

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Hypostomus nigromaculatus* (LORICARIIDAE: HYPOSTOMINAE) DA BACIA DO ALTO RIO PARANÁ

Sergio João Sartor Neto (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Carlos Alexandre Fernandes (Orientador). Email:cafernandes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Genética Animal

Palavras-chave: Diversidade cromossômica; DNA ribossomal; Evolução cariotípica.

RESUMO

O gênero *Hypostomus* apresenta uma ampla variação no número de cromossomos ou até mesmo apresentando polimorfismo cromossômico entre populações diferentes da mesma espécie. Diante disso, o presente estudo visou caracterizar citogeneticamente por meio da utilização de diferentes marcadores três populações coletadas na bacia do alto Rio Paraná de *Hypostomus nigromaculatus*. Os indivíduos apresentaram $2n=76$ cromossomos nas três populações, porém com variação na fórmula cariotípica. A região organizadora do nucléolo (RON), apresentou variação no número (4 a 6) e na posição destes sítios nos cromossomos portadores. A hibridação com sonda 18S confirmou a marcação pelo nitrato de prata. O 5S-FISH demonstrou um padrão conservado, com marcação pericentromérica no par 2 para as populações do Rio Bom Jesus e do Rio Mogi-Guaçu. A distribuição da heterocromatina também apresentou variações nas três populações. Assim, apesar do número diplóide e DNAr 5S conservado, as populações analisadas apresentaram diferenças na fórmula cariotípica, no padrão de distribuição da heterocromatina e localização do DNAr 18S, confirmando a diversidade cromossômica em *Hypostomus*.

INTRODUÇÃO

Hypostomus Lacepède, 1803, da subfamília Hypostominae, são membros da maior família de bagres do mundo, a Loricariidae. Sendo sua subfamília conhecida pela sua enorme diversidade e complexidade de classificação taxonômica. Seus indivíduos estão distribuídos desde a América Central até ao extremo da América do Sul (Azevedo *et al.*, 2021). Além disso, *Hypostomus* conta com uma ampla variação no número de cromossomos, com espécies descritas possuindo $2n=52$ até $2n=84$ cromossomos ou até mesmo apresentando polimorfismo cromossômico entre populações diferentes da mesma espécie (Artoni e Bertollo, 2001).

Considerando os desafios descritos para a caracterização cariotípica das espécies de *Hypostomus* e com a suposição de que há diversidade críptica nos córregos e Rios da bacia do alto Rio Paraná, este trabalho tem por finalidade a análise cromossômica utilizando diferentes marcadores citogenéticos (Banda-C, Ag-RON, 18S rDNA, 5S rDNA e REX) em três populações de *H. nigromaculatus* para contribuir com novas informações referentes ao grupo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os 19 exemplares de *H. nigromaculatus* foram coletados em três localidades diferentes, todos pertencentes à bacia do alto Rio Paraná. Todo procedimento realizado em conformidade com as recomendações do comitê de ética (CEUA/UEM).

A obtenção de cromossomos mitóticos foi realizada conforme a metodologia descrita por Bertollo *et al.* (1978), enquanto a identificação cromossômica seguiu os critérios padrão aplicados em peixes. Entre os bandeamentos analisados está o bandeamento Ag-RON, utilizando nitrato de prata para a detecção das regiões organizadoras de nucléolo (RON), a hibridização *in situ* fluorescente com sondas para o DNA ribossômico 18S e 5S, sendo a primeira a fim de confirmar a marcação das RON, o bandeamento C, empregado para a identificação da heterocromatina constitutiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espécimes de *H. nigromaculatus* estudados, apresentaram número diplóide de $2n=76$ em todas as populações. Entretanto, as populações apresentaram variação quanto à fórmula cariotípica. Os peixes coletados no Rio Bom Jesus-GO apresentaram: 10 metacêntricos (m), 16 submetacêntricos (sm), 14 subtelocêntricos (st) e 36 acrocêntricos (a) (Figura 1a). Os exemplares do Rio Mogi-Guaçu-SP: $8m+28sm+20st+20a$ (Figura 1c). Os peixes do Rio Pirapó apresentaram: $8m+16sm+14st+38a$ (Figura 1e).

Ag-RON marcou dois pares de cromossomos na população referente ao Rio Bom Jesus-GO (Figura 1a), as marcações foram confirmadas pelo FISH com a sonda DNAr 18S, enquanto apenas o par 2 carrega a região DNAr 5S na região pericentromérica (Figura 2a). A heterocromatina constitutiva foi evidenciada no mesmo par da marcação do DNAr 5S, porém em todo o braço curto e também da região pericentromérica até a região intersticial do par 14 (Figura 1b). Na população do Rio Mogi-Guaçu-SP as marcações de Ag-RON, foram em dois pares (Figura 1c, caixa), sendo que essas regiões também foram confirmadas pelo FISH com a sonda de DNAr 18S, enquanto a sonda de DNAr 5S coincidiu com a população do Rio Bom Jesus, marcando a região pericentromérica do par 2 (Figura 2b). Quanto distribuição da heterocromatina constitutiva, se divergiram em relação a população anterior, se situando no braço longo em um grande bloco no par 29 e no braço curto do par 23 (Figura 1d), ambos pares cromossômicos também marcados pela sonda de DNAr 18S.

Quanto a população do Rio Pirapó, a AG-RON apresentou marcações em 6 cromossomos (Figura 1e). Já a heterocromatina constitutiva foi evidenciada no braço longo do par 1, coincidindo com a marcação da Ag-RON e também localizada no braço longo do par 6 (Figura 1f).

A marcação pericentromérica em um par de cromossomos metacêntricos do DNAr 5S descritos aqui para duas populações também foi observado para uma população de *H. nigromaculatus* descrita por TRALDI *et al.* (2013). Por outro lado, nessa população de *H. nigromaculatus* descrita por esses autores, as RONs apresentaram marcação em apenas um par de cromossomos por nitrato de prata e FISH com sonda de DNAr 18S, diferindo das três populações aqui estudadas que apresentaram RONs múltiplas.

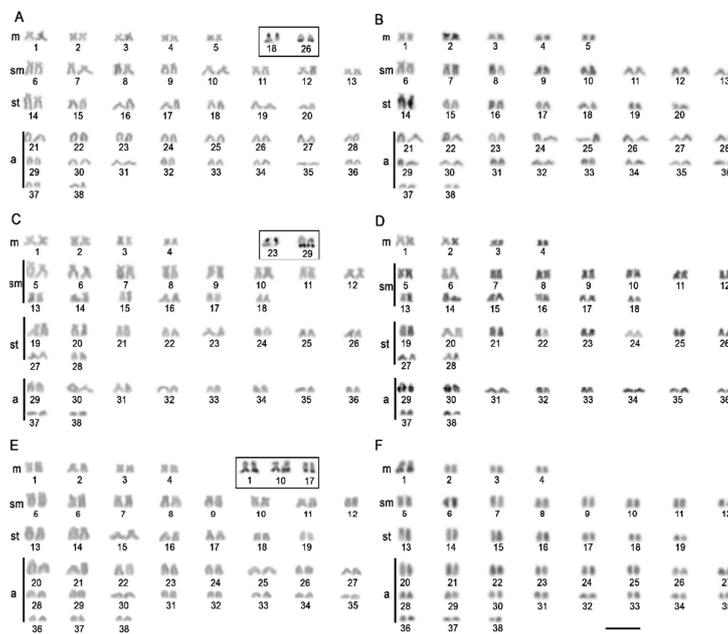


Figura 1 - Cariótipos de *Hypostomus nigromaculatus* do Rio Bom Jesus-GO (A e B), Rio Mogi-Guaçu-SP (C e D) e Rio Pirapó-PR (E e F). Cariótipos (A, C e E) corados com Giemsa e (B, D e F) após a banda-C. Os cromossomos portadores de Ag-RONs estão nas caixas. Barra de escalas = 10 µm.

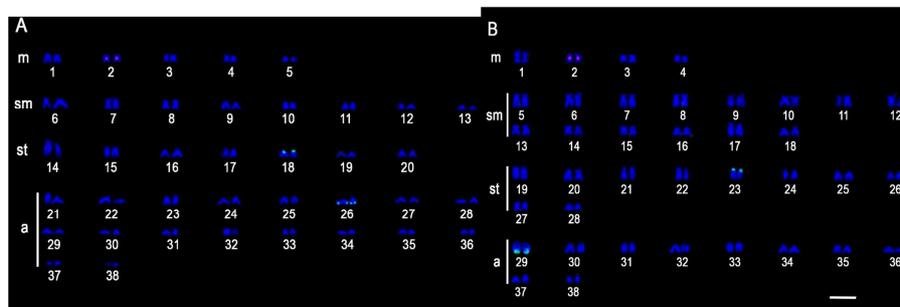


Figura 2 - Cariótipos de *Hypostomus nigromaculatus* após duplo FISH com sondas de DNAr 5S

(vermelho) e DNAr 18S (verde) do Rio Bom Jesus-GO (a) e Rio Mogi-Guaçu-SP (b). FISH, hibridização *in situ* fluorescente. Barra de escala = 10 µm.

CONCLUSÃO

Apesar do número diplóide e DNAr 5S conservado, as populações de *H. nigromaculatus* analisadas apresentaram diferenças na fórmula cariotípica, no padrão de distribuição da heterocromatina e localização do DNAr 18S, confirmando a diversidade cromossômica em *Hypostomus*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida e ao Prof. Dr. Claudio Henrique Zawadzki pela identificação dos espécimes.

REFERÊNCIAS

ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). **Hereditas**. 134(3):201–10, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11833282/>. Acesso em: 2 de ago. 2024.

AZEVEDO, F.M. et al. Integrative taxonomy reveals the historically poorly defined armoured catfish *Hypostomus variipictus* (Ihering 1911), from the upper rio Paraná basin, Brazil (Siluriformes, Loricariidae). **Journal of Fish Biology** 99(1):143–52, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33629364/>. Acesso em: 3 de ago. 2024.

BERTOLLO, L.A.C., TAKAHASHI, C.S., MOREIRA FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 1, p. 103-120, 1978. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/RC6Zhh8hnLdnBmxpMCV986C/?lang=en>. Acesso em: 2 de ago. 2024.

TRALDI, J. B. et al. Chromosomal diversity in *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae) with emphasis on physical mapping of 18S and 5S rDNA sites. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 463-71, 2013.