

REVISÃO

VINTE E CINCO ANOS DE CITOGENÉTICA DOS TRIATOMINAE

Giorgio Schreiber et Alii. (*) (**)

É apresentado cronologicamente o ciclo de pesquisas de citogenética sobre os "barbeiros" no Departamento de Biologia Geral do ICB-UFMG desde 1948 até hoje. Foram estudados o cariótipo e os cromossomos sexuais, os fenômenos de heteropiconose de autossomos e sua significação evolutiva, os fenômenos da síntese do DNA ao longo do túbulo testicular, e a variabilidade da morfologia destes túbulos como caráter sistemático. Uma parte das pesquisas foi dedicada ao estudo dos mecanismos citogenéticos da esterilidade dos híbridos interespecíficos.

Em 1948, Schreiber & Pellegrino (6) iniciaram, no antigo Instituto de Biologia da Faculdade de Filosofia, as pesquisas citogenéticas sobre os "barbeiros", Triatominae, Hemiptera Heteroptera), com o estudo do cariótipo das seguintes espécies: *Triatoma infestans*, *T. sordida*, *T. maculata*, *T. vitticeps*, *T. brasiliensis*, *T. rubrovaria*, *T. dimidiata*, *T. pallidipennis*, *Panstrongylus megistus*, *Rhodnius prolixus* e *Psammolestes coreodes*. O trabalho foi apresentado no 8.º Congresso Internacional de Genética em Estocolmo.

Neste trabalho são indicados o número de cromossomos (autossomos) e dos cromossomos sexuais e são assinalados os fenômenos da heteropiconose de alguns autossomos no *Triatoma infestans*.

Em 1950 Scheiber & Pellegrino (7) analisaram o fenômeno da heteropiconose dos autossomos *T. infestans* e alguns fenô-

menos análogos menos evidentes em *T. platensis* e *T. sordida*, *T. brasiliensis* e *T. nitida*. Neste estudo resultou evidente o fato de que três autossomos em *T. infestans*, de tamanho maior do que os demais, aparecem nitidamente nucleinizados e ligados ao grupo de X e Y na fase inicial da diacinese logo depois do longo estágio chamado de "confused stage". Este fenômeno conhecido em pouquíssimos outros casos de meiose, indica que estes três cromossomos têm um ciclo de duplicação precoce em relação aos demais cromossomos desta espécie e neste comportamento se assemelham aos cromossomos sexuais com os quais aparecem ligados por delgados filamentos. Pelo estudo de híbridos obtidos pelo Dr. E. Dias e gentilmente cedidos, entre *T. infestas* e *T. rubrovaria*, constata-se uma falta de pareamento entre os homólogos das duas espécies, devido ao estado heteropiconótico das diades de *infes-*

(*) Os colaboradores são aqui elencados em ordem alfabética: Alencar L. G., Bogliolo, A. R., Carvalho, C. H., Cavenaghi, C. M. T., Espinola, N. H., Godoy Jr., T. L., Parentoni, M. R., Pellegrino, J., Pinho, C. A., Rezende, E. S., Salgado, A. A. e Silva P. F.

(**) Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Estas pesquisas foram executadas com os auxílios das seguintes entidades: CNPq, CAPES, Rockefeller Institution, World Health Organization e CPq. da UFMG.

Recebido para publicação em 5-2-1974.

tans. Este fato foi pelos autores interpretado como um mecanismo de isolamento reprodutivo ao nível da meiose e portanto de uma nova significação evolutiva.

Em 1951 Schreiber & Pellegrino (8) estudaram o efeito de injeções de colquicina em *T. infestans* sobre o processo espermatogênico. Descrevem o bloqueio das divisões meióticas com a separação total ou parcial dos elementos constituintes, as tetrades. Um estudo citoquantitativo sobre os estádios normais da espermatogênese nesta espécie (gonios, espermatocitos I.^o, espermatócitos II.^o e espermatídios) indicou os padrões cariométricos dos estádios respectivamente haploide, diploide e tetraploide. O estudo cariométrico dos espermatídios na fase imediatamente sucessiva à segunda divisão meiótica revelou, nos indivíduos tratados com a colquicina, valores cariométricos deste estádio correspondentes a relação 4:2:1. Este fato foi interpretado como um início de espermiogênese nos meiocitos de vários estádios bloqueados nas suas divisões. Este fenômeno foi reencontrado em híbridos interespecíficos, numa segunda fase destas pesquisas e será relatado adiante.

Em 1959, Espinola & Schreiber (2) descreveram um mutante da cor dos olhos em *Panstrongylus megistus*, analisando o comportamento genético desta mutação em duas gerações sucessivas.

Depois deste ciclo de pesquisas, por razões independentes da vontade dos autores, o trabalho sobre os Triatominae foi mantido somente com a criação de várias espécies no Insetário do Departamento e trabalho de rotina no ensino da citogenética para o qual este material se presta excelentemente.

Em 1967 as pesquisas foram reativadas com novos elementos jovens no corpo de pesquisadores, e Schreiber foi convidado para integrar o "Grupo Científico sobre genética dos vetores e resistência aos inseticidas" da Organização Mundial de Saúde em Genebra. Neste grupo de trabalho Schreiber apresentou três Relatórios respectivamente sobre "Gametogênese — Espermatogênese" (4), "Síntese do DNA na Espermatogênese dos Triatominae" (9) e "Morfologia comparada dos túbulos espermatócitos como caráter sistemático dos Triatominae" (10).

Nesta Reunião da O.M.S. foi organizada a publicação do livro intitulado "Ge-

netics of Insects vectors of diseases" (Wright & Pal (16) no qual Schreiber, Carvalho & Espinola (11)), foram incumbidos de compilar o capítulo 14 sobre a "Genética de Triatoma e outras espécies de vetores".

Em 1967, Penalva da Silva & Schreiber (3) publicaram o trabalho "in extenso" sobre a importância taxonômica do número e tamanho relativos dos túbulos testiculares em 12 espécies de Triatominae pertencentes a 4 gêneros diferentes. Foi verificado que os gêneros têm características próprias, sendo que o gênero *Panstrongylus* tem 7 túbulos aproximadamente iguais, os gêneros *Rhodnius* e *Psammolestes* têm 5 túbulos muito curtos e 2 longos, e o gênero *Triatoma* 3 túbulos curtos, 2 médios e 2 longos.

No mesmo ano Schreiber & cols (12) relataram as pesquisas feitas com técnica cariométrica e autoradiográfica com timidina tritiada, sobre a síntese do DNA durante o processo espermatogênico a partir dos gonios até o espermatócito de 1.^a ordem. Foi constatado que a síntese do DNA se realiza somente nos espermatogônios em multiplicação e na 1.^a fase do espermatócito de 1.^a ordem. Sucessivamente este espermatócito sofre um ciclo de duplicação do volume nuclear, sem ulterior síntese de DNA (heterosíntese). Este fenômeno foi interpretado como uma fase funcional do espermatócito provavelmente de preparação dos materiais ativos no processo morfogênico da formação do espermatócito. Um fenômeno semelhante é conhecido em algumas espécies de Drosophilas, nas quais o espermatócito de 1.^a ordem apresenta um só cromossomo em estado de "lampbrush"; sendo constatado ser este o cromossomo Y, provavelmente ativo nos processos espermiogênicos.

Em 1970 Schreiber, Bogliolo & Pinho (14) retomaram o estudo do cariótipo dos Triatominae com nova metodologia. Foram estudadas as seguintes espécies: *Triatoma infestans*, *T. vitticeps*, *T. platensis*, *T. pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus*, *P. herreri*, e *Rhodnius prolixus*. Destas espécies foram estudados três aspectos citogenéticos relacionados, ou seja:

- 1) descrição e representação fotográfica dos autossomos e dos cromossomos sexuais, (cariotipo),
- 2) determinação do conteúdo em DNA por núcleo nos gonios premeióticos,

3) determinação do volume nuclear deste estágio,

4) novas observações sobre o fenômeno da heteroplicnose dos autossomos em *T. infestans*.

Este trabalho, para algumas espécies completa o trabalho inicial de Schreiber & Pellegrino (6) que foi somente apresentado num congresso internacional sem documentação gráfica.

O estudo do conteúdo em DNA, que faz parte de um outro ciclo de pesquisas deste Departamento (5-13), revelou que as espécies estudadas podem ser recolhidas em três grupos distintos, sendo as diferenças estatisticamente significativas. Assim, o *Rhodnius* apresenta 5 unidades convencionais de DNA, o grupo constituído pelo *Triatoma pseudomaculata*, *T. platensis* e *Panstrongylus*, tem valores de DNA na faixa entre 11 e 13 unidades, e o grupo constituído pelo *Triatoma infestans* e *T. vitticeps* pertencem à faixa de 15 a 17 unidades de DNA. Outras espécies de "barbeiros" brasileiros bem como de "barbeiros" californianos estão sendo estudados e serão publicados em futuro. Pela comparação com o estudo citofotométrico do DNA nos Hemipteros, paralelamente ao do cariótipo, feito pelo casal Schrader, ficou demonstrado que nestes animais, apesar de ter o mesmo número de cromossomos (nos nossos casos com a exceção do *P. megistus*) os valores de DNA podem variar significativamente, alcançando entre certas espécies valores de duplicação. A comparação com o tamanho dos cromossomos sugere que este fenômeno possa ser devido a fenômenos de polinemia ou de existência de DNA repetitivo característico em cada espécie.

Os volumes nucleares dos mesmos estádios estudados citofotometricamente para o conteúdo em DNA, mostram uma boa correlação positiva entre estes dois parâmetros citométricos.

Bogliolo & Schreiber (1) constataram neste ciclo de pesquisa que nos animais examinados (de procedência desconhecida) pode haver uma certa variabilidade no fenômeno da heteroplicnose dos autossomos. Assim alguns animais apresentam os três autossomos característicos heteroplicnóticos, ao passo que outros apresentam somente duas tetrades nesta condição. Deve de deixar em suspenso o julgamento deste

fato até que uma pesquisa mais detalhada sobre indivíduos de distribuição geográfica bem determinada possa ser analisada.

Uma pesquisa mais generalizada sobre o teor em DNA por núcleo na série filogenética animal (5) incluiu os Triatominae neste quadro depois de ter calculado o valor absoluto em DNA em picogramas, obtido pela comparação no mesmo banho de Fuelgen de células diploides de espécies nas quais o conteúdo em DNA foi previamente determinado por determinações químicas. A posição dos Triatominae neste quadro se coloca perfeitamente entre o grupo de outros insetos determinados por outros autores.

Em 1972-73 uns híbridos entre *T. infestans* e *T. pseudomaculata* foram obtidos no Centro de Estudos "René Rachou" do INERu em Belo Horizonte e analisados citogeneticamente no Departamento de Biologia Geral da UFMG por Schreiber & cols. (15). A esterilidade dos machos F_1 foi verificada pela ausência total ou parcial do pareamento dos homólogos e o consequente bloqueio de pelo menos parte das divisões meióticas. Foram encontrados espermátidos gigantes no estágio inicial da espermiogênese bem como espermatozoides gigantes anômalos. Uma pesquisa citométrica sobre os espermátidos revelou a existência de valores polimodais nos histogramas e coincidentes com os valores 4:2:1 da série dos meiocitos normais.

Este fato foi interpretado, analogamente a quanto foi visto nas pesquisas de Schreiber & Pellegrino (8) na coluicinição, como devido a um desvio dos meiocitos bloqueados, para o processo espermiogênético, que assim se revela como totalmente independente dos fenômenos cromossômicos dos meios.

Em 1973 a Dra. Alina P. Szumlewicz, pediu ao nosso Departamento a colaboração para o estudo citogenético dos híbridos obtidos no Laboratório de Biologia e Controle de Insetos do INERu — Fiocruz do Rio de Janeiro, entre as espécies de *Triatoma pseudomaculata* e *T. sordida*, das quais obteve por retrocruzamento das fêmeas até a 3.^a geração. O trabalho, ainda na fase inicial, parece indicar fenômenos análogos aos observados em outros híbridos (15) no mecanismo da esterilidade dos machos. Posteriormente serão estudados os fenômenos citogenéticos na ovogênese.

Numa visita ao Departamento feita pelo Dr. Ryckman, ilustre entomologista e geneticista da Universidade de Loma Linda, na Califórnia, foi estabelecida uma colaboração com o nosso Departamento para o estudo citogenético dos "barbeiros" californianos, que constituem um grupo sistemático bastante confuso ("Grupo Proctacta").

Este estudo, ainda em andamento, constitui parte da Tese de Mestrado em citogenética na Universidade de São Paulo, de uma das colaboradoras (Arlita C. de Pinho) e os resultados obtidos somente poderão ser publicados após a defesa da Tese.

AGRADECIMENTOS

Este ciclo de pesquisas foi subvencionado em épocas diversas pelas seguintes Instituições, as quais os autores expressam aqui publicamente os mais sentidos agradecimentos: CNPq, CAPES, Rockefeller Institution, Organização Mundial de Saúde (WHO) e CPq da UFMG. Um agradecimento especial é devido ao colaborador L. G. Alencar, sem a constante atividade do qual, na sistemática e na manutenção das colônias, não teria sido possível executar grande parte deste ciclo de pesquisas.

SUMMARY

This paper deals with the cycle of cytogenetical researches on the Triatominae ("Kissing bugs") since 1948. It has been described the caryotypes and the problems of the multiple sex chromosomes, the existence in some species of the heteropycnosis of some autosomes and considered its significance in isolating mechanism in evolution. The chronology of the synthesis of DNA along the stages in the testicular tubes has been analyzed by autoradiography and cytometry. The significance of the differences in the number and relative sizes of the testicular tubules has been analyzed as taxonomic character.

Part of these researches has been dedicated to the cytogenetic study of the male sterility of the interspecific hybrids.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOGLIOLO, A.R. & SCHREIBER, G. — Variabilidade da heteropiconose de autossomos na meiose de *Triatoma infestans* (Hemiptera). *Ciência e Cultura*, 23 (Suplemento): 426-427, 1971.
2. ESPINOLA, H. & SCHREIBER, G. — Duas gerações de um mutante cromático em *Panstrongylus megistus* (BURMEISTER, 1835). (*Hemiptera: Reduviidae*). *Ciência e Cultura*, 11: 129, 1959.
3. PENALVA DA SILVA, F. & SCHREIBER, G. — Morphology of spermatogenic tubes as taxonomic character in *Triatominae* (Reduv. Hemipt.). *Rev. Bras. de Biol.*, 29: 97-102, 1969.
4. SCHREIBER, G. — Introduction to to item 3rd of the agenda for the "Scientific Group on Cytogenetics of Vectors of Disease of Man" (Spermatogenesis). W.H.O. — Geneva 1967.
5. SCHREIBER, G. — Evolução do conteúdo em DNA por núcleo. *Ciência e Cultura*, 24: 428-431, 1972.
6. SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J. — Cytogenetical studies on Brazilian Hemiptera. *Hereditas*: 656, 1949. (VIIIth International Congress of Genetics — Stockholm 1948).
7. SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J. — Eteropiconosi di autossomi come possibile meccanismo di speciazione. *Scintia Genetica*, 3: 215-226, 1950.
8. SCHREIBER, G. & PELLEGRINO, J. — Análise citológica e cariométrica da ação da colchicina sobre a espermatogênese dos hemípteros. *Rev. Bras. de Biologia*, 9: 519-529, 1949. *Mem. do Inst. Oswaldo Cruz*, 49: 513-542, 1951.
9. SCHREIBER, G., PENALVA DA SILVA, F., RESENDE, E. S., CAVENAGHI, T.M. & CARVALHO, H.C. — DNA synthesis in the spermatogenesis of triatomids. *Working Paper for the Scientific Group on Cytogenetic of Vectors of Disease of Man. Item 3rd. Spermatogenesis*. W.H.O. — Geneva, 1967.

10. SCHREIBER, G., PENALVA DA SILVA, F. & CARVALHO, H.C. — The comparative morphology of spermatogenic tubes as taxonomic character in *Triatominae* (Reduv. Hemipt.). *Working Paper* for the Scientific Group on Cytogenetics of Vectors of Disease of Man. W.H.O. — Geneva 1967.
11. SCHREIBER, G., CARVALHO, H.C. & ESPINOLA, H.N. — Genetics of *Triatoma* and other vector species. Capítulo 14 do livro: "Genetics of Vector Insects": 441-456, 1967. Edited by J.W. Wright and R. Pal. Elsevier, Amsterdam, 1967.
12. SCHREIBER, G., PENALVA DA SILVA, F., RESENDE, E.S., CAVENAGHI, T.M. & CARVALHO, H.C. — DNA synthesis in the spermatogenesis of Triatomids. *Rev. Bras. de Pesq. Méd. e Biol.*, 1: 245-252, 1968.
13. SCHREIBER, G., LAVALLE, D., CAVENAGHI, T.M.C.M., AMORIM, F. M. O., PINHO, A.C. & LAUAR, N.S. — Novos dados sobre teor em DNA per núcleo na série animal. (Apresentado no Congresso de Zoologia, São Paulo, 1972.) (no prélo)
14. SCHREIBER, G., BOGLIOLO, A.R. & PINHO, A.C. — Cytogenetics of *Triatominae*. Caryotype, DNA content, nuclear size and heteropyknosis of autosomes. *Rev. Bras. de Biol.*, 32: 255-263, 1972.
15. SCHREIBER, G., PINHO, A.C. PARENTONI, R. SALGADO, A.A. & GODOY JR., T.L. — Cytogenetics of *Triatominae*: II.º Spermatogenesis in hybrid between *Triatoma infestans* and *Triatoma pseudomaculata*. *Rev. Bras. de Biol.*, 1973 (no prélo).
16. WRIGHT, J.W. & R. PAL, — (Ed.) Genetics of Insect Vectors of Diseases. Elsevier Publ. Cy. Amsterdam: 1: 749, 1967.