

ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E MAPEAMENTO CROMOSSÔMICO DO ELEMENTO TRANSPONÍVEL REX3 NO GENOMA DE *Ancistrus* sp. (PISCES: LORICARIIDAE)

Júlio Henrique Oliva¹ (PIBIC/CNPq-FA-UEM), Stéphanie Getsaian Nascimento¹ (PIBIC/CNPq-FA-UEM), Ana Camila Prizon¹, Daniel Pacheco Bruschi², Ana Luiza de Brito Portela Castro¹ (Orientadora), e-mail: albpcastro@nupelia.uem.br. ¹ Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular
² Universidade Federal do Paraná, Departamento de Genética

**Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas I (2000006);
Genética (2020005), Genética Animal (20204000)**

Palavras-chave: citogenética, DNA repetitivo, retrotransposon

Resumo:

Transposons e retrotransposons (ETs) representam uma grande porção do genoma eucariótico e diferentes linhas de evidência reportam uma massiva presença dessas sequências no genoma de peixes. Atribui-se a esses elementos um significativo papel para a evolução dos genomas e na diversificação cariotípica em eucariotos. O gênero *Ancistrus* é um interessante candidato às investigações dessa natureza, visto que extensa variação cromossômica tem sido reportada. No presente estudo, foram isoladas sequências do elemento transponível, o retrotransposon non-LTR Rex3 no genoma de três populações de *Ancistrus* sp. e identificadas nos cromossomos através da hibridização fluorescente *in situ* (FISH). A amplificação do DNA com primers específicos para ET Rex3 resultaram em fragmentos de 500 pb em todas as populações analisadas. FISH realizado em três populações de *Ancistrus* sp. (rios Keller, Mourão e Córrego 19) revelou sinais fluorescentes dispersos pelos cromossomos de todas as populações de *Ancistrus* sp. analisadas, sendo observados clusters desse elemento em vários pares cromossômicos associados com blocos de heterocromatina previamente detectados. Não foram observados sinais de hibridação acumulados nos cromossomos sexuais heteromórficos (XX/XY) das populações de *Ancistrus* sp. rio Keller e Córrego 19. Estes dados sugerem que os ET Rex3 ocorrem por todo o genoma dos espécimens das populações analisadas, sugerindo um provável significado evolutivo na diversificação deste grupo.

Introdução

Análise genômica comparativa em vertebrados tem revelado um expressivo conteúdo de elementos transponíveis (ETs) nesses organismos, atribuindo-se a essas sequências um significativo papel na evolução e diversificação cariotípica em eucariotos. Estes elementos têm sido também identificados em muitas espécies de peixes, destacando-se os retrotransposons do grupo Rex (Rex1, Rex3 e Rex6), os quais localizam-se de forma dispersa ou associada às regiões de heterocromatina, bem como o transposon Mariner-like (MLEs), comumente associado com eventos de transposição de NOR (região organizadora de nucléolo), segundo revisão de Ferreira et al. (2011). Peixes com cariótipos altamente variáveis como espécies da família Loricariidae constituem excelentes modelos para identificação de diferentes marcadores cromossômicos em estudos comparativos, especialmente, as espécies de *Ancistrus* que apresentam cromossomos sexuais. Portanto, o presente estudo teve como objetivo o isolamento e mapeamento cromossômico de elementos transponíveis Rex3 no cariótipo de diferentes populações de *Ancistrus* sp. e suas possíveis implicações na diversificação de cromossomos sexuais heteromórficos e/ou na dispersão de outras sequências no genoma das espécies.

Materiais e métodos

Os cromossomos mitóticos foram obtidos a partir de células do rim conforme técnica de Bertollo et. al. (1978). O ET Rex 3 foi amplificado a partir dos primers F(5'-CGGTGAYAAAGGGCAGCCCTG-3') e R(5'-GGCAGACNGGGGTGGTGGT-3') de acordo com Volff et al. (2006) em dez populações de *Ancistrus* sp. discriminadas na Figura 1. O mapeamento cromossômico através do FISH (Hibridação fluorescente *in situ*) foi realizado em peixes de três populações: rios Mourão, Keller e Córrego 19, utilizando como sonda do ET isolado de uma espécime de *Ancistrus* sp. do rio Keller (Lapierre et al. 1998). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal (UEM) conforme protocolo CEUA 4607140416.

Resultados e Discussão

A amplificação do DNA de indivíduos das dez populações de *Ancistrus* sp. resultaram em fragmentos de 500 pb (Figura 1). Com relação à análise cariotípica de três populações, observou-se um valor $2n=50$ cromossomos com as seguintes fórmulas cariotípicas: a população do rio Mourão apresentou $12m+18sm+12st+8a$ (NF= 92), enquanto que as populações do Córrego 19 e rio Keller apresentaram $11m+18sm+13st+8a$ (machos) e $12m+18sm+12st+8a$ (fêmeas) e NF=92 em ambos os sexos, caracterizando um sistema de determinação cromossômica sexual do tipo XX/XY. FISH com

as sondas do elemento Rex3 revelaram sinais fluorescentes dispersos na maioria dos cromossomos destas populações, não sendo observados sinais de hibridação acumulados nos cromossomos sexuais heteromórficos (XX/XY) das populações de *Ancistrus* sp. do rio Keller e Córrego 19 (Figura 2). Os cariótipos de FISH com Rex3 são comparados com o padrão de banda C de cada população conforme obtidos por Prizon (2014) para visualização das regiões heterocromáticas. Algumas bandas fluorescentes podem ser visualizadas tanto nas regiões pericentroméricas quanto em posições intersticiais, coincidindo em alguns casos com regiões heterocromáticas.

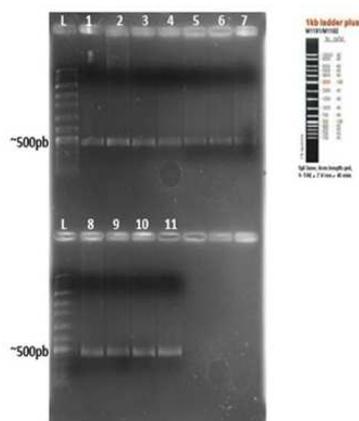


Figura 1: Gel de PCR para ET Rex3. (L) Ladder; (1-11) Cada poço representa o indivíduo/localização; (1) Macho, rio Keller; (2) Fêmea, rio Keller; (3) Rio Ocoí; (4) Rio S. Francisco Falso; (5) Rio S. Francisco Verdadeiro; (6) Rio dos Patos; (7) Rio São João; (8) Arroyo Iguaçu; (9) Arroyo San Juan; (10) Campo Mourão; (11) Córrego 19.

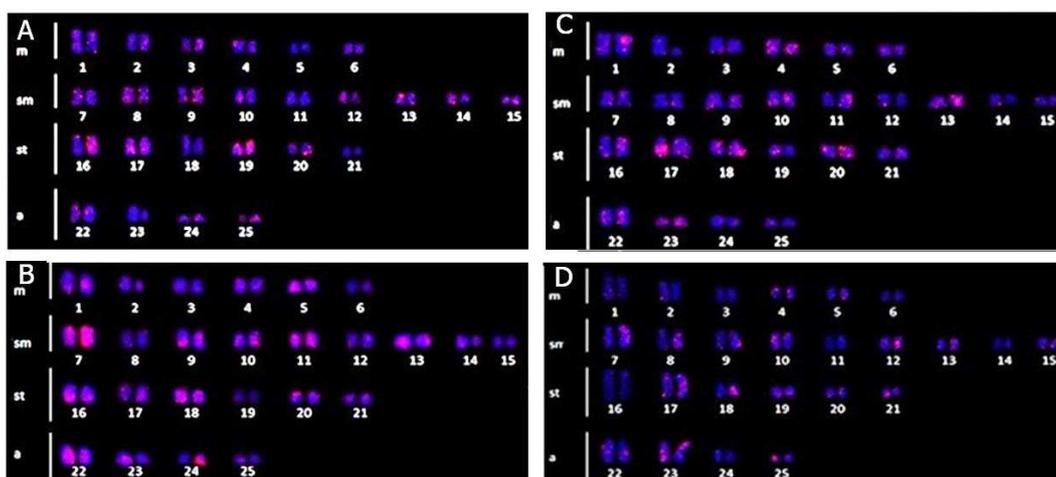


Figura 2: Cariótipos dos espécimes das populações de *Ancistrus* sp. após FISH Rex3: (A) Rio Mourão; (B) Córrego 19, macho; (C) Rio Keller, macho; (D) Rio Keller, fêmea.

Conclusões

A presença de elementos Rex3 no genoma das dez populações de *Ancistrus* sp. e sua localização dispersa nos cromossomos das três populações analisadas sugere um provável significado evolutivo na ampla variação cariotípica estrutural deste grupo. Estes dados constituem importante referência para estudos comparativos em *Ancistrus* auxiliando na compreensão da organização e evolução do genoma deste grupo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao programa PIBIC/Universidade Estadual de Maringá pelo apoio financeiro e ao prof. Dr. Claudio Henrique Zawadzki pela identificação dos espécimes.

Referências

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

FERREIRA, D. C., PORTO-FORESTI, F., OLIVEIRA, C., FORESTI F. Transposable elements as potential source for understanding the fish genome. **Mobile Genetic Elements**, v. 2, p. 112-117, 2011.

LAPIERRE, J. M., CACHEUX, V., DA SILVA, F., COLLOT, N., HERVY, N., WISS, J., TACHDJIAN, G. Comparative genome hybridization: technical development and cytogenetic aspects for routine use in clinical laboratories. **Annales de Génétique**, v. 41, p. 56–62, 1998.

PRIZON, A. C. **Análise citogenética comparativa em espécies de *Ancistrus* Kner, 1854 (Teleostei: Loricariidae): aspectos citotaxonômicos e evolutivos.** 2014. 51f. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2014.

VOLFF, J. N. Turning junk in to gold: domestication of transposable elements and the creation of new genes in eukaryotes. **BioEssays**, v. 28, p. 913–22, 2006.