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

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(2):307-310
ISSN 1808-4532

Homogeneidade cromossômica em diferentes populações de *Panstrongylus megistus* do Brasil

Kaio Cesar Chaboli Alevi[1,*]; Giovana Menezes Nunes[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 são insetos vetores do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Existem seis espécies de maior importância vetorial, a saber, *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis*, *T. sordida*, *T. pseudomaculata* e *Rhodnius neglectus*. *P. megistus* apresenta grande distribuição geográfica e já foi coletada em 22 Estados brasileiros. Variações cromossômicas intraespecíficas já foram detectadas na subfamília Triatominae. Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar as características cromossômicas de *P. megistus* provenientes de sete diferentes Estados brasileiros (Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Santa Catarina), por meio de técnicas citogenéticas clássicas. Todos os insetos analisados apresentaram as mesmas características cromossômicas: 21 cromossomos, sistema de determinação do sexo do tipo X_1X_2Y, tamanho relativo dos autossomos com pequena variação, tamanho relativo dos cromossomos sexuais ($Y>X_1>X_2$), cromocentro na prófase meiótica formado apenas pelos cromossomos sexuais e presença de heterocromatina apenas no cromossomo sexual Y. Sendo assim, o presente trabalho apresenta dados evolutivos sobre as populações de *P. megistus* do Brasil, demonstrando que as populações de diferentes Estados brasileiros apresentam homogeneidade cromossômica.
Palavras-chave: Citogenética. Cariótipo. Bandamento C. Subfamília Triatominae.

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 são insetos vetores do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Todas as espécies são potenciais vetoras, uma vez que, após a eclosão do ovo, todas as fases ninfais (N1, N2, N3, N4, N5) e a fase adulta são hematófagas restritas (Noireau et al., 2009). No entanto, existem seis espécies de maior importância vetorial, a saber, *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis*, *T. sordida*, *T. pseudomaculata* e *Rhodnius neglectus* (Dias & Coura, 1997; Silistino-Souza et al., 2013).

P. megistus é uma das principais espécies vetoras no Brasil, pois apresenta grande distribuição geográfica e já foi coletada em 22 Estados brasileiros: Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Sergipe, São Paulo, Santa Catarina e Tocantins (Gurguel-Gonçalvez et al., 2012). Além disso, dentre as 15 espécies do gênero Panstrongylus descritas na literatura (Alevi et al., 2013; Poinar, 2013), *P. megistus* é a mais importante do ponto de vista vetorial, pois vive associada a humanos (Pérez et al., 2002).

Análises citogenéticas nos cromossomos de triatomíneos de diferentes localidades mostram-se como uma importante ferramenta que pode auxiliar no entendimento evolutivo desses vetores. Variações cromossômicas intraespecificais já foram detectadas para *Triatoma infestans* (Panzera et al., 2004; 2012), *T. sordida* (Panzera et al., 1997), *Rhodnius pallescens* (Gomez-Palácio et al., 2008), *R. ecuadoriensis* (Pita et al., 2013) e *P. geniculatus* (Pérez et al., 2002).

As análises citogenéticas em *P. megistus* foram iniciadas, em 1950, por Schreiber e Pellegrino que descreveram o número de cromossomos desse vetor, a saber, $2n = 21$ ($18A + X_1X_2Y$) (Schreiber & Pellegrino, 1950). Em 2002, Pérez e colaboradores analisaram o padrão de heterocromatina constitutiva de *P. megistus* e observaram que apenas o cromossomo sexual Y é heterocromático

(Pérez et al., 2002). Mais recentemente, Panzera e colaboradores descreveram a disposição da Região Organizadora Nucleolar nos cromossomos desse vetor, por meio da sonda de DNA ribossomal 45S, e observaram que a marcação foi restrita a um par de autossomos (Panzera et al., 2012).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar as características cromossômicas de *P. megistus* provenientes de sete diferentes Estados brasileiros, por meio de técnicas citogenéticas clássicas.

No estudo, foram utilizados cinco indivíduos machos adultos da espécie *P. megistus*, provenientes dos Estados do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo. Os insetos foram 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 às técnicas citogenéticas de orceína lacto-acética (De Vaio et al., 1985, com modificações de acordo com Alevi et al. 2012) e bandamento C (Sumner, 1972). O material biológico foi analisado ao microscópio de luz *Jenaval* (Zeiss), acoplado à câmera digital e ao sistema analisador de imagens *Panstrongylus megistus* LE 4.8 (*Copyright ©2006-2009 Carl Zeiss Imaging Solutions Gmb* H), com aumento de 1000 vezes.

Por meio da análise citogenética de *P. megistus* com orceína lacto-acética foi possível analisar o número de cromossomos (2n = 21), o mecanismo sexual de determinação do sexo (X_1X_2Y), o tamanho relativo dos autossomos (pequena variação) e dos cromossomos sexuais ($Y>X_1>X_2$) e a constituição do cromocentro na prófase meiótica (formado apenas pelos cromossomos sexuais) que se manteve constante em todos os insetos dos diferentes Estados. Por meio do bandamento C foi possível analisar o padrão de heterocromatina constitutiva nos cromossomos desses vetores (presença de heterocromatina apenas no cromossomo sexual Y). Os resultados foram comparados com análises citogenéticas de *P. megistus* de Minas Gerais, Bahia e Santa Catarina, descritos na literatura por Pérez et al. (2002) e agrupados em uma tabela (Tabela 1).

As análises dos diferentes aspectos morfológicos nos cromossomos de *P. megistus* também mostraram ausência de variação intraespecífica, pois as sete populações brasileiras analisadas apresentaram as mesmas características citogenéticas (Tabela 1).

A evolução cromossômica na subfamília Triatominae é pouco complexa quando comparada, por exemplo, aos hemípteros fitófagos, pois esses vetores apresentam apenas cinco possibilidades de cariótipos, a saber, 2n = 21, 22, 23, 24 ou 25 (Alevi et al., 2013). Além disso, os eventos evolutivos que moldaram as variações numéricas nos cariótipos dos triatomíneos foram, basicamente, fusão e fissão (Panzera et al., 2010). Levando em consideração que o ancestral comum dos triatomíneos apresentava 22 cromossomos (20 autossomos + XY) (Ueshima, 1966), ambos os eventos ocorreram na evolução de *P. megistus*: fusão de dois autossomos, resultado em nove pares de autossomos e fissão no cromossomo sexual X, resultando no sistema de determinação do sexo X_1X_2Y, embora Pérez et al. (2002) não descarte a hipótese de que outros rearranjos possam ter ocorrido durante a evolução cromossômica desse vetor. Esses eventos, depois de fixados durante o processo de especiação, foram mantidos, o que pode ser observado na análise das diferentes populações provenientes dos diferentes Estados brasileiros (Tabela 1).

Recentemente, diferentes populações de *P. megistus* do Brasil também foram analisadas por meio de ferramentas moleculares (ITS1, 5,8S e ITS2) e os autores observaram uma diversidade genética bastante significante para as sequências analisadas, destacando que essa diversidade está relacionada com a capacidade de colonização desses vetores (Cavassin et al., 2014). No entanto, a evolução gênica e a evolução cromossômica são eventos mediados

Tabela 1- Características cromossômicas de *P. megistus* provenientes de sete diferentes Estados brasileiros.

P. megistus	Número de cromossomos	Mecanismo sexual	Tamanho relativo dos autossomos	Tamanho relativo dos CS	Constituição do cromocentro	Bandamento C		
						A	CS	
							X	Y
Bahia	2n = 21*1	X_1X_2Y*1	Pequena variação*1	$Y>X_1>X_2$*1	X_1X_2Y*1	Ausente*1	Ausente*1	Presente*1
Minas Gerais	2n = 21*1	X_1X_2Y*1	Pequena variação*1	$Y>X_1>X_2$*1	X_1X_2Y*1	Ausente*1	Ausente*1	Presente*1
Rio Grande do Norte	2n = 21	X_1X_2Y	Pequena variação	$Y>X_1>X_2$	X_1X_2Y	Ausente	Ausente	Presente
Rio Grande do Sul	2n = 21	X_1X_2Y	Pequena variação	$Y>X_1>X_2$	X_1X_2Y	Ausente	Ausente	Presente
Paraná	2n = 21	X_1X_2Y	Pequena variação	$Y>X_1>X_2$	X_1X_2Y	Ausente	Ausente	Presente
Santa Catarina	2n = 21*1	X_1X_2Y*1	Pequena variação*1	$Y>X_1>X_2$*1	X_1X_2Y*1	Ausente*1	Ausente*1	Presente*1
São Paulo	2n = 21	X_1X_2Y	Pequena variação	$Y>X_1>X_2$	X_1X_2Y	Ausente	Ausente	Presente

*1 Pérez et al. (2002); CS: Cromossomos sexuais; A: autossomos; X: cromossomo sexual C; Y: cromossomo sexual X.

por fatores bastante diferentes, sendo que os eventos que podem levar a variações nas sequências de DNA são mais comuns que os que levam as alterações cromossômicas. Assim, ressaltamos a importância da aplicação de estudos citogenéticas e moleculares para o entendimento evolutivo desses vetores.

Sendo assim, o presente trabalho apresenta dados evolutivos sobre as populações de *P. megistus* do Brasil, demonstrando que as populações de diferentes Estados brasileiros apresentam homogeneidade cromossômica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo nº 2013/19764-0) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

ABSTRACT

Chromosome homogeneity in different populations of Panstrongylus megistus of Brazil

The triatomines are insects vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi*, **etiologic agent of Chagas disease. There are six species of greatest importance vector, out more,** *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis*, *T. sordida*, *Rhodnius neglectus* **and** *T. pseudomaculata*. *P. megistus* **presents great geographic distribution and has been collected in 22 Brazilian states. Intraspecific chromosomal variations have been detected in Triatominae. Thus, the present study aimed to analyze the chromosomal characteristics of** *P. megistus* **from seven different Brazilian states (Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia and Santa Catarina) by means of classical cytogenetic techniques. All insects analyzed showed the same chromosomal characteristics: 21 chromosomes, sex determination system the type X_1X_2Y, relative size of autosomes with little variation, relative size of the sex chromosomes ($Y>X_1>X_2$), chromocenter in meiotic prophase formed only by sex chromosomes and the presence of heterochromatin only in sex chromosome Y. Thus, this paper presents evolutionary data on the populations of** *P. megistus* **of Brazil demonstrating that populations from different Brazilian states have chromosomal homogeneity.**

Keywords: Cytogenetics. Karyotype. C-banding. Triatominae subfamily.

REFERÊNCIAS

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, 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.

Cavassin FB, Kuehn CC, Kopp RL, Thomaz-Soccol V, Da Rosa JA, Luz E, Mas-Coma S, Bargues MD. Genetic variability and geographical diversity of the main Chagas' disease vector *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Triatominae) in Brazil based on ribosomal DNA intergenic sequences. J Med Entomol. 2014;51:616-28.

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, Coura JR. Epidemiologia. In: Dias JCP, Coura JR (eds), Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1997:33-67.

Gómez-Palacio A, Jaramillo-Ocampo N, Triana-Chávez O, Saldaña A, Calzada J, Pérez, R, Panzera F. Chromosome variability in the Chagas disease vector *Rhodnius pallescens* (Hemiptera, Reduviidae, Rhodniini). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008;103:160-4.

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.

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.

Panzera F, Dujardin JP, Nicolini P, Caraccio MN, Rose V, Tellez T, Bermúdez H, Margues MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Pérez R. Genomic changes of Chagas disease vector, South America. Emerg Infec Dis. 2004;10:438-46.

Panzera F, Hornos S, Pereira J, Cestau R, Canale D, Diotaiuti L, Dujardin JP, Perez R. Genetic variability and geographic differentiation among three species of triatomine bugs (Hemiptera-Reduviidae). Am J Trop Med Hyg. 1997;57:732-9.

Panzera F, Perez R, Panzera Y, Ferrandis I, Ferreiro MJ, Calleros L. Cytogenetics and genome evolution in the subfamily Triatominae (Hemiptera, Reduviidae). Cytogen Genome Res. 2010;128:77-87.

Panzera Y, Pita S, Ferreiro MJ, Ferrandis I, Lages C, Pérez R, SILVA AE, Guerra M, Panzera F. High dynamics of rDNA cluster location in kissing bug holocentric chromosomes (Triatominae, Heteroptera). Cytogenet Genome Res. 2012;138:56-67.

Pérez-Crossa R., Hernández M, Caraccio MN, Rose V, Valente SAS, Valente VC, Mejía JM, Ângulo VM, Ramírez CMS, Rondán J, Vargas F, Wolff M, Panzera F. Chromosomal evolution trends of the genus Panstrongylus

(Hemiptera, Reduviidae), vectors of Chagas desease. Inf Gen Evol. 2002;2:47-56.

Pita S, Panzera F, Ferrandis I, Galvão C, Gómez-Palacio A, Panzera Y. Chromosomal divergence and evolutionary inferences in Rhodniini based on the chromosomal location of ribosomal genes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108:376-82.

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.

Schreiber G, Pellegrino J. Eteropicnosi di autosomi come possible meccanismo di speciazione. Sc Gen. 1950;3:215-26.

Silistino-Souza R, Alevi KCC, Castro NFC, Freitas MN, Papa MD, Scandar SAS, Bestetti RR, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MTV. Entoepidemiology of Chagas disease in northwest São Paulo and cytogenetic analysis of its main vector, Triatoma sordida (Hemiptera: Triatominae). Gen Mol Res. 2013;12:5810-19.

Sumner AT. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp Cell Res. 1972;75:305-6.

Ueshima N. Cytotaxonomy of the triatominae (Reduviidae: Hemiptera). Chromosoma. 1966;18:97-112.

Recebido em 24 de abril de 2014

Aceito em 14 de julho de 2014