

CARACTERIZAÇÃO CROMOSSÔMICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DE CICLÍDEOS AMAZÔNICOS

Gabrielle Jorge de MELO¹; Eliana FELDBERG²

¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Orientador C BIO/INPA. Fonte de financiamento: SISBIOTA/CNPq/FAPEAM

1. Introdução

A bacia amazônica é a maior bacia hidrográfica do mundo, sendo constituída pelo rio Amazonas e um grande número de rios e igarapés (Santos e Ferreira 1999). Sua ictiofauna está estimada entre 1.500 e 5.000 espécies, agrupadas em 54 famílias. A família Cichlidae pertence à ordem Perciformes e está entre as mais numerosas dessa ictiofauna (Santos e Ferreira 1999; Nelson 2006), sendo estimadas 3.000 espécies distribuídas pela América Central e do Sul, Madagascar, Sudeste da Índia e África (Kocher 2004; Salzburger e Meyer, 2004). Dentre as diversas linhas de pesquisa envolvendo os peixes amazônicos, a citogenética vem contribuindo significativamente para um melhor conhecimento da biodiversidade deste grupo e começou a ser difundida quando se verificou que características cromossômicas podiam individualizar espécies e complementar a taxonomia clássica (Almeida-Toledo 1998). A família Cichlidae tem seu número diploide representado em duas modas: $2n=44$ para os ciclídeos do Velho Mundo e $2n=48$ para os do Novo Mundo, mas varia de 32 a 60 cromossomos (Feldberg *et al.* 2003). Embora mais de 60% das espécies neotropicais apresente número diploide igual a 48 cromossomos, diversos rearranjos, polimorfismos e mesmo cromossomos B já foram descritos em ciclídeos amazônicos (Thompson 1979; Feldberg *et al.* 2003; Benzaquem *et al.* 2008; Schneider *et al.* 2012), assim como especiação por hibridização (Alves-Brinn *et al.* 2004). Dessa forma, a análise citogenética de diferentes espécies da família Cichlidae, que ocorrem na bacia amazônica, fornecerá informações citotaxonômicas e permitirá verificar se existem polimorfismos ou variabilidade intraespecífica, confirmando ou não a diversidade desta família em locais ainda não coletados. Além disso, estes dados aliados a informações disponíveis na literatura fornecerão base para inferências sobre a evolução cariotípica desta família.

2. Material e Métodos

Foram analisados três indivíduos da espécie *Heros efasciatus* sendo dois indivíduos do lago Catalão e um do rio Jaú, um indivíduo de *Chaetobranchius flavencis* do Rio Purus/Turiaçãoçu, um de *Cichlasoma amazonarum* da BR 174, Km 30 e dois indivíduos da espécie *Laetacara curviceps* provenientes do rio Branco (afluente do rio Negro). As suspensões celulares foram obtidas do tecido renal, pela técnica “*air drying*” descrita por Bertollo *et al.* (1978). Estas foram transferidas para tubos tipo “*ependorff*” e armazenadas em freezer (-10 °C). Os peixes foram numerados e fixados em formol a 10%, por 24 horas e, posteriormente, colocados em recipiente com álcool 70% para posterior depósito na Coleção Zoológica do INPA. Para a visualização e análise dos cromossomos, a suspensão celular foi gotejada sobre uma lâmina limpa e aquecida em banho-maria a 60 °C. Em seguida foram coradas com solução de Giemsa a 5%, em Tampão Fosfato, pH 6,8, por 10 minutos. Para a obtenção das regiões organizadoras de nucléolos (RON) foi utilizada a técnica descrita por Howell e Black (1980), onde a lâmina foi submetida a um banho rápido em ácido clorídrico (HCl) 0,2N, em temperatura ambiente e em seguida foram colocadas, sobre a lâmina, três gotas de gelatina formolizada e sobre cada gota colocou-se duas gotas de solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃), a 50%. Esta lâmina foi colocada em câmara úmida e levada à estufa a 60 °C, por cerca de 5 minutos. As preparações cromossômicas foram analisadas em microscópio óptico comum, com objetiva de imersão. Após a análise, o número diploide modal foi estabelecido para cada indivíduo, contando cerca de 30 metáfases, sendo que as melhores, aquelas que apresentaram um bom espalhamento e morfologia nítida dos cromossomos, foram fotografadas. As fotografias foram editadas em *software* para edição de imagens. Os cromossomos homólogos foram emparelhados em ordem decrescente de tamanho e separados em dois grupos (m-sm e st-a), de acordo com a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964) e classificados, conforme a relação de braços (RB), (RB=BraçoMaior/Braço menor). Para se determinar o número fundamental (NF) que é o número de braços cromossômicos do cariótipo, foram considerados os cromossomos metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) como tendo dois braços e os acrocêntricos (a) e subteloicêntricos (st) como tendo um só braço (Thompson 1979).

3. Resultados e Discussão

O número diplóide encontrado para três espécies: *Chaetobranchius flavencis*, *Cichlasoma amazonarum* e *Heros efasciatus* foi igual a 48 cromossomos e as fórmulas cromossômicas foram: $6m/sm + 42st/a$, NF=54 para as duas primeiras e $22m/sm + 26st/a$, NF=70 para *Heros efasciatus*; *Laetacara curviceps* apresentou $2n=38$ cromossomos, sendo $10m/sm + 28 st/a$ NF=48, NF=48 (Figura 1). A região organizadora do nucléolo (RON) localizou-se em apenas um par de homólogos, em posição terminal nos braços curtos para três espécies, sendo, que em *Chaetobranchius flavencis* está localizada num par acrocêntrico (Fig. 1b), provavelmente o par 12; em *Cichlasoma amazonarum* num par submetacêntrico, par 1 (Fig 1d); e em *Heros efasciatus* num par submetacêntrico, provavelmente o par 3 (fig. 1f).

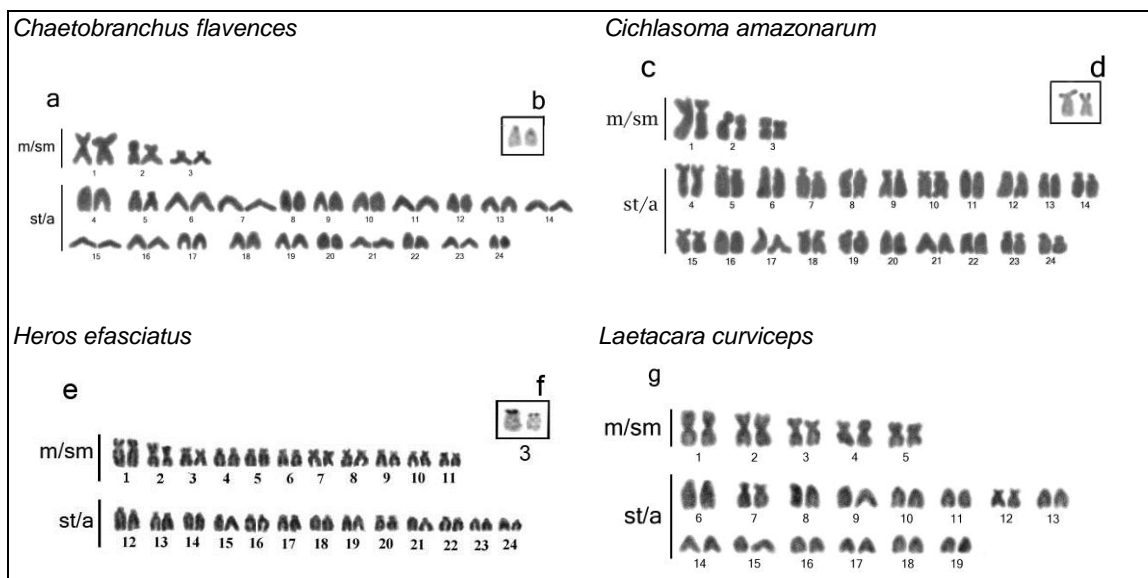


Figura 1: *Chaetobranchius flavescens* a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar impregnado por AgNo₃; *Cichlasoma amazonarum* c) cariótipo em coloração convencional; d) em destaque o par nucleolar impregnado por AgNo₃; *Heros efasciatus*: e) cariótipo em coloração convencional; f) em destaque o par nucleolar impregnado por AgNo₃; *Laetacara curviceps* g) cariótipo em coloração convencional. m/sm = metacêntrico e submetacêntrico, st/a = subtelo-cêntrico e acrocêntrico.

A maioria dos ciclídeos amazônicos apresenta $2n=48$ cromossomos (Feldberg *et al.* 2003) e neste trabalho foi descrito um novo número diploide ($2n=38$) em *Laetacara curviceps*. Interessante notar que o número de braços para esta espécie foi 48, o que corrobora mais uma vez que o cariótipo ancestral dos ciclídeos seja $2n=48$ acrocêntricos e os rearranjos ocorridos no processo evolutivo desta espécie tenham sido fusões cromossômicas.

4. Conclusão

A análise cromossômica em mais quatro espécies de ciclídeos amazônicos, de diferentes localidades dentro da bacia confirma o número diploide igual a 48 cromossomos como o mais frequente e também confirma a dinâmica cariotípica destes peixes, uma vez que a presença de rearranjos cromossômicos fica evidente quando se compara entre as espécies, as fórmulas cariotípicas e a localização das regiões organizadoras do nucléolo.

5. Referências Bibliográficas

- Almeida-Toledo, L.F. 1998. Cytogenetic markers in neotropical freshwater fishes, p. 583-588. In: Malabarba, L.R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M.S.; Lucena, C.A.S. (Eds). *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. Editora da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre, Brasil.
- Alves-Brinn, M.N.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2004. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. *Hereditas*, 141: 252-257.
- Benzaquem, D.C.; Porto, J.I.R.; Zuanon, J.A.S.; Gross, M.C.; Feldberg, E. 2008. Cytotaxonomy and karyoevolution of the genus *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae). *Genetics and Molecular Biology*, 31(1): 250-255.
- Bertollo, L.A.C.; Takahashi, C.S.; Moreira Filho, O. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Revista Brasileira de Genética*, 1: 103-120.
- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Bertollo, L.A.C. 2003. Chromosomal Changes and adaptation of cichlid fishes during evolution, p.287-310. In: Val, A.L.; Kapoor, B.G. (2003). *Fish Adaptation*. IBH & Oxford, New Dehli & New York.
- Howel, W.M.; Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1104-1015.
- Kocher TD: 2004. Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model. *Nature*, 5: 288-298.
- Levan, A, Fredga, K., Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromic position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Nelson, J.S. 2006. *Fishes of the world*, 4th ed., John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Salzburger W, Meyer A: 2004. The species flocks of Eart African cichlid fishes: recent advances in molecular phylogenetics and population genetics. *Naturwissenschaften*, 91: 277-290.
- Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G. 1999. Peixes da Bacia Amazônica, p.345-373. In: Lowe-McConnel, R.H.(Ed). *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. EDUSP, São Paulo, Brasil,
- Schneider, C.H.; Gross, M.C.; Terencio, M.L.; Artoni, R.F.; Vicari, M.R.; Martins, C.; Feldberg, E. 2012. Chromosomal evolution of Neotropical cichlids: the role of repetitive DNA sequences in the organization and structure of karyotype. *Rev. Fish Biol. Fisher.* DOI: 10.1007/s11160-012-9285-3.
- Thompson, K.W. 1979. Cytotaxonomy of 41 species of Neotropical Cichlidae. *Copeia*, (4): 679-691.