CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA EM Poptella paraguayensis (CHARACIDAE, STETHAPRIONINAE) DO CÓRREGO DO ONÇA, AFLUENTE DO TAQUARI, MUNICÍPIO DE COXIM, MS

Greicy Ellen de Brito Ferreira¹; Elis Aparecida Morita Melo²; Dr^a. Margarida Maria de Rossi Vieira³

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- UEMS/Unidade Universitária de Coxim-Bolsista PIBIC/UEMS

²Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- UEMS/Unidade de Coxim- Bolsista PIBIC/UEMS

³Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- UEMS/ Unidade de Coxim. Rua General Mendes Morais 370, Jardim Aeroporto - Professora Orientadora

Resumo

A subfamília *Stethaprioninae* é composta por peixes de pequeno porte, de corpo alto e muito comprido, com uma distribuição ao longo da America do Sul. *Poptella* possui um espinho dorsal que caracteriza esse gênero. A espécie *Poptella paraguayensis* anteriormente era identificada como *Ephippicharax paraguayensis* e é conhecida popularmente como "saia branca". Foram analisados citogeneticamente exemplares de *P. paraguayensis* coletados no Córrego do Onça, afluente do Rio Taquari, município de Coxim, Mato Grosso do Sul, Brasil. A análise cariotípica pela coloração convencional com Giemsa revelou um número diplóide de 2n=50 cromossomos, com fórmula cariotípica de 14m+26sm+6st+4a e NF=96, sem distinção entre os sexos, não havendo mecanismo cromossômico de determinação sexual. A aplicação da técnica de bandeamento Ag-NOR para detecção das regiões organizadoras de nucléolo revelou a presença de NOR que ocupa todo o braço curto dos cromossomos do par 3, metacêntricos, e do par 21, subtelocêntricos, evidenciando, portanto o padrão de NOR múltipla. A técnica de bandeamento C demonstrou pouca heterocromatina constitutiva sendo as marcações coincidentes com a NOR no par 3 e no braço curto do par cromossômico 21.

Palavras-chave: Characiformes. Stethaprioninae. Bandeamento NOR.Bandeamento C.

Abstract

The Stethaprioninae subfamily is composed by fish of small size, high and compressed body, with a distribution throughout South America. *Poptella* has a backbone that characterizes this genus. *Poptella paraguayensis* was previously identified as *Ephippicharax paraguayensis* and it is popularly known as "saia branca". Specimens of *Poptella paraguayensis* collected in the Onça stream, a tributary of the Rio Taquari, city of Coxim, state of Mato Grosso do Sul, Brasil, were cytogenetically analyzed. Karyotype analysis by conventional Giemsa staining revealed a diploid number of 2n = 50 chromosomes, with karyotype formula of 14m + 26sm + 6st + 4a, and NF = 96, without distinction between sexes, with no chromosome mechanism for sex determination. Applying the technique of NOR banding (Ag-NOR) for the detection of nucleolar organizer regions revealed the presence of NOR in the entire short arm of chromosomal pairs 3, a metacêntric, and chromosomal pair 21, a subtelocêntric, evidencing, thus, a multiple NOR pattern. The C-banding technique showed little constitutive heterochromatin coincident with the pair 3 NOR and short arm chromosomal pair 21.

Keywords: Characiformes. Stethaprioninae. NOR Banding. C Banding.

1. Introdução

A ictiofauna do pantanal é relativamente bem conhecida quando comparada com outras regiões da América do Sul, e nela se encontram aproximadamente 400 espécies de peixes, para a bacia do Alto Paraguai, das quais 263 espécies já estão catalogadas para o pantanal (BRITSKI et al., 1999; REIS et al., 2003). A Ordem Characiformes constitui um grupo dominante entre os peixes de água doce da América do Sul que externamente, são diferenciados dos demais grupos por possuírem o corpo coberto de escamas, nadadeiras pélvicas (ventrais) geralmente situadas bem atrás da inserção das peitorais, raios das nadadeiras moles, isto é, transformados em espinhos pungentes e, geralmente pela presença da nadadeira adiposa (BRITSKI et al., 1999). No pantanal Mato Sul Mato-grossense podem ser encontradas onze famílias de caraciformes, sendo que a mais complexa é Characidae, que representa o maior grupo de peixes de água doce da América do Sul, com 170 gêneros e 885 espécies, com subfamílias de fácies bem distintas umas das outras, fazendo com que alguns autores lhe atribuam status de família (Nelson, 1994). A subfamília Stethaprioninae constitui um grupo de peixes de pequeno porte, corpo alto e muito comprimido, com um espinho à

frente da nadadeira dorsal. Esta subfamília é composta por três gêneros endêmicos: *Orthospinus*, *Stethaprion* e *Brachychalcinus* e o gênero *Poptella*, com distribuição mais ampla entre os stethaprioninae (REIS, 1989). O gênero *Poptella* se caracteriza por apresentar o espinho dorsal em forma de cela, embutido numa depressão do dorso, apresentam corpo alto, lobos da nadadeira caudal coberto de pequenas escamas. A nadadeira anal é longa com os raios anteriores (não ramificados) de aspecto normal (BRITSKI *et al.*, 1999). Atualmente, existem quatro espécies válidas para o gênero sendo *Poptella brevispina*, *Poptella compressa*, *Poptella longipinnis* e *P. paraguayensis*. A espécie *Poptella paraguayensis* anteriormente identificada como *Ephippicharax paraguayensis* é conhecida popularmente como "saia branca" e é caracterizada pela presença de uma faixa prateada longitudinal logo acima da linha lateral e uma lista preta subjacente, desde a mancha umeral até quase o fim do pedúnculo caudal (BRITSKI *et al.*, 1999).

A subfamília Stethaprioninae apresenta aproximadamente doze espécies conhecidas, mas somente *Poptella paraguayensis* (FREITAS *et al.*, 1998), *Orthospinus franciscensis* (PFISTER *et al.*, 1997; PERES *et al.*, 2007) e *Brachychalcinus copei* (CARVALHO *et al.*, 2001) foram estudados citogeneticamente. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo caracterizar citogeneticamente exemplares de *Poptella paraguayensis* (Characidae, Stethaprioninae) do Córrego do Onça, afluente do rio Taquari, município de Coxim, Mato Grosso do Sul (MS), Brasil, através da coloração usual por Giemsa e de técnicas de bandamento cromossômico como bandamento NOR para detecção das regiões organizadoras nucleolares e o bandamento C para detecção das regiões de heterocromatina constitutiva.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Foram analisados no presente estudo oito exemplares de *Poptella paraguayensis* (Characidae, Stethaprioninae) do Córrego do Onça, afluente do rio Taquari, município de Coxim, MS. Para as coletas dos exemplares foram utilizadas peneiras adequadas à captura de peixes e para o transporte do local de coleta até o laboratório foi utilizado recipiente para água com capacidade de 20 litros, sendo os exemplares transportados com água do próprio ambiente de onde foram coletados. No laboratório da UEMS -Unidade de Coxim estes exemplares foram mantidos em aquários aerados até a realização dos procedimentos citogenéticos. Após cada coleta foram preparadas suspensões celulares para análise dos

cromossomos mitóticos. Todos os exemplares coletados, após a dissecção foram fixados em formol 10% e conservados em álcool 70%. A confirmação taxonômica da espécie foi feita pelo Professor Geovane Cândido da Silva da UEMS-UCX.

2.2 Métodos

Para obtenção de maior número de mitoses, foi utilizada a técnica de estimulação celular através da injeção de uma solução de fermento biológico, descrita inicialmente por COLE e LEAVENS (1971) para anfíbios e répteis, e utilizada por LEE e ELDER (1980) para pequenos mamíferos e por OLIVEIRA *et al.* (1988) para peixes. Para obtenção das preparações mitóticas foi utilizada a técnica descrita por FORESTI *et al.* (1993). Para localização das regiões organizadoras de nucléolo (NOR) seguiu-se a técnica descrita originalmente por HOWELL e BLACK (1980) e para detecção da heterocromatina constitutiva, Bandamento C, foi utilizada técnica descrita originalmente por SUMNER (1972). Os cromossomo tiveram uma morfologia estabelecida de acordo com a relação de braços (RB), segundo as proporções propostas por LEVAN *et al* (1964).

3. Resultados e Discussão

Foram analisados no presente estudo oito exemplares de *Poptella paraguayensis* coletados no Córrego do Onça, afluente do Rio Taquari, município de Coxim, MS, sendo quatro exemplares machos, dois exemplares fêmeas e dois exemplares não tiveram o sexo definido devido ao estágio imaturo das gônadas. A análise cariotípica pela coloração convencional com Giemsa revelou um número diplóide de 2n=50 cromossomos, com fórmula cariotípica de 14m+26sm+6st+4a e número fundamental, NF=96, sem distinção entre os sexos, não havendo mecanismo cromossômico de determinação sexual (FIGURA 1a).

Estudos citogenéticos na subfamília Stethaprioninae já foram conduzidos para os gêneros *Orthospinus* e *Brachychalcinus*. PFISTER *et al.*(1997) analisaram citogeneticamente exemplares de *Orthospinus franciscensis* do rio São Francisco (Três Marias, MG) e encontraram também a presença de 2n=50 cromossomos, mas fórmula cariotípica 10M+32SM+8A e NF= 92. A marcação pela prata (NOR) ocorreu em apenas um par de acrocêntricos (NOR simples), mas também outros blocos ricos em GC (marcações pericentroméricas nos pares de cromossomos 4, 7 e 9) foram evidenciados pela utilização de fluorocromos base - específicos (DA/CMA₃). Com relação ao bandamento C, para detecção

da heterocromatina constitutiva, encontrou-se pouca heterocromatina distribuída na região pericentromérica de alguns pares cromossômicos e blocos mais conspícuos coincidindo com a marcação da NOR e da DA/CMA3. Estes estudos foram confirmados por PERES *et al.*(2007) que fez apenas uma organização da distribuição dos pares cromossômicos mudando a fórmula cariotípica, mas confirmando os dados de NOR (apenas um par, o único par de subtelocêntricos) e de Bandamento C (marcação positiva coincidente com a NOR). CARVALHO *et al.* (2001) analisaram citogeneticamente exemplares de *Brachychalcinus copei* de um tributário do rio Acre e não encontraram diferenças significativas em relação aos outros dois gêneros citados, ou seja, presença de 2n=50 cromossomos (mas com fórmula cariotípica 42M/SM+ 8A), NOR simples terminal, poucos blocos de heterocromatina pericentroméricos e blocos mais conspícuos coincidentes com a NOR e a constrição secundária. Estes resultados demonstram cariótipos muito similares ao encontrado para *Orthospinus franciscensis* (PFISTER *et al.*,1997).

Já com relação a estudos citogenéticos no gênero Poptella apenas um trabalho é encontrado na literatura. Este se refere a FREITAS et al., (1998) que analisaram citogeneticamente exemplares de Poptella paraguayensis do Passo do Lontra, MS e do Rio Bento Gomes, MT. Os autores encontraram número diplóide de 2n=50 cromossomos e fórmula cariotípica 10M+26SM+8ST+6A que, em relação ao presente estudo, apresenta menor número de cromossomos metacêntricos e maior número de cromossomos ST/A, porém o mesmo número de submetacêntricos. Neste trabalho os autores encontraram, com relação ao bandamento NOR, uma marcação no braço curto do par de número 8 do complemento, ocorrendo diferenças no tamanho entre os homólogos deste par (polimorfismo). Com relação ao bandeamento C, este se caracterizou por marcações discretas no centrômero e telômero de alguns pares cromossômicos. Os autores não encontraram evidências de marcações de outros blocos ricos em GC evidenciados com a utilização de fluorocromos base - específicos (DA/CMA₃) como os encontrados para Orthospinus franciscensis (PFISTER et al., 1997). No presente estudo a técnica de bandeamento NOR (Ag-NOR) revelou a presença dois pares marcados pela prata, um par de metacêntricos e um par de subtelocêntrico, sendo que a marcação é em praticamente todo o braço curto dos respectivos pares, evidenciando, portanto o padrão de NOR múltipla (FIGURA 1b) diferindo do encontrado na literatura. Os estudos citogenéticos na subfamília Stethaprioninae, até o presente, indicam como padrão NOR simples, geralmente coincidente com constrição secundária e banda C positiva, mas de mesma localização encontrada no presente estudo, ou seja, terminal no braço curto (PFISTER et al., 1997; PERES et al., 2007). Com relação à técnica de bandeamento C, para detecção da heterocromatina constitutiva, esta demonstrou pouca heterocromatina restrita a marcação do mesmo par de número 3, coincidente com a NOR, e mais uma marcação evidente no braço curto do par de número 21 (FIGURA 1c). Este padrão de bandamento C é compatível com o descrito na literatura, ou seja, alguns poucos blocos pericentroméricos em alguns pares e mais dois pares com marcações mais conspícuas sendo que um destes pares é o organizador nucleolar (PFISTER *et al.*, 1997; PERES *et al.*, 2007 e CARVALHO *et al.*, 2001).

Estudos na família Characidae e os escassos estudos na subfamília Stethaprioninae parecem indicar que a referida subfamília constitui um grupo monofilético (justificado pela característica do espinho pré dorsal bem desenvolvido característico e da nadadeira anal modificada em escamas) e esta mais relacionada evolutivamente com Tetragonopteriane (com 2n=50 cromossomos, NOR simples e a presença do primeiro par grande de metacêntricos) e com Serrasalminae (com número diplóide variando de 2n=54 a 2n=64 cromossomos, NOR múltipla e ausência do primeiro par grande de metacêntricos), sendo que os dados citogenéticos apontam para uma estrutura cromossômica mais próxima a Tetragonopterinae (REIS, 1989; PERES *et al.*, 2007).

A continuação dos estudos citogenéticos e moleculares na subfamília Stethaprioninae ampliarão as informações citogenéticas ainda escassas para a referida subfamília e serão úteis para elucidar os mecanismos evolutivos que estejam ocorrendo na importante e numerosa família Characidae além de ampliar as informações ainda escassas sobre a ictiologia pantaneira.

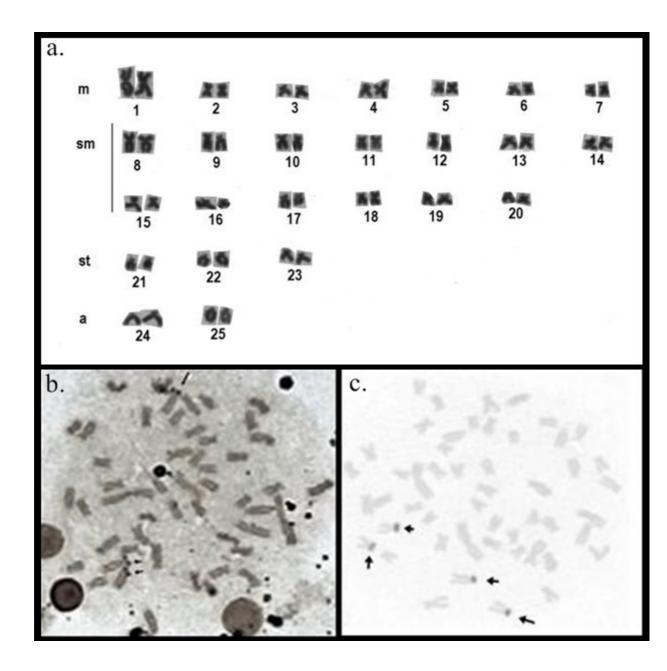


FIGURA 1: a) Cariótipo de *Poptella paraguayensis* submetido à coloração convencional por Giemsa evidenciando 2n= 50 cromossomos, b) Metáfase somática de *Poptella paraguayensis* submetida à impregnação pelo nitrato de prata para detecção das NORs (setas indicam os organizadores nucleolares), c) Metáfase somática de *Poptella paraguayensis* submetida ao bandeamento C (setas indicam regiões de heterocromatina constitutiva).

4. Agradecimentos

Ao PIBIC-UEMS, pela bolsa concedida.

5. Referências Bibliográficas

Britski, H. A.; Silimon, K. Z. S. & Lopes. B. S. 1999. **Peixes do Pantanal. Manual de identificação**. Brasília: Embrapa-SPI. Corumbá: Embrapa-CPAP. 184p.

Carvalho, M. L.; Oliveira, C.; & Foresti, F. 2001. Cytogenetic analysis of three species of the families Characidae and Curimatidae (Teleostei, Characiformes) from the Acre River. Chromosome Science, 5: 91- 96.

Cole, C. J. & Leavens. C.R. 1971. Chromosome preparations of amphibians and reptiles: improved technique. **Herpetol**. Rev., 3: 102.

Foresti, F.; Oliveira, C. & Almeida-Toledo, L.F. 1993. A method of chromosome preparations from large specimens of fishes using invitro short treatment with colchicine. **Experientia** 49: 810-813.

Freitas, P.D.; Navarrete, M.C.; Miyazawa, C.S. & Galetti JR.; P.M. 1998. Chromosome characterization of a neotropical fish Poptella paraguayensis from Paraguay river basin (Stethaprioninae, Characidae). **Cytologia** 63: 73-77.

Howell, W.M. & Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, 36: 1014-1015.

Lee, M.R. & Elder, F.F.B. 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. **Cytogentics And Cell Genetics**., 26: 36-40.

Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, 52: 201-220.

Oliveira, C.; Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F.; Britski, H.A. & Toledo-Filho, S. 1988. Chromosome formulae of neotropical freswater fishes. **Revista Brasileira de Genetica** 13(3): 577-624.

Peres, W. A. M.; Bertollo, L.A.C & Moreira-Filho, O. 2007. Comparative cytogenetics between three Characidae fish species from the São Francisco River basin. **Caryologia** 60: 64-68.

Pfister, S. C.; Moreira-Filho, O & Bertollo, L.A.C. 1997. Cytogenetic studies in Orthospinus franciscensis (Pisces, Characidae, Stethaprioninae) and some considerations about karyotype evolution of the group. **Cytobios** 91: 97-101.

Reis, R.E. 1989. Systematic revision of the neotropical characid subfamily Stethaprioninae (Pisces, Characiformes). **Comun. Mus. Ciênc. Sér Zool. Porto Alegre, RS, Brasil** 2 3-84.

Reis, R.E.; Kullander, S.O & Ferraris Jr, C.J. 2003. Check list of the freshwater fishes of South America. Edipucrs, porto Alegre, RS. Schaefer, S. S. 1991. **Anatomy and relationships of the scoloplacid catfishes**. Proc. Acad. Nat. Sci. Phila. 142: 167-210.

Summer, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatina. **Expl. Cell. Res.** 75: 304-306.