

COMPARAÇÃO CITOGENÉTICA DE DUAS POPULAÇÕES DE *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) DA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO

CYTOGENETICS COMPARISON OF TWO *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) POPULATIONS OF FROM THE TRIANGULO MINEIRO REGION

Ana Cristina dos SANTOS¹; Sandra MORELLI²

RESUMO: Foram realizadas análises citogenéticas em espécimens de *Astyanax scabripinnis* provenientes de duas populações da região do triângulo mineiro (Campina Verde – MG). As duas populações apresentaram número diplóide igual a 50 cromossomos. A impregnação pela Prata evidenciou um sistema de NORs múltiplas. Os blocos de heterocromatina constitutiva foram localizados na região telomérica de alguns cromossomos subtelocêntricos/acrocêntricos, no braço menor de um submetacêntrico, além de uma banda intersticial em um cromossomo acrocêntrico (população do córrego Cruz da Retirada Bonita).

UNITERMOS: *Astyanax scabripinnis*; Heterocromatina constitutiva; Região organizadora de nucléolo; Cariótipo.

INTRODUÇÃO

A família Characidae é o grupo mais complexo entre os Characiformes compreendendo cerca de 30 subfamílias e representa um grande conjunto de peixes de água doce da América do Sul (BRITSKI; SATO; ROSA, 1988). O gênero *Astyanax*, pertencente à subfamília Tetragnopterinae é bastante estudado citogeneticamente e caracteriza-se por um número diplóide variando de $2n=36$ a $2n=50$ cromossomos. Neste grupo a espécie *A. scabripinnis* apresenta número diplóide que varia de $2n = 46$ (KANAYAMA; GIULIANO-CAETANO, 2002; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; VIEIRA; OLIVEIRA; FORESTI, 1998), $2n = 48$ (FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2002; MAISTRO; OLIVEIRA; FORESTI, 2000; MANTOVANI et al., 2000; MIZOGUCHI; MARTINS-SANTOS, 1998; SOUZA; MOREIRA-FILHO; GALETTI-JÚNIOR, 1996; SOUZA; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1995) a $2n = 50$ que até o momento, é o número mais observado entre as várias populações estudadas (MESTRINER et al., 2000; MOREIRA-FILHO; GALETTI-JÚNIOR; BERTOLLO, 1978; VICENTE, MOREIRA-FILHO; CAMACHO,

1996). Além da variabilidade presente no número diplóide também é notada grande diversificação quanto ao padrão de heterocromatina constitutiva, morfologia cromossômica, tamanhos e quantidade de regiões organizadoras de nucléolos e presença ou ausência de cromossomos supranumerários. O emprego de várias técnicas como, bandamento C, fluorocromos base-específicos, enzimas de restrição, FISH, detecção de NOR tem fornecido resultados importantes sobre a estrutura cromossômica e possibilitando a diferenciação de muitas populações (MESTRINER et al., 2000; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; SOUZA; MOREIRA-FILHO, 1995, SOUZA, MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1995).

Tendo em vista estes dados o presente, trabalho teve por objetivo comparar citogeneticamente duas populações de *A. scabripinnis* provenientes de duas bacias hidrográficas localizadas na região do Triângulo Mineiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de *A. scabripinnis* foram coletados em nascentes dos córregos Cruz da Retirada

¹ Mestranda, Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia

² Professora, Doutora, Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia

Received: 26/05/05

Accepted: 04/08/05

Bonita (bacia do rio Paranaíba) e Manga (bacia do rio Grande), ambas localizadas no município de Campina Verde (MG). Os cromossomos foram obtidos através de modificações das técnicas descritas por Bertollo; Takahashi; Moreira-Filho (1978) e Foresti; Oliveira; Almeida-Toledo (1993). A heterocromatina constitutiva foi evidenciada por meio da técnica descrita por Sumner (1972) modificada. As NORs foram detectadas utilizando-se a técnica descrita por Howell e Black (1980) e a morfologia dos cromossomos foi estabelecida conforme a nomenclatura proposta por Levan; Fredga; Sandberg (1964).

RESULTADOS

Foram analisados 22 exemplares (16 fêmeas e 6 machos) da população do córrego Cruz da Retirada Bonita e 13 exemplares (11 fêmeas e 2 machos) da população do córrego da Manga. O número diplóide evidenciado foi de 50 cromossomos para ambas populações e as seguintes fórmulas cariotípicas foram observadas: (a) 4 pares metacêntricos (M), 11 pares submetacêntricos (SM), 6 pares subtelocêntricos (ST) e 4 pares acrocêntricos para a primeira população e (b) 3 pares metacêntricos (M), 13 pares submetacêntricos (SM), 5 pares subtelocêntricos (ST) e 4 pares acrocêntricos para a segunda população (figuras 1a e b).

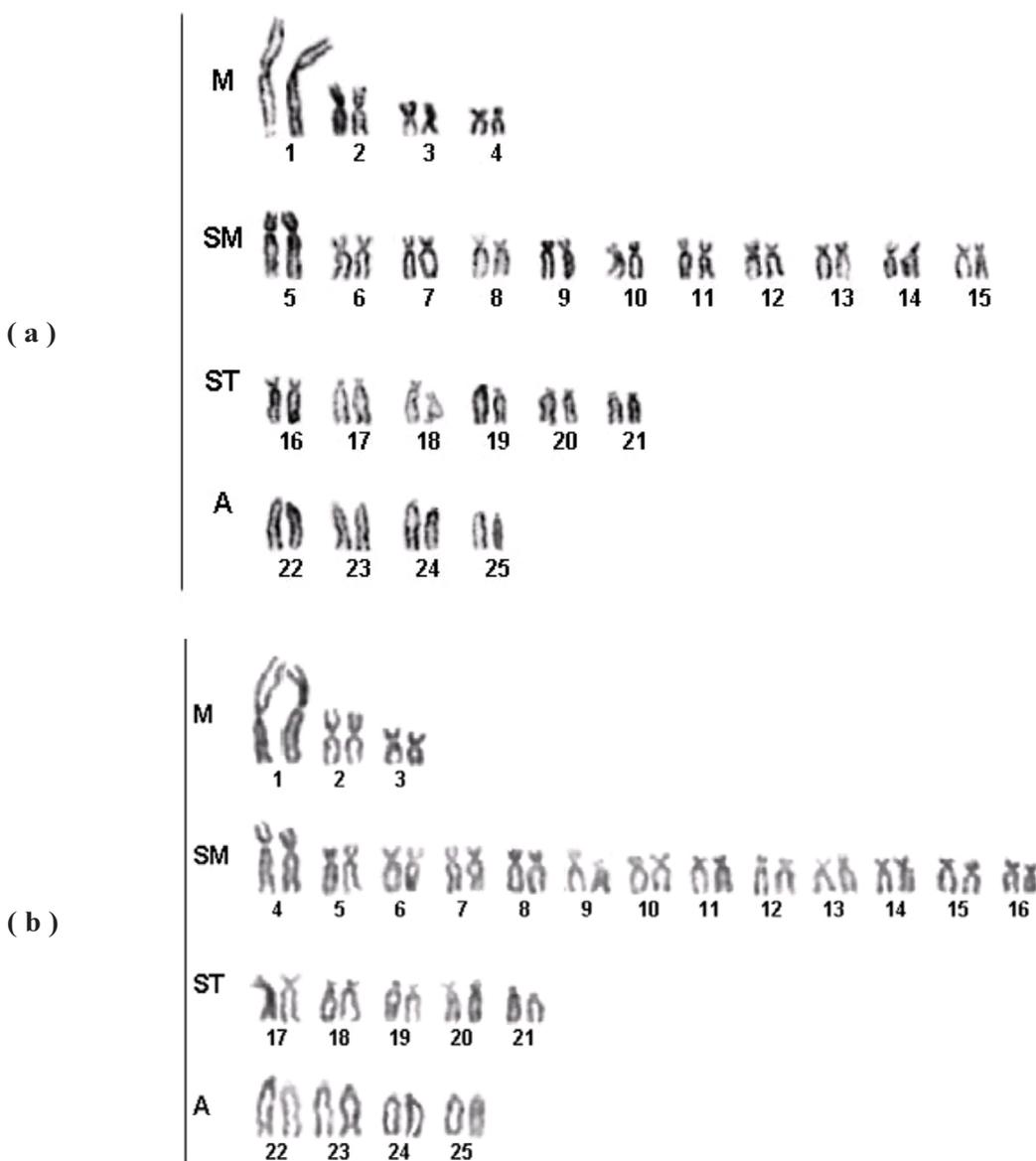


Figura 1. Cariótipos representativos das populações de *Astyanax scabripinnis*. (a) exemplar fêmea do córrego Cruz da Retirada Bonita e (b) exemplar fêmea do córrego da Manga.

A análise das regiões organizadoras de nucléolos mostrou variabilidade interindividual. O número de NOR por célula foi de um a três na população do córrego Cruz

da Retirada Bonita (Figuras 2a e b) e de dois a quatro para a população do córrego da Manga (figuras 2c e d).

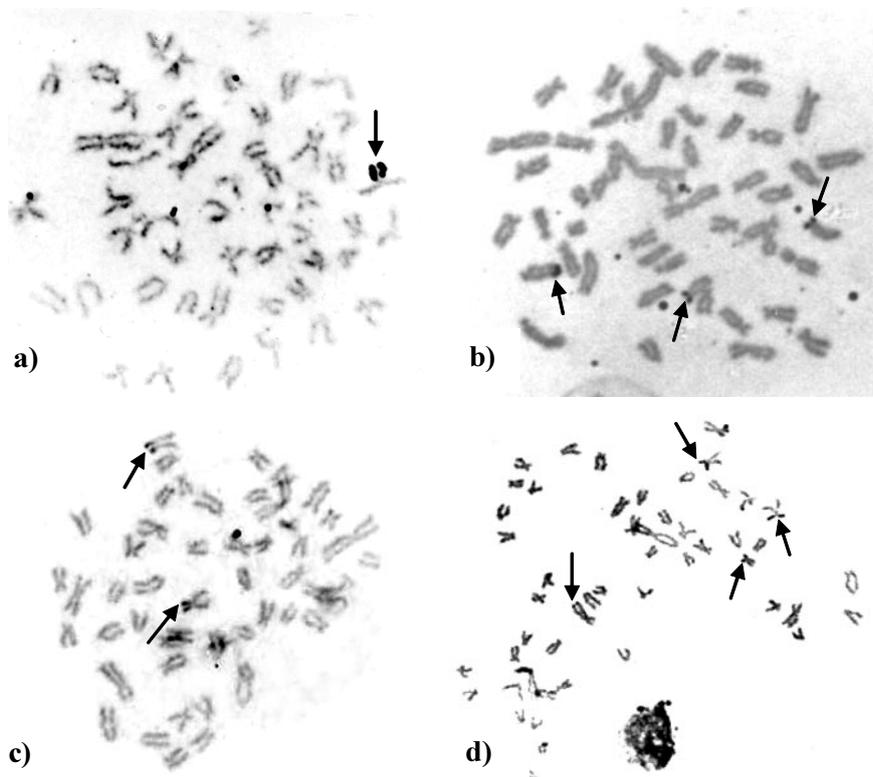


Figura 2. Variação das Ag-NORs observadas em cromossomos de *Astyanax scabripinnis*. As setas indicam cromossomos portadores de (NOR). (a) e (b) metáfases de indivíduos da população do córrego Cruz da Retirada Bonita e (c) e (d) metáfases de exemplares do córrego da Manga.

O emprego do bandamento C permitiu visualizar em exemplares do córrego Cruz da Retirada Bonita uma marca intersticial próxima ao centrômero de um cromossomo acrocêntrico, blocos localizados

predominantemente em posição telomérica no braço maior de cromossomos submetlocêntricos e acrocêntricos, além de uma marca no braço menor de um submetacêntrico (Figura 3).

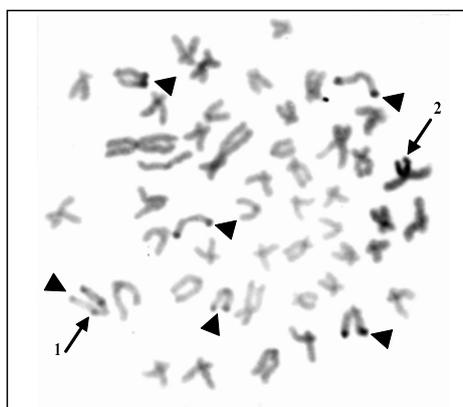


Figura 3. Metáfase corada com Giemsa evidenciando blocos de heterocromatina. A seta 1 indica banda intersticial. A seta 2 evidencia heterocromatina no braço menor de um cromossomo submetacêntrico. As cabeças de setas indicam cromossomos portadores de blocos teloméricos (cromossomos submetlocêntricos e acrocêntricos).

DISCUSSÃO

O número diplóide igual a 50 cromossomos, observado nas duas populações aqui estudadas vem confirmar a predominância de ocorrência desse número cromossômico para a espécie *Astyanax scabripinnis* (MAISTRO; OLIVEIRA; FORESTI, 2000; MIZOGUCHI; MARTINS-SANTOS, 1998; VICENTE; MOREIRA-FILHO; CAMACHO, 1996;). Apesar da semelhança no número diplóide, as macroestruturas cariotípicas apresentaram diferenças entre si (figura 1), no entanto o número fundamental foi o mesmo, isto devido à presença de quatro pares de cromossomos acrocêntricos em ambas populações. Esta variabilidade na macroestrutura pode estar relacionada à ocupação de habitats isolados geograficamente, uma vez ocorridas alterações genéticas, essas dificilmente são compartilhadas entre as populações.

A impregnação com nitrato de Prata evidenciou que as populações aqui analisadas, assim como outras populações descritas, apresentaram um sistema de NOR múltiplas (figura 2) apesar de terem sido notados exemplares com um ou dois cromossomos marcados (figuras 2a e c). Este fato não implica que somente um ou dois cromossomos sejam portadores de cístrons ribossômicos, pois a ausência de atividades desses cístrons impede a visualização do número real de regiões organizadoras de nucléolos, uma vez que a Prata liga-se preferencialmente às proteínas presentes ao redor dos genes ribossômicos e não propriamente ao DNA ribossômico.

O bandamento C empregado em *A. scabripinnis*, além de outros peixes, tem permitido diferenciar populações de mesma bacia ou bacias hidrográficas diferentes (MANTOVANI et al., 2000; MIZOGUCHI; MARTINS-SANTOS, 1998; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; ROCON-STANGE; ALMEIDA-TOLEDO, 1993; SOUZA; MOREIRA-FILHO, 1995; SOUZA; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1995). Os dados da literatura mostram que os blocos heterocromáticos, observados em *A. scabripinnis*, localizam-se predominantemente em regiões teloméricas de cromossomos subtelo/acrocêntricos (MAISTRO; OLIVEIRA; FORESTI, 2001; MANTOVANI et al., 2000; SOUZA et al., 2001) e encontram-se equilocalmente distribuídas, ou seja, a heterocromatina constitutiva localiza-se preferencialmente na posição terminal dos cromossomos, possivelmente, devido a uma prévia configuração dos cromossomos em núcleos pré-meióticos (SCHWEIZER; LOIDL, 1987). Os exemplares do córrego Cruz da Retirada Bonita apresentaram blocos

heterocromáticos situados nos telômeros de cromossomos subtelo/acrocêntrico e banda intersticial localizada em um dos homólogos de um par acrocêntrico (figura 3). A banda C intersticial poderia ser resultado de transferências de heterocromatina entre locais próximos no mesmo cromossomo ou entre cromossomos diferentes, como modelo proposto por Schweizer e Loidl (1987). Os mesmos autores sugerem que a heterocromatina telomérica localizada no braço curto de um dado cromossomo poderia ser em parte transferida para um cromossomo não homólogo. No caso desse não homólogo ser um acrocêntrico, o material transferido seria inserido intersticialmente “a uma distância do centrômero igual ao comprimento do braço curto com banda telomérica doadora de material”. Seguindo esse raciocínio a banda intersticial observada na população do córrego Cruz da Retirada Bonita poderia ser explicada como resultado da transferência de segmento heterocromático localizado no braço menor de um cromossomo submetacêntrico (indicado pela seta 2 na figura 3). Um outro mecanismo que poderia explicar o surgimento dessa banda, seria a inversão pericentromérica, sugerida por Feldberg et al. (1999) para justificar a presença de NOR intersticial em um par cromossômico de *Plagioscion* sp da bacia Amazônica. Margarido e Galetti-Júnior (2000) propõem que a heterocromatina intersticial observada no braço longo de cromossomos meta/submetacêntricos de *Leporinus desmotes* poderia ter surgido de um amplo processo de amplificação de um pequeno segmento de heterocromatina. Mantovani et al. (2000), atribui a ocorrência de heterocromatina intersticial (no braço maior de um par subteloacrocêntrico) em *A. scabripinnis* do ribeirão das Marrecas, ao mecanismo de translocação ou fusão em tandem envolvendo os braços longos de um par acrocêntrico pequeno sobre os braços longos de um par subteloacrocêntrico médio. Alternativamente, esses autores sugerem que a origem desta banda intersticial poderia ser pela dispersão da heterocromatina, seguindo o modelo de polarização de Rabl dos cromossomos descrito por Schweizer e Loidl (1987).

Apesar das duas populações pertencerem à mesma espécie, as diferenças evidenciadas quanto à fórmula cariotípica e posições das Ag-NORs, nos sugere que cada população segue seu próprio curso evolucionário.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos órgãos de fomento FAPEMIG, CNPq, CAPES e Universidade Federal de Uberlândia.

ABSTRACT: It has been done cytogenetic analysis in two populations of *Astyanax scabripinnis* from the Triângulo Mineiro region (Campina Verde, Minas Gerais State). Both of them presented a diploid number like $2n=50$ chromosomes. The silver staining has shown a multiple NOR system. Constitutive heterochromatin blocks were localized at the telomeric region in some subtelocentric/acrocentric chromosomes, in the short arm of a single submetacentric chromosome, besides in an interstitial band in an acrocentric chromosome (Cruz da Retirada Bonita stream population).

UNITERMS: *Astyanax scabripinnis*; Constitutive heterochromatin; Nucleolar organizer regions (NORs); Karyotype.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 103-120, 1978.

BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco)**. 3.ed. Brasília: Ministério da Irrigação, Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), 1988. 115 p.

FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; SANTOS, E. B. P.; VALENTIM, F. C. S. Cytogenetic studies of two freshwater sciaenids of the genus *Plagioscion* (Perciformes, Scianidae) from the central amazon. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 351-356, sept. 1999.

FERNANDES, C. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Caracterização citogenética em duas populações de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characiformes) da bacia do rio Ivaí, PR, Brasil. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, 9., 2002, Maringá. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. p. 5.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. **Experientia**, Basel, v. 49, n. 9, p. 810-813, sept. 1993.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, Basel, v. 36, n. 8, p. 1014-1015, aug. 1980.

KANAYAMA, F. S.; GIULIANO-CAETANO, L. Análise citogenética de *Astyanax cf scabripinnis* (Characidae, Tetragonopterinae) da bacia do rio Tibagi, PR, Brasil. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, 9., 2002, Maringá. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. p. 9.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, Lund, v. 52, n. 2, p. 201-220, 1964.

MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Cytogenetic characterization of a supernumerary chromosome segment and of B-chromosomes in *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae). **Genetica**, Dordrecht, v. 110, n. 2, p. 177-183, jan. 2001.

MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Sympatric occurrence of two cytotypes of *Astyanax scabripinnis* (Characiformes, Characidae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 2, p. 365-369, jun. 2000.

MANTOVANI, M.; ABEL, L. D. S.; MESTRINER, C. A.; MOREIRA-FILHO, O. Accentuated polymorphism of heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): tools for understanding karyotypic evolution. **Genetica**, Dordrecht, v. 109, n. 3, p. 161-168, jan. 2000.

MARGARIDO, V. P.; GALETTI-JÚNIOR, P. M. Amplification of a GC-rich heterochromatin in the freshwater fish *Leporinus desmotes* (Characiformes, Anostomidae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 3, p. 569-573, sept. 2000.

MESTRINER, C. A.; GALETTI-JÚNIOR, P. M.; VALENTINI, S. R.; RUIZ, I. R. G.; ABEL, L. D. S.; MOREIRA-FILHO, O.; CAMACHO, J. P. M. Structural and functional evidence that a B chromosome in the characid fish *Astyanax scabripinnis* is an isochromosome. **Heredity**, Essex, v. 85, n. 1, p. 1-9, jul. 2000.

MIZOGUCHI, S. M. H. M.; MARTINS-SANTOS, C. Cytogenetic and morphometric differences in populations of *Astyanax "scabripinnis"* (Pisces, Characidae) from Maringá region, PR, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 1, p. 55-61, mar.1998.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): a species complex. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2, p. 331-357, jun. 1991.

MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI-JÚNIOR, P. M.; BERTOLLO, L. A. C. Variabilidade cromossômica na subfamília Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 30, n. 1., p. 548-549, jul. 1978. Suplemento.

ROCON-STANGE, E. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Supernumerary B chromosomes restricts to males in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characiformes). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 3, p. 601-615, sept. 1993.

SCHWEIZER, D.; LOIDL, J. A model for heterochromatin dispersal and the evolution of C-band patterns. **Chromosomes Today**, London, v. 9, p 61- 74, 1987.

SOUZA, I. L.; GALIÁN, J.; RÚA, P. D .L.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Non-random distribution of the GC-rich heterochromatin and nucleolar rDNA sites on *Astyanax scabripinnis* chromosomes. **Cytologia**, Tokyo, v. 66, n. 1, p. 85-91, mar. 2001.

SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic diversity in the *Astyanax scabripinnis* species complex (Pisces-Characidae). I. Allopatric distribution in a small stream. **Cytologia**, Tokyo, v. 60, n. 1, p. 1-11, mar. 1995.

SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Cytogenetic diversity in the *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) complex II. Different cytotypes living in sympatry. **Cytologia**, Tokyo, v. 60, n. 2, p. 273-281, jun. 1995.

SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI-JÚNIOR, P. M. Heterochromatin differentiation in the characid fish *Astyanax scabripinnis*. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, p. 405-410, sept. 1996.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, New York, v. 75, n. 1, p. 304-306, nov. 1972.

VICENTE, V. E.; MOREIRA-FILHO, O.; CAMACHO, J. P. M. Sex-ratio distortion associated with the presence of a B chromosome in *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae). **Cytogenetics Cell Genetics**, Basel, v. 74, n. 1-2, p. 70-75, 1996.

VIEIRA, M. R.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Padrões de bandamento G em cromossomos de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) da região de Botucatu, SP. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, 7., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998.