



ARTÍCULO ORIGINAL/ ORIGINAL ARTICLE

CROMOSOMAS HETEROCROMÁTICOS EN *TRITOMA INFESTANS* (KLUG, 1834) DEL SUR DE PERÚ

HETEROCHROMATIC CHROMOSOMES IN *TRITOMA INFESTANS* (KLUG, 1834) IN THE SOUTH OF PERU

Yenny del Rosario Guevara¹, Olga Bracamonte² & Misael Guevara

Laboratorio de Citogenética. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Casilla 11-058, Lima 11, Perú. Tel.: +51 6 197000 – 1529; fax: +51 6 197000 – 1509.

Correo electrónico:¹jyendelrosguevara@gmail.com ²obracamonteg@hotmail.com

The Biologist (Lima) 9(1):98-104.

ABSTRACT

Heterochromatic regions in triatomines chromosomes that include heterochromatin's quantity, distribution, nature and behavior have allowed finding a wide intra and interpopulation variation. *Triatoma infestans* (Klug, 1834), has relatively huge blocks of heterochromatin in some of its chromosomal pairs; three clearly different chromosomal groups have been identified for this specie nowadays at South America. Thus, we have the nominated “andean” group (composed of individuals from Peruvian and Bolivian Andean regions) which has between 14 and 20 heterochromatic chromosomes; the “not andean” group (populations from Argentina, Paraguay, Brazil, Uruguay and Bolivian Chaco) which has from 4 to 7 heterochromatic chromosomes; the “Intermiddle” group at the north extreme of Argentina (Salvador Mazza, Salta province) and southern Bolivia (Tarija department) which has from 7 to 11 heterochromatic chromosomes. The aim of this study was to identify the presence of heterochromatic chromosomes at two population samples of *T. infestans* from southern Peru regions to identify the genomic group where they belong to. Squash technique and banding C staining of Sumner, modified by Panzera were used with male individuals from Santa Rita de Sigua (Arequipa) and Nazca (Ica) locations. “Andean” heterochromatic chromosomes with “not andean” group particularities have been found at individuals from both locations.

Keywords: Heterochromatic, Chromosomes, andean, no andean, south of Peru.

RESUMEN

Las regiones heterocromáticas en los cromosomas de los triatominos donde se incluyen cantidad, distribución, naturaleza y comportamiento de la heterocromatina, han permitido encontrar una extensa variación intra e inter poblacional. *Triatoma infestans* (Klug, 1834) tiene bloques heterocromáticos relativamente grandes en algunos de sus pares cromosómicos. Actualmente en Sudamérica se han identificado tres grupos cromosómicos para esta especie, claramente diferentes. Así tenemos el grupo “andino” (individuos de las localidades andinas de Bolivia y Perú) que posee entre 14 y 20 cromosomas heterocromáticos, el grupo “no-andino” (poblaciones de Argentina, Paraguay, Brasil, Uruguay y Chaco boliviano) que presenta entre 4 a 7 cromosomas heterocromáticos, el grupo “intermedio” en el extremo norte de Argentina (Salvador Mazza, Provincia de Salta) y el sur de Bolivia (Departamento de Tarija) con 7 a 11.

cromosomas heterocromáticos. El objetivo del presente estudio fue ubicar los cromosomas heterocromáticos en dos muestras poblacionales de *T. infestans* del sur de Perú para identificar el grupo genómico al cual pertenecen. Se utilizó la técnica de aplastado y coloración del bandeado “C” de Sumner modificada por Panzera, en individuos machos de las localidades de Santa Rita de Siguan (Arequipa) y Nazca (Ica), Perú. Se encontró que los individuos de ambas localidades presentan cromosomas heterocromáticos de tipo “andino” con particularidades de “no-andino”.

Palabras clave: Heterocromáticos, Cromosomas, andino, no-andino, sur de Perú.

INTRODUCCIÓN

Triatoma infestans (Klug, 1834), conocido comúnmente en Perú con el nombre de “Chirimacha” en el vocablo quechua “borracho por el frío”, pertenece a la subfamilia Triatominae (Lent & Wygodzinsky 1979, Chávez 2006). En esta subfamilia la mayoría de los insectos son “vectores potenciales” de la enfermedad de Chagas, esto debido a la presencia del parásito en el intestino del vector (Dujardin *et al.* 2002, Alzogaray 2003).

Como consecuencia de los análisis citogenéticos en esta subfamilia se ha encontrado la existencia de distintos linajes. La técnica de bandeado cromosómico ha sido muy útil para el análisis detallado del comportamiento de los cromosomas, se ha encontrado que la heterocromatina C autosómica ha sido observada en cuatro géneros de los Triatominae. Así, tenemos que dentro del género *Triatoma*, *T. infestans*, presenta grandes bloques de heterocromatina localizados en uno o en ambos extremos cromosómicos (Dujardin *et al.* 2002).

En *T. infestans*, la presencia de diferentes patrones de ubicación de los bloques heterocromáticos ha permitido clasificar a las poblaciones en tres grupos, el denominado genoma “andino” (individuos de localidades andinas de Bolivia y Perú) que posee entre 14 y 20 cromosomas heterocromáticos y ambos

sexuales, genoma “no-andino” (poblaciones de Argentina, Paraguay, Brasil, Uruguay y Chaco boliviano) posee de 4 a 7 cromosomas heterocromáticos, el cromosoma Y heterocromático y el X eucromático, y un tercer grupo denominado genoma “Intermedio” localizado en un área bastante restringida y delimitada geográficamente ubicada entre el extremo norte de Argentina (Salvador Mazza, Provincia de Salta) y el sur de Bolivia (Departamento de Tarija) que posee entre 7 y 11 cromosomas heterocromáticos y los sexuales iguales al grupo “no-andino” (Panzera *et al.* 2007).

El patrón de bandas que presentan los diferentes grupos poblacionales de individuos de *T. infestans*, considerando el bloque heterocromático como marcador diferencial muestra variantes en cuanto a cantidad, distribución, naturaleza y comportamiento de la heterocromatina. Así tenemos que la primera referencia evidenciada de polimorfismo cromosómico intraespecífico, manifestado en el tamaño de bandas en poblaciones naturales fue observado en *T. infestans* en Uruguay (Panzera *et al.* 1992).

El objetivo del presente estudio fue visualizar la presencia de cromosomas heterocromáticos en dos muestras poblacionales de *T. infestans* del sur de Perú, en Santa Rita de Siguan (Arequipa) y Nazca (Ica), Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron individuos machos adultos de *T. infestans*, en las localidades de Santa Rita de Siguan (Arequipa) 1268 msnm (Fig. 1), y Nazca (Ica) 588 msnm, Perú (Fig. 2), en los meses de mayo y junio del 2009.



Figura 1. Ejemplar macho de Santa Rita de Siguan, Arequipa.



Figura 2. Ejemplar macho de Nazca, Ica.

Se realizó la disección directa de las gónadas a siete individuos por cada población, las que fueron colocadas en una solución fijadora de Farmer (Ácido acético glacial: alcohol absoluto 3:1) y llevadas a refrigeración a -4°C , para su conservación en frascos de 3 mL. La disección se realizó con ayuda de un microscopio estereoscópico (marca Nikon, Yokohama, Japón®).

Se procedió luego a trozar la gónada en segmentos pequeños y colocándolas en ácido acético al 50%; enseguida en el segmento pequeño seleccionado se aplicó la técnica del aplastado “squash” y se llevaron las láminas sin colorante al microscopio de contraste de fases. Las mejores muestras pasaron por nitrógeno líquido para retirar las laminillas del porta objeto. Una vez seleccionadas las mejores muestras se procedió a aplicar la técnica de coloración de bandeó “C” (Sumner 1972) modificada por Panzera *et al.* (1992), para lo cual en un vaso Couplin se introdujeron las láminas en HCl 1N durante 15 min, lavado en agua destilada, posteriormente se colocaron las láminas en hidróxido de bario octohidratado durante 10 min a temperatura ambiente y luego del lavado en abundante agua destilada se incluyeron en solución salina citratada (SCC) a 60°C , durante 20 min y lavado en agua destilada.

La coloración se realizó con Giemsa 1mL de la solución madre en 50mL de agua destilada por 2 min, se observó al microscopio y enseguida se hizo el montaje definitivo de las láminas.

El análisis cromosómico, para detectar la magnitud de las bandas heterocromáticas, ha sido realizado por observación microscópica directa, y los datos han sido consolidados en las tablas correspondientes.

RESULTADOS

La población de Santa Rita de Siguan-Arequipa, presenta 22 cromosomas, 20 autosómicos y un par sexual (Fig. 3).

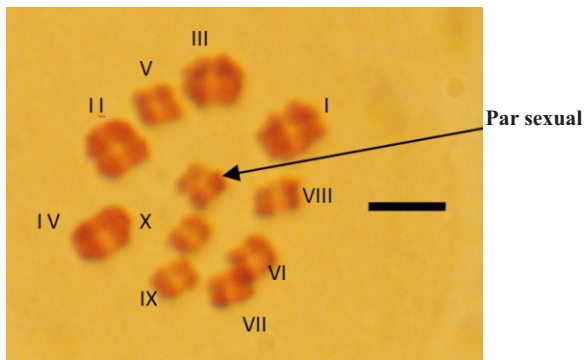


Figura 3. Placa metafísica donde se observan los 22 cromosomas, los sexuales de ubicación central. Barra = 0,8 μ.

La especie en estudio *T. infestans*, se caracteriza por presentar cromosomas holocinéticos, donde el centrómero es difuso, a pesar de no presentar centrómero marcado se ha podido detectar que formarían un cromocentro durante la profase meiótica, asociando las bandas heterocromáticas de los cromosomas (Fig. 4).

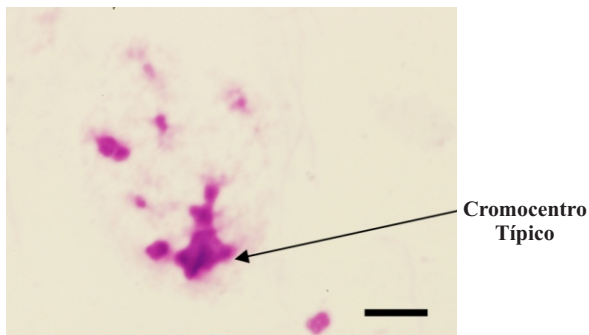


Figura 4. Cromocentro característico de *T. infestans*, que asociaría las bandas heterocromáticas. Barra = 0,8 μ.

Los autosomas se caracterizan por presentar bloques de heterocromatina de posición telomérica, característicos de la población “andina” (Panzera et al. 2004). En esta población se evidenció la presencia de los cromosomas clasificados de tipo A, B y C. Los de tipo A se caracterizan por presentar una sola banda heterocromática en uno de los extremos del cromosoma, los cromosomas tipo B, presentan dos bandas heterocromáticas, una en cada extremo del

cromosoma y los cromosomas de tipo C carecen de bandas heterocromáticas. Los cromosomas sexuales se caracterizan por presentar una heterocromatización diferencial, para X e Y heterocromáticos C positivos. En los cromosomas autosómicos de esta población se evidencia la presencia de bandas intersticiales, las cuales se observan en los cromosomas clasificados de tipo C. Este tipo de banda no es considerada dentro de la clasificación de genoma “andino” y “no-andino” (Fig. 5).

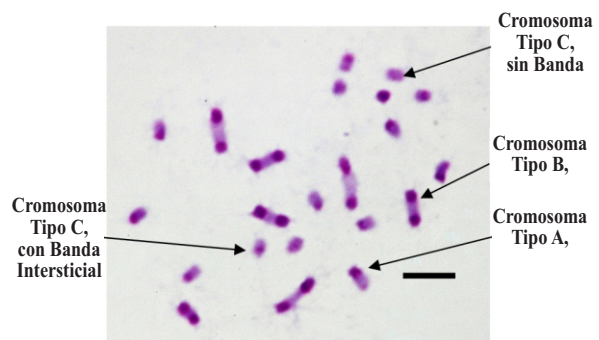


Figura 5. Placa metafísica donde se observan los diferentes tipos de cromosomas Tipo A, Tipo B, Tipo C y C con banda intersticial. Barra = 0,8 μ.

El análisis de las bandas heterocromáticas efectuado en ejemplares de Santa Rita de Siguan, pone de manifiesto que los cromosomas de tipo A se presentan en un 60% y los de tipo B en: 40% del total de cromosomas de la muestra evaluada. Los cromosomas de tipo C por no ser considerados para la clasificación de genoma andino y no-andino, no se contabilizan. El análisis individual puede ser observado en la tabla adjunta (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de bandas heterocromáticas por individuo de *T. infestans*. Ejemplares de Santa Rita de Siguan, Arequipa, Perú.

Individuo	Tipo de cromosoma	1	2	3	4	5	6	7
	A	10	9	8	8	9	10	9
	B	5	6	6	7	6	5	7
	C(con banda)				3			3
Total		15	15	14	15	15	15	16

En el análisis poblacional efectuado en los ejemplares de Santa Rita de Sigüas se ha observado cromosomas de tipo A en una proporción del 60%, encontrándose cromosomas de tipo B en una proporción de 40%. Estos cromosomas involucran a distintos pares cromosómicos (Tabla 2).

La población de Nazca presenta el mismo número cromosómico que la anterior, $2N=22$, 20 autosómicos y un par sexual. Los autosomas se caracterizan por presentar bloques de heterocromatina teloméricas características de la población “andina” (Panzera *et al.* 2004). Al igual que en la población anterior, se visualiza la presencia de bandas intersticiales en los cromosomas autosómicos de tipo C (Fig. 6).

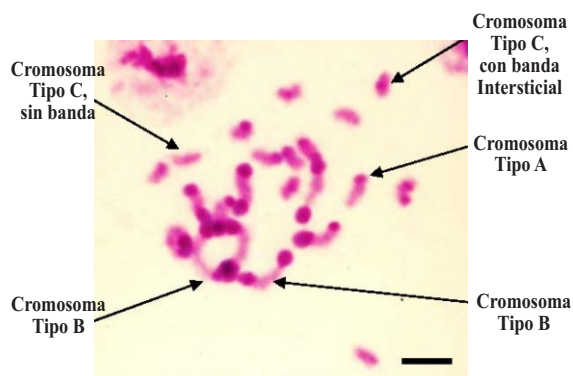


Figura 6. Placa metafásica donde se observan los diferentes tipos de cromosomas. Tipo A, Tipo B, Tipo C y C con banda intersticial en *T. infestans*. Barra = 0,8 μ .

Para la población de Nazca, el análisis de las bandas heterocromáticas efectuado en individuos, pone de manifiesto que los cromosomas de tipo A se presentan en una proporción de 53,57%, encontrándose cromosomas de tipo B en una proporción de 46,43% y los de tipo C en número muy reducido, los cuales por no poseer bandas heterocromáticas teloméricas no son considerados en la clasificación del genoma andino y no andino.

Estos cromosomas involucran a distintos pares cromosómicos (Tabla 4).

En ambas muestras poblacionales, se encontró en promedio de 15 a 16 cromosomas autosómicos que presentan bandas heterocromáticas de tipo A y B que los clasifican dentro del genoma de tipo “andino”. Los cromosomas de tipo C no presentan banda telomérica; sin embargo en ellos se visualiza las bandas de tipo intersticial. Este tipo de banda no está considerada en la clasificación de “andino” y “no-andino”. El cromosoma X para ambas localidades se presenta heterocromatizado, característico de las poblaciones con genoma tipo “andino”.

La proporción de cromosomas heterocromáticos en *T. infestans*, es la primera evidencia de cromosomas heterocromáticos en individuos de zona costera de sur de Perú.

DISCUSIÓN

Aplicando la técnica del bandeado “C”, se clasificó como grupo “andino” a aquellos individuos que presentan entre 14 a 20 cromosomas autosómicos heterocromáticos, así mismo para ambos cromosomas sexuales. Esta denominación fue establecida por Panzera *et al.* (2004) al analizar diversas poblaciones de *T. infestans* en Sudamérica.

Confirmando la clasificación de cromosomas de grupo “andino”, las poblaciones costeras de Santa Rita de Sigüas (Arequipa) y Nazca (Ica), presentan en promedio de 15 a 16 cromosomas con bandas heterocromáticas por individuo, para ambas localidades, y tanto el Cromosoma X como el Y, heterocromatizados. Por lo cual nos permite ubicarlas dentro de las poblaciones pertenecientes al grupo “andino” (Panzera *et al.* 2004).

Hasta el presente la heterocromatina C autosómica ha sido observada en cuatro géneros de Triatominae: *Mepraia*, *Pastrongylus*, *Rhodnius* y *Triatoma*.

Se ha encontrado que la cantidad de cromosomas heterocromáticos varía entre 0% en *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843), especie que se distribuye en Argentina y Uruguay, y 45% en *Triatoma delpontei* Romaña & Abalos, 1947, exclusivamente Argentina. Solo se ha evidenciado en un par cromosómico como en *Triatoma pseudomaculata* Correa & Espindola, 1964 (Brasil), dos pares en *Triatoma nitida* Usinger, 1939 (Centroamérica), tres pares en *Triatoma melanosoma* Lent, Jurberg, Galvao & Carvalho, 1944 (Argentina) y en los 10 pares de autosomas como en *T. delpontei* y *Mepraia spinolai* Porter, 1934 (Chile). En general se localiza en los extremos cromosómicos, pudiendo estar en uno solo de éstos como en *T. delpontei* ó en ambos extremos del cromosoma (*M. spinolai*). Excepcionalmente se observan bandas intersticiales, como en *Triatoma patagonica* Del Ponte, 1929 (Argentina) siendo una característica específica y diferencial de esta especie (Dujardin *et al.* 2002).

Los individuos costeros de Santa Rita de Sigvas (Arequipa) y Nazca (Ica), además de presentar cromosomas heterocromáticos clasificados como grupo “andino” tienen la

intersticial, las cuales han sido descritas de manera diferencial y específica en *T. patagonica* (Dujardin *et al.* 2002) distribuidos al sur de Argentina y clasificados dentro del grupo “no -andino”.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC), por el apoyo económico brindado para el viaje a la ciudad de Montevideo, Uruguay. A Francisco Panzera de la Universidad de Ciencias, Montevideo, Uruguay, por brindarme el asesoramiento práctico y teórico en el Laboratorio de Genética de Chagas. A Fernando Málaga, jefe del Programa de Vigilancia y Control vectorial a través de la OPS y el estado peruano, Ministerio de Salud (MINSA), Arequipa-Perú, por su apoyo en la colecta de las muestras realizadas en la localidad de Santa Rita de Sigvas. A Guadalupe Huamán, del Hospital Regional Nazca, por su ayuda en la colecta de muestras en la zona de Los Jardines, ciudad de Nazca.

Tabla 2. Muestra poblacional de ejemplares de Santa Rita de Sigvas - Arequipa - Perú. Se muestra en número y ubicación de bandas heterocromáticas de los diferentes tipos, localizadas en los diferentes pares autosómicos.

Tipo de cromosoma	Pares Autosómicos										Sexuales	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	X	Y
A			2	12	14	14	12	8	1			
B	14	14	12	2								
C(total)							2	6	13	14		

Tabla 3. Cantidad de bandas heterocromáticas por individuo de *T. infestans*. Ejemplares de Nazca, Ica, Perú.

Individuo	Tipo de cromosoma	1	2	3	4	5	6	7
	A	9	10	7	8	8	9	9
	B	7	8	8	9	7	6	7
	C (con banda)		2		2	3		2
Total		16	18	15	17	15	15	16

Tabla 4. Muestra poblacional de ejemplares de Nazca, Ica, Perú. Se muestra el número y ubicación de bandas heterocromáticas de los diferentes tipos, localizadas en los diferentes pares autosómicos.

Tipo de cromosoma	Pares Autosómicos										Sexuales	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	X	Y
A				5	13	14	14	11	3			
B	14	14	14	9	1							
C (total)								3	11	14		

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzogaray, R. 2003.** El control químico de *Triatoma infestans* en Argentina. Revista de Toxicología en línea Retel 9, 1-18. en <http://www.sertox.com.ar/retel/n09/02.pdf> leído el 15 de enero del 2011.
- Chávez, J. 2006.** Contribución al estudio de los triatominos del Perú: Distribución geográfica, nomenclatura y notas taxonómicas. Anales de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 67: 65-76.
- Dujardin, J. P.; Schofield, C.J. & Panzera, F. 2002.** Los Vectores de la enfermedad de Chagas. Academie Royale des Sciences D'Outre-Mer. Memoire Classe des Sciences naturelles et médicales in-8° Nouvelle Série, Tome 25, fas. 3, Bruselas. 189 p.
- Lent, H. & Wygodzinsky, P. 1979.** Revision of the Triatominae (hemiptera, reduviidae), and their significance as vectors of chagas' disease. Bulletin of the American Museum of Natural History, 163: 123-520.
- Panzera, F.; Alvarez, F.; Sanchez - Rufas, J.; Pérez, R.; Suja, A. J.; Scvortzoff, E.; Dujardin, J.P.; Estramil, E. & Salvatella, R. 1992.** C - Heterocromatin polymorphism in holocentric chromosomes of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Genome, 35: 1068-1074.
- Panzera, F.; Dujardin, J.P.; Nicolini, P.; Caraccio, M.N.; Rose, V.; Téllez, T.; Bermúdez, H.; Bargues, M.D.; Mas-Comas, S.; O'Connor, J.E. & Pérez. 2004.** Genomic changes of Chagas disease vector, South America. Emerging Infectious Diseases, 10: 438-446.

Panzer, F.; Pérez, R.; Lucero, C.; Ferrandis, I.; Ferreiro, M.J.; Calleros, L. & Romero, V. 2007. *Cambios genómicos en la subfamilia Triatominae, con énfasis en Triatoma infestans.* Libro Triatominos de Bolivia y la enfermedad de Chagas. Cap 6, pp. 80 - 104. Ed. Ministerio de Salud y Deporte. Programa Nacional de Chagas. La Paz - Bolivia.

Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75:304-306.

Fecha de recepción: 09 de marzo del 2011.

Fecha de aceptación: 10 de abril del 2011.