicamente semelhantes, facilitando, assim, o trabalho dos programas de controle de vetores.

O subcomplexo Matogrossensis é composto por nove espécies, a saber, Triatoma williami, *T. guazu*, *T. matogrossensis*, *T. baratai*, *T. jurbergi*, *T. costalimai*, *T. vandae, T. daeneorum e T. jataí* (Schofield & Galvão, 2009; Gonçalves et al., 2013). Análises morfométricas, cromossômicas e isoenzimáticas não possibilitaram diferenciar *T. guazu* e *T. williami* (Noireau et al., 2002; Alevi et al., 2014).

Análises das células haplóides durante a espermiogênese desses vetores foram propostas como uma ferramenta taxonômica na subfamília Triatominae, por possibilitar que espécies morfologicamente relacionadas sejam diferenciadas (Alevi et al., 2013b, c). Assim, analisaremos as espermátides de *T. guazu* e realizaremos uma comparação dos resultados com o descrito para *T. williami*, com o objetivo de auxiliar na diferenciação desses vetores.

MATERIAL E MÉTODOS

No estudo, foram utilizados cinco indivíduos machos da espécie *T. guazu*, cedidos pelo "Insetário de Triatominae", instalado no Departamento de Ciências Biológicas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Câmpus de Araraquara. Os túbulos seminíferos dos machos adultos, depois de dilacerados e fixados na lâmina, foram submetidos à técnica citogenética de orceína lacto-acética (De Vaio et al., 1985, com modificações de acordo com Alevi et al. 2012). O material biológico foi analisado ao microscópio de luz *Jenaval* (Zeiss), acoplado à câmera digital e ao sistema analisador de imagens *Axio Vision* LE 4.8 (*Copyright ©2006-2009 Carl ZeissImagingSolutionsGmb* H), com aumento de 1000 vezes.

RESULTADOS

Por meio da análise das espermátides de *T. guazu*, foi possível observar dois filamentos heteropicnóticos periféricos (Figura 1A, B setas). Durante a espermiogênese, esses filamentos foram se unindo culminando em uma célula totalmente heteropicnótica (Figura 1C).

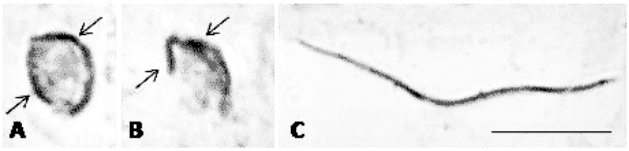

Figura 1: Espermiogenênese de *Triatoma guazu* corada com a técnica citogenética de orceína lacto-acética. A, B: Espermátides iniciais. Notar a presença de dois filamentos heteropicnóticos periféricos (setas). C: Espermátide alongada. Notar que a célula é totalmente heteropicnótica. Bar: 10 um.

DISCUSSÃO

Recentemente, por meio de dados moleculares, *T. guazu* e *T. williami* foram resgatados como espécies irmãs (Gardim et al., 2013). De acordo com os autores, essas espécies apresentavam estreita relação filogenética. Ambas são endêmicas do Brasil, sendo *T. guazu* encontrada apenas em Mato Grosso e *T. williami* em Goiás, Mato Grosso e Matogrosso do Sul (Gurguel-Gonçalves et al., 2012). Ambas são de hábito silvestre, mas já foram encontradas próximas a habitações humanas (peridomicílio) (Carcavallo et al., 1998; Silva et al., 2002) e *T. williami* já foi encontrada infectada pelo T. cruzi (Arrais-Silva et al., 2011).

Espécies morfologicamente relacionadas, como T. lenti e T. sherlocki (Papa et al., 2002) e T. melanocephala e T. vitticeps (Sherlock e Guitton, 1980), puderam ser diferenciadas por análises citogenéticas das espermátides (Alevi et al., 2013b, c, respectivamente). Succi et al. (2013) descreveram a espermatogênese e espermiogênese de *T. williami* e observou como características das células haplóides: presença de um filamento heteropicnótico nas espermátides iniciais que foi parcialmente mantido durante o alongamento celular. No entanto, em *T. guazu* foram observados dois filamentos heteropicnóticos periféricos que durante o alongamento celular se uniram, dando origem a uma espermátide alongada totalmente heteropicnótica.

Embora o status específico de *T. guazu* e *T. williami* não tenha sido questionado, por meio de diferentes ferramentas essas espécies apresentam características muito semelhantes. A análise das espermátides desses vetores permitiu diferenciá-los, corroborando a importância dessa ferramenta na análise de espécies relacionadas, auxiliando os programas de controle de vetores.

Assim, o presente trabalho disponibiliza uma ferramenta diagnóstica para diferenciar T. guazi e *T. williami*. Ressaltamos a importância de novos estudos, como cruzamentos híbridos experimentais, com o intuito de confirmar o status específico desses importantes vetores da doença de Chagas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo e ao Conselho Nacional de Pesquisa.

ABSTRACT

Spermiogenesis as cytotaxonomic tool to differentiate Triatoma guazu and T. williami, vector species of Chagas disease

Triatomines belong to the Hemiptera order, Heteroptera suborder, Reduviidae family and Triatominae subfamily. All the 148 species are haematophagous strict and potential vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi***, etiologic agent of Chagas disease. Some species are very similar from a point of view morphological, what can difficult the work of vector control programs.** *Triatoma guazu* **and** *T. williami* **are considered sister species and cannot be differentiated by many approaches such as morphological, isoenzyme and chromosome analysis. Thus, the present study examined the haploid cells during spermiogenesis, aiming to assist the differentiation of these vectors. The analysis of spermatids of** *T. guazu* **and** *T. williami* **allowed to differentiate them because** *T. williami* **presented only one heteropyknotic filament in the early spermatids which was partially maintained**

during cell elongation and *T. guazu* presented two peripheral heteropycnotic filaments that have joined during cell elongation, leading to a elongated spermatid fully heteropycnotic. Thus highlighting the importance of this tool in the differentiation of related species. However, we suggest that experimental hybrid crosses should be made between these triatomines, in order to confirm the specific status of these insect vectors of Chagas disease.
Keywords: cytogenetics. Spermatids. Triatominae. Matogrossensis subcomplex

REFERÊNCIAS

Abad-Franch F, Pavan MG, Jaramillo N, Palomeque FS, Dale C, Chaverra D, Monteiro FA. *Rhodnius* barretti, a new species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) from western Amazonia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108:92-99.

Alevi KCC, da Rosa JA, de Azeredo Oliveira MTV. Mini Review: Karyotypic Survey in Triatominae Subfamily (Hemiptera, Heteroptera). Entomol Ornithol Herpetol. 2013a;2:106. DOI:10.4172/2161-0983.1000106.

Alevi KCC, Mendonça PP, Pereira NP, Fernandes ALVZ, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MTV. Analysis of spermiogenesis like a tool in the study of the triatomines of the Brasiliensis subcomplex. C R Biol. 2013b;336:46-50.

Alevi KCC, Mendonça PP, 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? Infect Gen Evol. 2012;12:1652-3.

Alevi KCC, Mendonça PP, Pereira NP, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MTV. Heteropyknotic filament in spermatids of Triatoma melanocephala and T. vitticeps (Hemiptera, Triatominae). Inv Rep Dev. 2013c; DOI: 10.1080/07924259.2013.793623.

Alevi KCC, Reis YV, Mendonça VJ, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MTV. Classical cytotaxonomy the Matogrossensis subcomplex (Hemiptera, Triatominae) Inv Rep Dev. 2014, in press.

Arrais-Silva WW, Rodrigues RSV, Moraes LN, Venere PC, Lunardi RR, Souza IL, Souto PCS. First report of occurrence of Triatoma williami Galvão, Souza e Lima, 1965 naturally infected with *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 in the State of Mato Grosso, Brazil. Asian Pac J Trop Dis. 2011;1:245-6

Carcavallo RU, Rodríguez MEF, Salvatella R, Curto de Casas SI, Sherlock IA, Galvão C, Rocha DS, Galíndez Girón I, Otero Arocha MA, Martínez A, Da Rosa JA, Canale DM, Farr TH, Barata JMS. Habitats and related fauna. In RU Carcavallo, I Galíndez Girón, J Jurberg, H Lent (eds), Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas, Fiocruz, Rio de Janeiro, 1998;2:561-600.

De Vaio ES, Grucci B, Castagnino AM, Franca ME, Martinez ME. Meiotic differences between three triatomine species (Hemiptera:Reduviidae). Genetica. 1985;67:185-91.

Dias JCP, Schofield CJ. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. Rev Soc Bras Med Trop. 1998;31:373–83.

Gardim S, Rocha CS, Almeida CE, Takiya DM, da Silva MT, Ambrósio DL, Cicarelli RM, da Rosa JA. Evolutionary relationships of the Triatoma matogrossensis subcomplex, the endemic triatoma in Central-Western Brazil, based on mitochondrial DNA sequences. Am J Trop Med Hyg. 2013;89:766-74.

Gonçalves TCM, Teves-Neves SC, Santos-Mallet JR, Carbajal-De-La-Fuente AL, Lopes CM. Triatoma jatai sp. nov. in state of Tocantins, Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108:429-37.

Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Costa J, Peterson AT. Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Based on Ecological Niche Modeling. J Trop Med. 2012;15. DOI:10.1155/2012/705326.

Jurberg J, Cunha V, Cailleaux S, Raigorodschi R, Lima MS, Rocha DS, Moreira FFF. Triatoma pintodiasi sp. nov. do subcomplexo T. rubrobaria (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Rev Pan-Amaz Saúde 2013;4:43-56.

Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vector of Chagas's disease. Bull Am Mus Nat Hist. 1979;163:123-520.

Noireau F, Diosque P, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Vet Res. 2009;40(2):26. DOI: 10.1051/vetres/2009009

Noireau F, Santos SM, Gumiel M, Dujardin JP, Soares MS, Carcavallo RU, Galvão C, Jurberg J. Phylogenetic relationships within the oliveirai complex (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae) Infect Gen Evol. 2002;2:11-7.

Papa AR, Jurberg J, Carcavallo RU, Cerqueira RL, Barata JMS. Triatoma sherlocki sp. n. coletada na Bahia, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Entomol Vectores. 2002;9:133-46.

Poinar Jr G. Panstrongylus hispaniolae sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatomine in Dominican amber, with evidence of gut flagellates. Palaeodiver 2013;6:1-8.

Rosa JA, Rocha CS, Gardim S, Pinto MC, Mendonça VJ, Ferreira-Filho JCR, Carvalho EOC, Camargo LMA, Oliveira J, Nascimento JD, Cilense M, Almeida CE. Description of *Rhodnius* montenegrensis n. sp. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the state of Rondônia, Brazil. Zootaxa 2012;3478: 62-76.

Schofield CJ, Galvão C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. Acta Trop. 2009;110(2-3):88-100.

Sherlock ÍA, Guitton N.Fauna triatominae do estado da Bahia, Brasil: IV –Triatoma melanocephala Neiva & Pinto,1923. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1980;75:23-31.

Silva M B A, Barbosa H S, Jurberg J, Galvão C, Carcavallo RU. Comparative ultrastructural analysis of the antennae of *Triatoma guazu* Lent & Wygodzinsky, 1979 and Triatoma jurbergi Carcavallo, Galvão e Lent, 1998 during the nymphal stage development (Hemiptera, Reduviidae). J Med Entomol. 2002;39:705-15.

Succi M, Alevi KCC, Mendonça OO, Bardella VB, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MTV. Spermatogenesis in Triatoma williami Galvão, Souza and Lima (1965) (Hemiptera, Triatominae). Inv Rep Dev. 2013. doi: 10.1080/07924259.2013.855268.

Recebido em 20 de março de 2014

Aceito em 30 de abril de 2014