ANÁLISE CITOGENÉTICA EM *Hypostomus* LACÉPÈDE (1803) (SILURIFORMES: LORICARIIDAE) PROVENIENTES DA BACIA DO RIO DAS CINZAS

Gabriela Casani Cardoso (BIC/CNPq/UEPG), Geize Deon (Pesquisadora), Viviane Nogaroto (Pesquisadora), Marcelo Ricardo Vicari (Orientador), e-mail: vicarimr@yahoo.com.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética/ Setor de Ciências Biológicas e da Saúde.

Ciências Biológicas/ Genética/ Genética Animal

Palavras-chave: Hypostominae, rearranjos cromossômicos, diversificação cariotípica.

Resumo

O conhecimento da biodiversidade de peixes neotropicais tem participação dos estudos citogenéticos, os quais vêm contribuindo para caracterização de espécies, assim como o entendimento de sua distribuição geográfica. O gênero *Hypostomus* é um dos mais abundantes da família Loricariidae e, cromossomicamente, apresenta ampla variação no número diploide (2n), além de variações na estrutura cariotípica e padrões de bandamento. Neste estudo, foram comparados citogeneticamente três espécies de *Hypostomus* pertencentes ao rio Laranjinha, bacia do rio das Cinzas-PR. Os resultados obtidos demonstraram 2n e fórmulas cariotípicas espécies específicas: *H.* cf. *ancistroides* 2n = 68 cromossomos, *H.* cf. *nigromaculatus* 2n = 76 *e H.* cf. *strigaticeps* 2n = 72, além de diferenças no padrão de distribuição da heterocromatina pelos cromossomos, onde as espécies *H.* cf. *ancistroides* e *H.* cf. *nigromaculatus* apresentaram pequenos blocos de heterocromatina, enquanto que em *H.* cf. *strigaticeps* grandes blocos heterocromáticos foram visualizados. Estes dados demonstram a ampla diversidade cromossômica em *Hypostomus*, os quais no rio Laranjinha, apresentam cariótipos com 2n similares aos encontrados paras estas espécies em outros afluentes do rio Paranapanema, porém com variações interpopulacionais nas fórmulas cromossômicas e distribuição da heterocromatina.

Introdução

Hypostomus constitui um dos gêneros mais especiosos e com ampla distribuição entre os peixes da América do Sul, sendo um gênero predominante em rios brasileiros (ISBRUCKER, 1980). Esse gênero é relatado por possuir uma ampla diversidade morfológica, com variações principalmente no formato corporal e nos padrões de coloração dificultando a identificação sistemática destas espécies. Além das variações morfológicas, também já foram relatadas extensas variações do ponto de vista cromossômico, o que confere ao grupo uma enorme complexidade (BUENO et al., 2012). Foi caracterizado como um gênero com ampla variação no número diploide, 2n = 54 em *H. plecostomus* a 2n = 84 em *Hypostomus perdido* (para uma revisão ver BUENO et al., 2012).

As grandes variações na estrutura cariotípica e padrões de bandamento em *Hypostomus* propiciam estudos de diversificação cariotípica e auxílio a sistemática e

taxonomia das espécies (BUENO et al., 2012). Marcadores como a fórmula cariotípica e a distribuição da heterocromatina são ferramentas importantes para inferências evolutivas tanto a nível intra quanto interespecífico (BUENO et al., 2012). Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar citogeneticamente três espécies do gênero *Hypostomus* provenientes do rio Laranjinha, bacia do rio das Cinzas-PR para comparação com dados citogenéticos da literatura destas mesmas espécies em bacias hidrográficas vizinhas.

Material e Métodos

Foram coletados as espécies *Hypostomus.* cf. *ancistroides* (4 machos), *H.* cf. *nigromaculatus* (4 machos) e *H.* cf. *strigaticeps* (2 machos) do rio Laranjinha, afluente da bacia do rio das Cinzas no município de Ibaiti-PR. Foram retiradas amostras de rim para obtenção de cromossomos mitóticos de acordo com a metodologia de Bertollo, Takahashi e Moreira-Filho (1978). Os procedimentos de uso de animais foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (Processo CEUA 029/2016). A detecção da heterocromatina constitutiva foi realizada seguindo o protocolo de Sumner (1972). Os cromossomos foram fotografados e posteriormente recortados e organizados em cariótipos no software Adobe Photoshop versão CC 2015, sendo os homólogos pareados e dispostos em grupos: metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a) segundo a classificação de Levan, Fredga e Sandberg (1964).

Resultados e Discussão

As espécies analisadas apresentaram 2n superior a 54, o qual é considerado basal em Loricariidae (ARTONI; BERTOLLO, 2001). A espécie *H.* cf. *ancistroides* apresentou 2n = 68 cromossomos, com fórmula cariotípica de 10m+16sm+20st+22a e número fundamental (NF) 114 (Figura 1a). *Hypostomus* cf. *nigromaculatus* apresentou 2n = 76 cromossomos, 10m+20sm+16st+30a, NF = 112 (Figura 1c). Já *H.* cf. *strigaticeps* apresentou 2n = 72 cromossomos, 10m+8sm+20st+34a e NF = 110 (Figura 1e). O mesmo 2n foi observado em outras populações destas três espécies em outros afluentes do sistema hidrográfico do rio Paranapanema (BUENO et al., 2012), porém as fórmulas cariotípicas e NF foram divergentes, apresentando 14m+14sm+8st+32a (NF = 104) em *H. ancistroides* e 12m+12sm+18st+30a (NF = 114) em *H. strigaticeps.* Em um estudo realizado por Traldi et al. (2012), *H. ancistroides* e *H. nigromaculatus* apresentaram 14m+16sm+22st+16a, NF = 120 e 12m+22sm+30st+12a, NF = 140, respectivamente.

Em *Hypostomus* são encontradas espécies com 2n próximo ao basal e espécies com 2n elevado (BUENO et al., 2012). Espécies com 2n elevados tiveram inúmeros eventos de fissões cêntricas, gerando um aumento no número de cromossomos acrocêntricos e uma manutenção/proximidade do NF (ARTONI; BERTOLLO, 2001). Bueno et al. (2012) propuseram a ocorrência interpopulacional de inversões pericêntricas para explicar a mudança da morfologia dos cromossomos. Os dados encontrados neste estudo reforçam a proposta da ocorrência de mecanismos de inversão cromossômica ou reposicionamento centromérico atuando na diferenciação das fórmulas cariotípicas.

A localização das porções heterocromáticas nos cromossomos de *Hypostomus* são variáveis interespecificamente e entre populações (MENDES-NETO et al., 2011). Nesse estudo a espécie *H.* cf. *ancistroides* apresentou blocos

heterocromáticos em regiões terminais e centroméricas no braço longo do par 3 e nos braços curtos dos pares 23, 24 e 27 (Figura 1b). *Hypostomus* cf. *nigromaculatus* apresentou regiões heterocromáticas nos braços curto dos pares 12 e 38 e, em região centromérica dos pares 22 e 23 (Figura 1d). Traldi et al. (2012) também relataram pouca heterocromatina nestas espécies. Já em *H.* cf. *strigaticeps* foram detectados blocos heterocromáticos na região centromérica do par 2, nos braços longos dos pares 10 e 29 e, nos braços curtos dos pares 31 e 32 (Figura 1f). Variações na localização da heterocromatina são evidenciados em populações de *H. strigaticeps* da bacia do rio Paraná (BAUMGARTNER et al., 2014) quando comparados a este estudo. Estes grandes blocos heterocromáticos podem ser oriundos de acúmulos *in cis* de sequências repetitivas de DNA (VICARI et al., 2008). Estes mecanismos levam para o aumento ou redução do bloco heterocromático e podem explicar a diferenciação populacional dos blocos heterocromáticos para esta espécie.

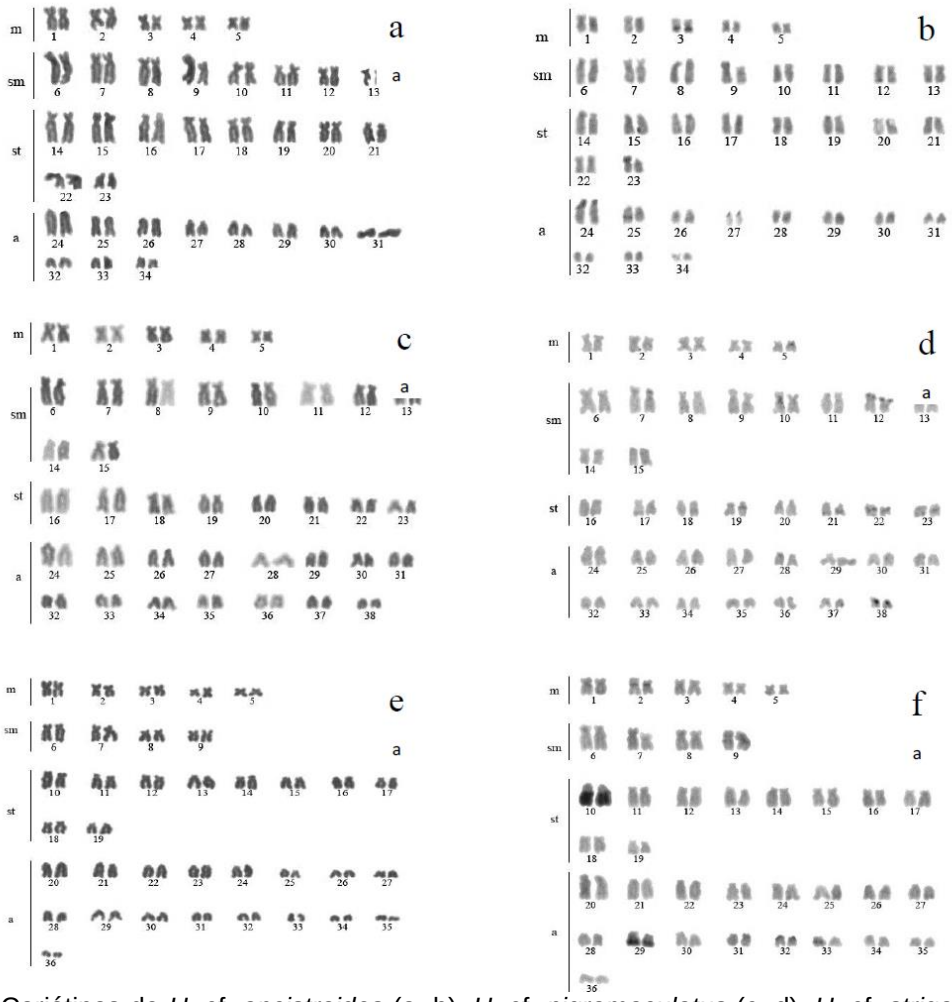


Figura 1: Cariótipos de *H.* cf. *ancistroides* (a, b), *H.* cf. *nigromaculatus* (c, d), *H.* cf. *strigaticeps* (e, f) submetidos à coloração convencional por Giemsa (a, c, e) e de bandamento C (b, d, f). A barra representa 10 µm.

Conclusão

As espécies *H.* cf. *ancistroides, H.* cf. *nigromaculatus* e *H.* cf. *strigaticeps,* do rio Laranjinha 2n conservado ao descrito na literatura. Porém, foram observadas variações cromossômicas quando comparadas cada espécie a estudos de outras

bacias hidrográficas. Esse estudo demonstrou cariótipos com variações na fórmula cromossômica e distribuição da heterocromatina entre populações. Os resultados denotam a indispensabilidade de estudos citogenéticos em conjunto com análises moleculares no intuito de correlacionar dados científicos em busca de esclarecer a história evolutiva da ictiofauna neotropical.

Agradecimentos

Ao Ministério do Meio Ambiente/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (MMA/ICMBio/SISBIO No. 15117) pela autorização de captura de exemplares na natureza. O estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado do Paraná e Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico do Estado do Paraná.

Referências

ARTONI, R.F.; BERTOLLO, L.A.C. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). **Hereditas** v. 134, p. 201-210, 2001.

BAUMGARTNER, L.; PAIZ, L.M.; ZAWADZKI, C.H.; MARGARIDO, V.P.; PORTELA-CASTRO, A.L.B. Heterochromatin Polymorphism and Physical Mapping of 5S and 18S Ribosomal DNA in Four Populations of *Hypostomus strigaticeps* (Regan, 1907) from the Parana River Basin, Brazil: Evolutionary and Environmental Correlation. **Zebrafish,** v. 11, p. 479-487, 2014.

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.

BUENO, V.; VENERE, P.C.; ZAWADZKI, C.H.; MARGARIDO V.P. Karyotypic diversification in *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Loricariidae): biogeographical and phylogenetic perspectives. **Reviews in Fish and Biology and Fisheries** v. 23, p. 103-112, 2012.

ISBRUCKER, I.J.H. Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Verslagen en Technische Gegevens**, v. 22, p. 1-181, 1980.

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

MENDES-NETO, E.O.; VICARI, M.R.; ARTONI, R.F.; MOREIRA-FILHO, O. Description of karyotype in *Hypostomus regani* (Ihering, 1905) (Teleostei, Loricariidae) from the Piumhi river in Brazil with comments on karyotype variation found in *Hypostomus*. **Comparative Cytogenetics**, v. 5, n. 2, p. 133-142, 2011.

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

TRALDI, J.B. *et al.* First karyotype description of *Hypostomus iheringii* (Regan, 1908): a case of heterochromatic polymorphism. **Comparative Cytogenetics** p. 115–125, 2012.

VICARI, M.R.; ARTONI, R.F.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C. Co-localization of repetitive DNAs and silencing of major rDNA genes. A case report in the fish, *Astyanax janeiroensis*. **Cytogenetic and Genome Research** v. 122, p. 67–72, 2008.