ANÁLISE CITOGENÉTICA EM *APAREIODON VITTATUS* (CHARACIFORMES: PARODONTIDAE) PROVENIENTES DA BACIA DO RIO IGUAÇU

Fernanda Souza de Oliveira (PIBIC/UEPG), Viviane Nogaroto Vicari (Orientadora), e-mail: vivianenogaroto@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética.

Área: 2.02.00.00-5 Genética; Subárea: 2.02.04.00-0 Genética Animal

Palavras-chave: Evolução cariotípica, marcadores cromossômicos, DNA ribossomal, hibridização *in* situ.

Resumo

Parodontidae constitui uma família de peixes neotropicais com características morfológicas similares, além de algumas características citogenéticas que são comuns entre a maioria das espécies, como o número diplóide (2n) de 54 cromossomos, predominantemente meta/submetacêntricos e a localização da heterocromatina constitutiva geralmente nas regiões centroméricas e em algumas regiões terminais dos cromossomos. Este trabalho tem o objetivo de caracterizar citogeneticamente uma população de *Apareiodon vittatus.* Para isso, foram utilizadas as técnicas de coloração convencional por Giemsa, banda c e FISH, com sondas de rDNA 5S e 18S, com posterior montagem dos cariótipos. Na população analisada, foi identificado um 2n = 54 cromossomos meta/submetacêntricos, com a presença da heterocromatina constitutiva nas regiões centroméricas e pericentroméricas dos cromossomos, além dos sítios de rDNA 5S localizados na região pericentromérica do braço curto do par 22 e do sítio ribossomal 45S em região subterminal no braço longo do par 17.

Introdução

A família Parodontidae representa um pequeno grupo de peixes neotropicais, com poucas mudanças morfológicas entre si, divididos em três gêneros: *Parodon, Saccodon* e *Apareiodon* (PAVANELLI, 1999), dentro dos quais são atualmente descritas 31 espécies válidas (ESCHMEYER; FONG, 2017). Estudos citogenéticos de Parodontidae demonstraram um 2n predominante de 54 cromossomos, com a maioria das espécies apresentando apenas cromossomos meta/submetacêntricos (MOREIRA-FILHO et al., 1985). Contudo, a análise detalhada dos marcadores cromossômicos e da estrutura do genoma evidenciou grande diversidade interespécies, com a detecção de inúmeros rearranjos cromossômicos (BELLAFRONTE et al., 2011; SCHEMBERGER et al., 2011; TRALDI et al., 2015); além da presença de diversos sistemas de cromossomos sexuais (SHEMBERGER et al., 2011).

A heterocromatina constitutiva também se mostra disposta de forma semelhante entre as espécies estudadas (BELLAFRONTE et al., 2011). A localização do rDNA 5S, é considerada uma característica conservada em Parodontidae, já a localização do rDNA 18S apresenta-se de formas diversas entre

espécies, estando geralmente presente em sítios múltiplos (BELLAFRONTE et al., 2011; TRALDI et al., 2015).

Assim, este trabalho tem como objetivo verificar a ocorrência de diferenças cromossômicas em *A. vittatus* provenientes do rio Pimpão, bacia do rio Iguaçu, município de Pinhão-PR.

Materiais e Métodos

Foram coletados indivíduos da espécie *A. vittatus* no rio Pimpão, afluente da bacia do rio Iguaçu. Os cromossomos mitóticos de machos e fêmeas de *A. vittatus* foram obtidos segundo Bertollo, Takahashi e Moreira-Filho (1978) e, a detecção de heterocromatina constitutiva foi realizada segundo Sumner (1972). A extração de DNA foi realizada a partir de fígado, utilizando-se o método CTAB (MURRAY & THOMPSON, 1980). As sondas de rDNA 5S (isolada a partir do genoma de *A. vittatus*) e 18S (HATANAKA; GALETTI JÚNIOR, 2004) foram utilizadas na técnica de *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) (PINKEL et al., 1986). As sondas foram marcadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR - *Polymerase Chain Reaction*), utilizando-se os nucleotídeos marcados biotina 16-dUTP (Roche) ou digoxigenina 11-dUTP (Roche). Depois de capturadas, as imagens dos cromossomos foram recortadas e os cromossomos organizados em cariótipos, sendo os homólogos pareados de acordo com por Levan, Fredga e Sandberg (1964).

Resultados e Discussão

Análises citogenéticas demonstraram 2n = 54 cromossomos para machos e fêmeas, com fórmula cariotípica 26m+28sm e número fundamental de 108, sem a presença de cromossomos sexuais diferenciados (Figura 1). A técnica de banda C foi realizada para a detecção da heterocromatina constitutiva nas regiões centroméricas e pericentroméricas dos cromossomos metacêntricos 1, 2, 3, 5, 7 e 10 e dos cromossomos submetacêntricos 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24 e 25, além de marcações menos evidentes em outros pares cromossômicos (Figura 2). Sítios de rDNA 18S estão presentes em região subterminal no braço longo do par submetacêntrico 17 (Figura 3). Já o gene ribossomal 5S foi localizado na região pericentromérica no braço curto do par submetacêntrico 22 (Figura 3).

Os resultados obtidos demonstram que a população de *A. vittatus* estudada apresenta a maior parte de suas características em comum com a maioria das espécies em Parodontidae, como o 2n predominante de 54 cromossomos para machos e fêmeas, sendo estes metacêntricos e submetacêntricos (MOREIRA-FILHO et al., 1985); as regiões com presença de heterocromatina constitutiva (BELLAFRONTE et al., 2011); além da localização do rDNA 5S (TRALDI et al., 2015). Já a localização do rDNA 18S em apenas um par cromossômico divergiu dos resultados presentes na literatura para outras espécies, visto que a maioria das espécies conhecidas apresenta sítios múltiplos deste gene (BELLAFRONTE et al., 2011).

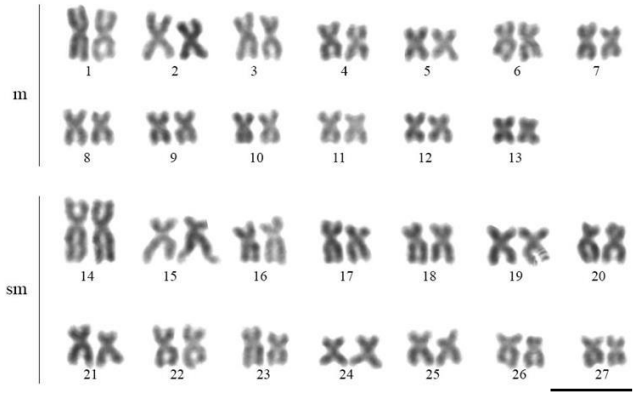


Figura 1 – Cariótipo de *A. vittatus* submetido à coloração convencional por Giemsa. Barra = 10 µm.

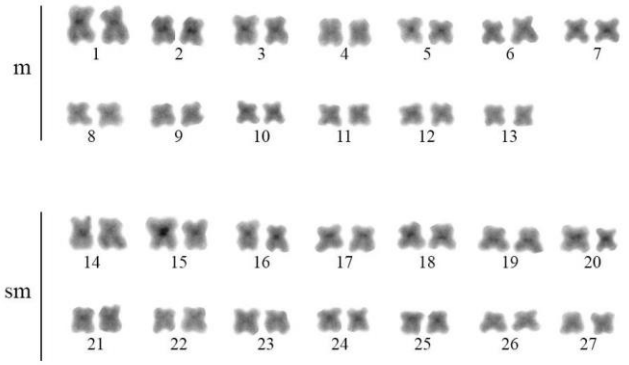


Figura 2 – Cariótipo de *A. vittatus* submetido à técnica de Banda C. Barra = 10 µm.

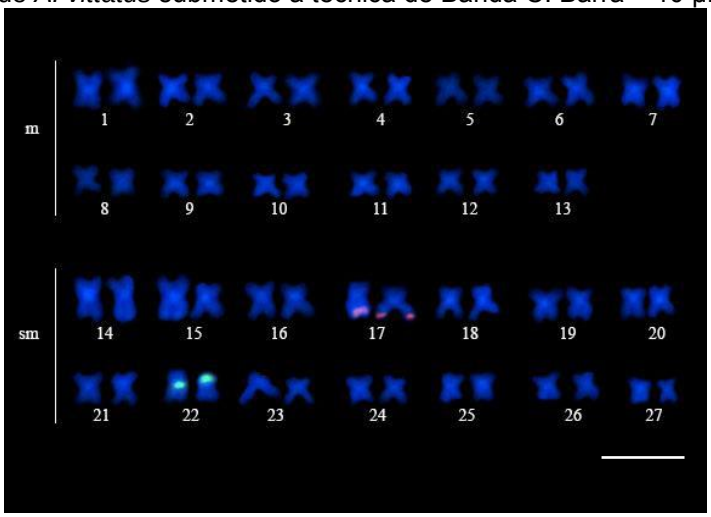


Figura 3 – Cariótipo de *A. vittatus* submetido à técnica de FISH, utilizando-se sondas de rDNA 18S (vermelho) e rDNA 5S (verde). Os cromossomos foram contracorados com DAPI. Barra = 10 µm.

Conclusões

A espécie *A. vittatus* apresenta características citogenéticas semelhantes àquelas apresentadas para outras espécies de Parodontidae, tais como: 2n = 54 cromossomos para machos e fêmeas, agrupados em metacêntricos e submetacêntricos, distribuição da heterocromatina e ausência de cromossomos sexuais diferenciados. A FISH evidenciou sítios de rDNA 5S conservados entre as espécies de Parodontidae. O sítio de rDNA 18S está presente em apenas um par

cromossômico, sendo que a maioria das espécies conhecidas apresenta sítios múltiplos deste gene.

Agradecimentos

À minha orientadora professora Dra. Viviane Nogaroto Vicari, ao professor Dr. Marcelo Ricardo Vicari e à minha co-orientadora Geize Deon Ao PIBIC/UEPG pela concessão da bolsa, Fundação Araucária e CNPq pelo aporte financeiro ao projeto.

Referências

BELLAFRONTE, E.; SCHEMBERGER, M. O.; MOREIRA-FILHO, O.; ALMEIDA, M. C.; ARTONI, R. F.; MARGARIDO, V. P.; VICARI, M. C. Chromosomal markers in Parodontidae: an analysis of new and reviewed data with phylogenetic inferences. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 21, p. 559-570, 2011.

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces; Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 2, n. 1, p. 17-37, 1978.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. **Species of Fishes by family/subfamily in the Catalog of Fishes.** <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em 05/09/2017.

HATANAKA, T.; GALETTI JÚNIOR, P. M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). **Genetica**, v. 122, p. 239- 244, 2004.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201-220, 1964.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C.; GALETTI JUNIOR, P. M. Karyotypic study of some species of family Parodontidae (Piscies-Cypriniformes) **Caryologia**, v. 38, p. 47-55, 1985.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, v. 8, n. 19, 1980.

PAVANELLI, C. S. **Revisão taxonômica da família Parodontidae (Ostariophysi:Characiformes)**. 1999, 332 p. Tese de Doutorado em Zoologia. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, p. 2934-2938, 1986.

SCHEMBERGER, M. O.; BELLAFRONTE, E.; NOGAROTO, V.; ALMEIDA, M. C.; SCHÜHLI, G. S.; ARTONI, R. F.; MOREIRA-FILHO, O.; VICARI, M. R. Differentiation of repetitive DNA sites and sex chromosome systems reveal closely related group in Parodontidae (Actinopterygii: Characiformes). **Genetica**, v. 139, p. 1499–1508, 2011.

SUMNER, A. T. A simple techinique for demonstrating centromeric heterocromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.

TRALDI, J. B.; VICARI, M. R.; MARTINEZ, J. F.; BLANCO, D. R.; LUI, L. R.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosome Analyses of *Apareiodon argenteus* and *Apareiodon davisi* (Characiformes, Parodontidae): An Extensive Chromosomal Polymorphism of 45S and 5S Ribosomal DNAs. **Zebrafish,** v. 13, n. 1, p. 19-25, 2015.