ESTUDO CITOGENETICO EM DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO *ASTYANAX* DE OCORRÊNCIA NO CÓRREGO ITIZ (BACIA DO RIO IVAÍ-PR).

Victor Akihiro Ishikawa (PIBIC/Uem), Vania Aparecida Sacco, Ana Luiza de Brito Portela Castro, Luciana Andreia Borin de Carvalho (Orientador), e-mail: labcarvalho@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular.

Ciências Biológicas/Genética Animal

Palavras-chave: Bandeamento cromossômico, Characidae, Citogenética.

Resumo

Os peixes do gênero *Astyanax* pertencem à família Characidae e constituem um grupo bastante complexo do ponto de vista taxonômico por compreender uma grande variedade de espécies com formas muito semelhantes. Abrange peixes de pequeno porte, conhecidos popularmente como lambaris que estão amplamente distribuídos na região Neotropical. Assim, visando colaborar com dados citotaxônomicos que ajudem a esclarecer a taxonomia complicada do grupo, o presente estudo teve por objetivo caracterizar citogenéticamente duas espécies simpátricas do gênero *Astyanax,* coletadas no córrego Itiz, município de Marialva-Pr. Os exemplares identificados como *Astyanax* aff *paranae* apresentaram dois números diplóides e fórmulas cariotípicas diferentes, sendo 2n=50 com fórmula cariotípica 8m+22sm+6st+14a e 2n=51 com 13m+16sm+6st+16a onde um metacêntrico grande foi caracterizado como cromossomo B. Exemplares de *Astyanax* aff *fasciatus*: apresentaram 2n=48 com 8m+22sm+6st+12a. Bandas cromossômicas foram investigadas pelas técnicas de impregnação pela prata, bandeamento C e enzimas de restrição. As informações citogenéticas obtidas nos permite inferir a existência de um complexo de espécies na população de *Astyanax* do córrego Itiz.

Introdução

Um importante aspecto do estudo evolutivo é de compreender as alterações genéticas que causam ou acompanham a formação de novas espécies. Muitas bibliografias têm sugerido hipóteses alternativas sobre a importância

da fixação de rearranjos cromossômicos e sua relação com a evolução. Populações de *Astyanax* são caracterizadas por seu pequeno tamanho e baixa vagilidade. Estas características são favoráveis à uma rápida mudança cromossômica e especiação (GARUTTI; BRITSKI, 2000).

A citogenética tem se mostrado uma ferramenta importante na caracterização das mais diversas espécies de peixes, aumentando sua expressividade quando técnicas de bandeamentos cromossômicos são utilizadas. Existem várias pesquisas feitas com vários grupos que só puderam ter alguns problemas da sua taxonomia resolvidos através de análise citogenética (BERTOLLO; MOREIRA-FILHO; GALETTI JR., 1986).

Os dados citogenéticos do gênero *Astyanax* são bastante vastos. É um grupo que apresenta uma diversidade cariotípica muito elevada, variando seu número diplóide de 36 cromossomos em *A. schubarti* (DANIEL-SILVA; DE ALMEIDA-TOLEDO, 2001) até 50 em várias espécies como *A. scabripinnis*, *A. bimaculatus*, *A. altiparanae* entre outras (DANIEL-SILVA; DE ALMEIDA-TOLEDO, 2001; FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2004). Adicionalmente apresenta diferentes tipos de cromossomos supranumerários, casos de triploidia e variações numérico/estruturais inter ou mesmo intrapopulacionais. Devido as variações e complexidades do gênero *Astyanax* apresentadas em diversos estudos citogenéticos, o presente trabalho objetivou obter informações citotaxonômicas em espécies simpátricas (*A*. aff *fasciatus* e *A.* aff *paranae*) do córrego Itiz, Bacia do Rio Ivaí, Marialva-Pr, que contribuíssem para a taxonomia e compressão da evolução dos cromossomos dessas espécies.

Materiais e métodos

Na realização deste projeto foram analisados 21 exemplares do gênero *Astyanax* coletados no Córrego Itiz, Bacia do Rio Ivaí, Marialva-Pr, sendo 16 de *A*. aff *paranae* e 5 de *A*. aff *fasciatus*. A indução do número de metáfases foi realizada através de injeção prévia de suspensão de fermento biológico na região dorso-lateral do peixe. Os cromossomos metafásicos foram obtidos pelo emprego da técnica de air-driyng. Com a suspensão celular obtida, preparou-se cada lâmina pingando de 3 a 4 gotas, sendo coradas com Geimsa para determinação do número e da morfologia dos cromossomos. Detectou-se as Regiões Organizadoras de Nucléolo (NORs) por meio da impregnação por nitrato de prata. A heterocromatina foi observada através da técnica de bandeamento C e marcações cromossômicas com enzima de restrição foram obtidas pelo emprego da *HaeIII.*

Resultados e Discussão

Os exemplares analisados de *A.* aff *paranae* apresentaram dois cariótipos distintos, sendo que 13 indivíduos (fêmeas e machos) mostraram um número diplóide de 2n=50, com 8m+22sm+6st+14a. Contudo, 3 indivíduos (2 fêmeas e 1 de sexo indeterminado) apresentaram 2n=51, sendo 13m+16sm+6st+16a onde, neste cariótipo, um grande cromossomo metacêntrico sem seu homólogo foi caracterizado como um macrocromossomo B. Os exemplares analisados de *A.* aff *fasciatus* (fêmeas e machos) apresentaram 2n=48, com 8m+22sm+6st+12a.

Nos indivíduos com cariótipo 2n=50 de *A.* aff *paranae*, um sistema de NOR múltipla foi observado, com sítios Ag-NORs em três pares de submetacêntricos: par 7 (braço curto) par 8 (braço curto) e par 10 (braço longo) sendo que as marcações nos pares 8 e 10 apresentaram uma baixa frequência, enquanto que marcações no par 7 estiveram presente em todas as metáfases analisadas, indicando ser este o par preferencial da NOR. Nos indivíduos com 2n=51 detectou-se um sistema de NOR-simples no braço curto de um submetacêntrico (par 10). Em *A.* aff *fasciatus* sítios Ag-NORs foram detectados sobre 5 cromossomos: nos pares submetacêntricos 6 e 11 (braço curto e braço longo, respectivamente) e em um dos homólogos do par 20 (acrocêntrico).

Heterocromatina constitutiva em *A.* aff *paranae* com 2n=50 foi observada como pequenos blocos centroméricos, pericentroméricos e poucos teloméricos, contudo, diferenças na quantidade de heterocromatina entre homólogos foram registradas neste trabalho e podem ser explicadas como sendo o resultado de crossing-over desigual, levando a um acréscimo ou decréscimo do número de repetições. No cariótipo com 2n=51, o bandeamento C revelou discretos blocos centroméricos na maioria dos cromossomos e blocos pericentroméricos na maioria dos cromossomos acrocêntricos. Blocos conspícuos foram observados no braço curto do par 3. O macrocromossomo B mostrou-se totalmente heterocromático. Em *A.* aff *paranae* blocos bem definidos de heterocromatina foram observados em regiões terminais do braço curto do par submetacêntrico 6 e no braço longo dos pares submetacêntricos 08 e 10, subtelocêntricos 15 e 17, e acrocêntricos 19, 20 e 21.

Os resultados obtidos com a digestão enzimática revelaram heterogeneidade entre as duas espécies analisadas e entre os cariótipos descritos para *A.* aff *paranae.* Uma maior sensibilidade à digestão enzimática das frações da cromatina pode ser observada em *A.* aff *paranae* e uma menor sensibilidade em *A.* aff *fasciatus* uma vez que para a primeira espécie houve uma diminuição geral na intensidade da coloração dos cromossomos enquanto que na segunda espécie um número maior de cromossomos apresentou bandas, indicando regiões que não sofreram remoção de fragmentos de DNA pela enzima de restrição. Tais regiões devem estar relacionadas a ausência de sequências de corte da enzima ou

a inacessibilidade de digestão da enzima devida a alta compactação de regiões heterocromáticas, ou por ambos os fatores.

Conclusões

Uma análise comparativa dos dados obtidos neste trabalho com outras bibliografias previamente descritas, mostram que existe uma grande variabilidade cariotípica tanto inter como intraespecífica no gênero *Astyanax,* sugerindo a ocorrência de complexos de espécies. As diferenças cariotípicas intraespecíficas relatadas em *A.* aff *paranae* do córrego Itiz podem representar duas possíveis espécies. Desta forma, diante das questões aqui relatadas, a aplicação da citogenética em estudos de populações de peixes têm contribuído para uma melhor compreensão dessa fauna, fornecendo suporte adicional para a identificação de espécies taxonomicamente problemáticas e possíveis casos de espécies crípticas.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá pelo apoio e ao Carlos Alexandre Miranda Oliveira pela identificação morfológica dos peixes analisados.

Referências

BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI JR., P. M. Cytogenetics and taxonomy: considerations based on chromosome studies of freshwater fish. **J. Fish Biol.**, v. 28, p. 153-159, 1986.

DANIEL-SILVA, M. F. Z.; DE ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Chromosome R-banding pattern and conservation of a marker chromosome in four species, genus Astyanax (Characidae, Tetragonopterinae). **Caryologia**, v. 54, p. 209-215, 2001.

FERNANDES, C. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Cytogenetic studies in two populations of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes). **Hereditas**, v. 141, p. 328-332, 2004.

GARUTTI, V; BRITSKI, H. A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 13, p. 65-88, 2000.