

Parámetros biológicos de *Meccus phyllosomus*, *Meccus mazzottii* y sus híbridos de laboratorio

Biological parameters of Meccus phyllosomus, Meccus mazzottii and laboratory bred-hybrids

Juan Martín Chávez-Contreras¹, Felipe de Jesús De la Torre-Álvarez¹, José de Jesús Cárdenas-Barón¹, Erik Miguel Aguilar-López¹, Luis Eduardo Jiménez-Íñiguez¹ & José Alejandro Martínez-Ibarra^{2*}

RESUMEN

Se reportan datos sobre el ciclo de vida, número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal, mortalidad y el porcentaje de hembras de híbridos de *M. phyllosomus* x *M. mazzottii* en comparación con cohortes "puras" de *M. phyllosomus* (Burmeister) y *M. mazzottii* (Usinger). El ciclo de vida fue significativamente ($P < 0,05$) más corto en las dos cohortes híbridas, respecto de las parentales. En contraste, no se registraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre cohortes en el número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal. El porcentaje de mortalidad (41.8%) de la cohorte parental de *M. phyllosomus* fue significativamente ($P < 0,05$) mayor que los de las tres cohortes restantes. El porcentaje de hembras fue similar ($P > 0,05$) entre las cuatro cohortes bajo estudio.

Palabras clave: Biología, híbridos, *Meccus phyllosomus*, *Meccus mazzottii*, México.

En México la enfermedad de Chagas es considerada una de las principales enfermedades transmitidas por vectores, dado que se calcula que 1,5 millones de habitantes están infectados con *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) y que el incremento anual en el número de personas infectadas alcanza los 70 000 casos. El estado de Oaxaca (en el sur de México), con más de 84 000 casos (aprox. 3% de los habitantes) es considerado la octava entidad con más casos de tripanosomiasis de este país, ubicados mayoritariamente en las zonas rurales (Ramsey, *et al.* 2003. Actualidades sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas en México. En: *Iniciativa para la vigilancia y el control de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana.*

SUMMARY

Data is reported about life cycle, number of blood meal to molt to next instar, mortality and percentage of females on hybrids from crosses of *M. phyllosomus* x *M. mazzottii* compared to "pure" cohorts of *M. phyllosomus* (Burmeister) and *M. mazzottii* (Usinger). Recorded life cycle was significantly ($P < 0,05$) shorter in both hybrids cohorts with respect to the two parental ones. In contrast, non significant ($P > 0,05$) differences were recorded in the number of blood meals to molt to next instar when the four studied cohorts were compared. Mortality percentage (41.8%) on the parental cohort of *M. phyllosomus* was significantly ($P < 0,05$) higher than those in the three other studied cohorts. Female percentage was similar ($P > 0,05$) when the four studied cohorts were compared.

Key words: Biology, hybrids, *Meccus phyllosomus*, *Meccus mazzottii*, Mexico.

Eds. Ramsey *et al.* 1a Ed: 85-103. Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, México). Dentro de esta entidad federativa, la Región del Istmo de Tehuantepec [SEGOB (Secretaría de Gobernación) (2010). *Enciclopedia de los Municipios de México*. Documento en Línea. Disponible en http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/ELOC_Enciclopedia (Consultado: 2012, Noviembre, 15)] es una de las más epidemiológicamente importantes por la enfermedad de Chagas, ya que se han registrado casos autóctonos de cardiomiopatía dilatada asociada con infección diagnosticada de *T. cruzi* (Moreno-López *et al.*, 2001. *Arch. Cardiol. Mex.* **71**: 43-49). Refuerza igualmente esta consideración el hecho de haberse recolectado en el área ejemplares de *M. phyllosomus* (Burmeister),

¹ Carrera de Medicina, ² Área de Entomología Médica, Centro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara, Ciudad Guzmán, Jalisco, México.

*Autor de correspondencia: aibarra@cusur.udg.mx

1835 y de *M. mazzottii* (Usinger), 1941 (Benítez-Alva *et al.*, 2012. *BIOCYT*. **5**: 327-340), considerados eficientes vectores de *T. cruzi* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2006. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **101**: 787-794). Para los ejemplares recientemente recolectados de *M. phyllosomus* se han reportado porcentajes de infección por *T. cruzi* cercanos a 40% (Villalobos *et al.*, 2011. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **85**: 490-497) y de 62% en el caso de *M. mazzottii* (Benítez-Alva *et al.*, 2012. *Op. cit.*), lo que incrementa la importancia de los estudios sobre vectores de esta área. En un estudio reciente (Martínez-Ibarra *et al.*, 2011. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **106**: 293-300) se reporta la obtención en laboratorio de híbridos fértiles de *M. phyllosomus* x *M. mazzottii* (documentado por dos generaciones, F1 y F2), lo que, de estar sucediendo bajo condiciones naturales, podría significar la presencia de vectores más capaces (que las especies parentales), por ejemplo, de invadir los domicilios humanos, como se ha reportado que sucede con los híbridos de *Triatoma sherlocki* x *T. juazeirensis* en Brasil (Almeida *et al.*, 2012. *Acta Trop.* **122**: 71-79) o de tener resistencia a insecticidas, como los híbridos de *T. infestans* x *T. platensis* en Argentina (Mas-Coma & Bargues, 2009. *Acta Trop.* **110**: 112-136). En consecuencia, como parte de una serie de estudios sobre la biología de los triatóminos mexicanos se realizó una investigación con la finalidad de averiguar sobre diversos parámetros biológicos de los híbridos de *M. phyllosomus* x *M. mazzottii*, en condiciones de laboratorio.

Material biológico (Triatóminos)

Para iniciar el estudio se recolectaron 39 ejemplares silvestres de *M. phyllosomus* (Burmeister), 1835, y 32 de *M. mazzottii* (Usinger), 1941, de la Región Istmo de Tehuantepec en Oaxaca. Los ejemplares de *M. phyllosomus* fueron recolectados en Santo Domingo Tehuantepec (95° 25' W, 16° 17' N) en tanto que los de *M. mazzottii* procedían de San Pedro Huamelula (95° 40' W, 16° 01' N) (60 km al oeste de Santo Domingo Tehuantepec); en ninguna de las localidades de recolecta o en las aledañas se reporta simpatria entre *M. phyllosomus* y *M. mazzottii* (Benítez-Alva *et al.*, 2012. *Op. cit.*). Se identificaron los ejemplares mediante las claves de uso más común (Lent & Wygodzinsky, 1979. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **163**: 123-520), tomando en cuenta la revalidación del género *Meccus* (Carcavallo *et al.*, 2000. *Entomol. Vect.* **7**: 79-82.), la cual aceptamos los autores como

establecida con argumentos válidos. Con el apoyo de personal investigador de la Universidad Nacional Autónoma de México se analizaron molecularmente muestras de cada población (cinco ejemplares) mediante ITS-2 y mtCytB, ello con la finalidad de conocer su adecuada ubicación taxonómica (Martínez-Hernández *et al.*, 2006. *Mol. Phylogenet. Evol.* **41**: 279-287).

Establecimiento de colonias

Posteriormente se inició con la cría de ejemplares por especie, bajo condiciones controladas de temperatura de 27 \pm 1°C, humedad relativa (hr) de 75 \pm 5% y fotoperiodo de 12:12 horas, por ser condiciones favorables para su cría (Martínez-Ibarra *et al.*, 2006. *Op. cit.*). Se les alimentó semanalmente sobre conejos Nueva Zelanda previamente anestesiados, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Documento en Línea. Disponible en: fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.pdf (Consultado. 2012, Noviembre 15).

Se obtuvieron tres generaciones por colonia con la intención de verificar la "pureza" (individuos no híbridos) de las mismas, mediante la revisión del fenotipo de la progenie, el cual se consideró "puro" cuando las características fenotípicas de la progenie (F1, F2 y F3) coincidían con las enlistadas en las claves de uso común (Lent & Wygodzinsky, 1979. *Op. cit.*). Este método se basa en un estudio realizado anteriormente (Martínez-Ibarra *et al.*, 2011. *Op. cit.*) de cruas interespecíficas entre miembros del género *Meccus*. Cada ejemplar de la tercera generación fue separado al llegar a quinto estadio y agrupado por sexo con los ejemplares de la colonia de su especie, con la finalidad de tener ejemplares vírgenes al llegar éstos a adultos.

Entrecruzamientos

Obtenidos los ejemplares vírgenes, se realizaron 20 cruas interespecíficas y 20 intraespecíficas, como se detalla: Cohorte A, 10 cruas individuales de ♀*M. phyllosomus* x ♂*M. mazzottii*; cohorte B, 10 cruas de ♂*M. phyllosomus* x ♀*M. mazzottii*; cohorte C, 10 cruas de ♀*M.*

phyllosomus x ♂*M. phyllosomus*; cohorte D, 10 cruza de ♀*M. mazzottii* x ♂*M. mazzottii*. Los huevos fueron agrupados por día de oviposición de acuerdo a la cohorte de cruza, hasta obtener 200 por cada una.

Crianza de triatóminos y obtención de los parámetros biológicos

Se procedió a incubarlos hasta obtener las ninfas de primer estadio (la cantidad que emergiese de los 200 huevos), las cuales fueron marcadas individualmente con marcador indeleble y separadas en grupos de 10 (de acuerdo con su fecha de nacimiento) en recipientes de plástico transparente (10 cm altura x 5 cm base) y mantenidas en cámaras climáticas bajo las condiciones de laboratorio anteriormente descritas. Se les alimentó tres días post nacimiento y posteriormente la oferta del alimento sanguíneo fue semanal. Se les revisó diariamente, con la finalidad de registrar cambios de estadio o decesos. Con los datos obtenidos se estimó el ciclo de vida por ejemplar, desde huevo hasta adulto, así como el número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal, la mortalidad total y el número de hembras obtenido al final de cada ciclo biológico estudiado. El análisis de las variables se realizó mediante una prueba de t de Student o análisis de varianza (ANOVA). Para ANOVA se realizaron comparaciones post hoc mediante el análisis de Scheffé.

Descripción y discusión de los resultados obtenidos

El ciclo de vida de las cuatro cohortes bajo estudio varió significativamente ($P < 0,05$) entre las

dos cohortes híbridas respecto de las dos parentales, no encontrándose diferencias ($P > 0,05$) entre las dos híbridas ni entre las dos parentales. El número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal varió de 6,8 en la cohorte C (*M. phyllosomus*) a 11,4 en la cohorte B (híbrida), sin embargo, las diferencias no fueron significativas ($P > 0,05$). El porcentaje de mortalidad fue significativamente ($P < 0,05$) superior en la cohorte C respecto de las otras tres cohortes bajo estudio. El porcentaje de hembras fue similar ($P > 0,05$) entre las cuatro cohortes (Tabla I).

El ciclo de vida de las cohortes bajo estudio varió de alrededor de 6,5 a 7,5 meses, lo que indica que se trata de ciclos cortos, similares a los de *T. protracta protracta* (Uhler, 1894) (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012a. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 107: 659-663) y los de dos especies filogenéticamente cercanas a ambas especies parentales, *M. pallidipennis* (Usinger, 1939) (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012b. *J. Vect. Ecol.* 37: 1-9) y *M. longipennis* (Usinger, 1939) (Martínez-Ibarra *et al.*, 2013. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 108: 239-242). Se registraron ciclos más cortos en las cohortes de híbridos respecto de las parentales (similares entre sí), lo que representa la presencia de hembras en menor tiempo, lo que a su vez genera un potencial riesgo de tener una mayor abundancia ejemplares y por ende, un mayor riesgo potencial de transmisión de *T. cruzi*. Los dos promedios mayores de número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal fueron los de las dos cohortes de híbridos, lo que igualmente significa un mayor riesgo de transmisión de *T. cruzi* a los reservorios, dado que mayor número de alimentaciones significa mayor número de contactos vector-hospedero, con el resultante

Tabla I. Ciclo de vida, número de repastos sanguíneos para mudar de estadio ninfal, mortalidad y porcentaje de hembras de *M. phyllosomus*, *M. mazzottii* y de híbridos de ambas especies.

	Híbridos		<i>M. phyllosomus</i>	<i>M. mazzottii</i>
	♀Mp x ♂Mm (n = 140)	♂Mp x ♀Mm (n = 142)		
Ciclo de vida	194,6±22,7 ^a	191,9±19,4 ^a	211,8±19,7 ^b	213,7±19,9 ^b
Alimentaciones sanguíneas	10, 3±1,5 ^a	11,4±1,7 ^a	6,8±1,4 ^a	9,8±1,9 ^a
Mortalidad (%)	20,4 ^a	21,7 ^a	41,6 ^b	25,8 ^a
Hembras (%)	51,4 ^a	52,8 ^a	52,6 ^a	50,3 ^a

Mp= *Meccus phyllosomus*; Mm= *Meccus mazzottii*

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

aumento en el riesgo de defecación del triatominos sobre el hospedero (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012b. *Op. cit.*). La mortalidad fue baja (inferior a 26%) en ambas cohortes de híbridos y en la parental de *M. mazzottii*, similar a *M. pallidipennis* de tres diferentes regiones de México (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012b. *Op. cit.*), especie considerada como de los vectores más importantes de *T. cruzi* en México (Ramsey *et al.*, 2003. *Op. cit.*). La baja mortalidad representa una desventaja epidemiológica, dado que una menor mortalidad significa mayor número de triatóminos potencialmente infectantes hacia los humanos. El porcentaje de hembras fue de alrededor de 50%, lo que es común entre las especies de triatóminos (Martínez-Ibarra *et al.*, 2012a, 2013. *Op. cit.*). Al parecer, este parámetro no se vio influenciado por la realización de cruza interespecíficas, pues fue muy similar entre las cuatro cohortes estudiadas.

Si bien en ninguno de los dos estudios recientes (Villalobos *et al.*, 2011. *Op. cit.*, Benítez-Alva *et al.*, 2012. *Op. cit.*) realizados en la Región Istmo sobre presencia de triatóminos se ha reportado la presencia de híbridos de *M. phyllosomus* x *M. mazzottii*, ello es explicable por el hecho de que los híbridos de la cruce de estas dos especies son morfológicamente similares a *M. mazzottii* (Martínez-Ibarra *et al.*, 2006. *Op. cit.*), por lo que los individuos identificados como *M. mazzottii* en los citados estudios quizá eran híbridos, dado que no se hizo en ellos análisis de progenie para conocer su “pureza”.

Los resultados obtenidos sugieren la presencia de vigor híbrido en los individuos estudiados, entendido éste como “la superioridad de los híbridos sobre el mejor parental en una o más características”; en otras palabras, que el híbrido tiene mayor aptitud para desarrollar en alto grado sus funciones vitales (Migliani, 2008. *Fundamentals of Genetics*, Alpha Science, Oxford, U.K.). Ello implicaría un riesgo epidemiológico mayor de transmisión de *T. cruzi* a los reservorios presentes en el área de la Región Istmo de Tehuantepec. Dicho vigor podría contribuir a explicar la abundancia de *M. mazzottii* así como la incidencia

de casos de infección por *T. cruzi* en humanos de la Región Istmo. Estos resultados concuerdan con lo reportado en Brasil acerca de la mayor habilidad de los híbridos de *Triatoma sherlocki* x *T. juazeirensis* para invadir viviendas que la de sus parentales (Almeida *et al.*, 2012. *Op. cit.*), o con lo reportado en Argentina, relativo a los híbridos de *T. infestans* x *T. platensis*, resistentes a los insecticidas, a diferencia de sus parentales (Mas-Coma & Bargues. 2009. *Op. cit.*).

Como complemento del estudio desarrollado, actualmente se encuentra en proceso otro estudio para conocer los parámetros de defecación y alimentación de los híbridos de *M. phyllosomus* x *M. mazzottii*. Ello podrá contribuir a conocer mejor el riesgo potencial de transmisión de *T. cruzi* por los híbridos mencionados.

Igualmente, el presente estudio brinda una pequeña contribución a esclarecer la relación filogenética entre *M. phyllosomus* x *M. mazzottii*. Los resultados de los parámetros estudiados muestran gran similitud entre las cohortes parentales de ambas especies, lo que compagina con la propuesta de que ambos grupos son subespecies (Bargues *et al.*, 2008. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2**: e233), propuesta basada en las muy pequeñas distancias genéticas detectadas entre esos taxa. Sin embargo, la controversia sobre este punto parece que continuará, pues otros estudios (Pfeiler *et al.*, 2006. *Mol. Phylogenet. Evol.* **41**: 209-221, Martínez-Ibarra *et al.*, 2011. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **106**: 293-300) moleculares y biológicos sustentan la propuesta de que *M. phyllosomus* y *M. mazzottii* son especies válidas.

Conflicto de intereses

Los Autores declaramos que no han habido conflictos de intereses durante el desarrollo del presente trabajo.

Recibido el 22/11/2012
Aceptado el 11/05/2013