



Obtenção de marcadores citogenéticos em exemplares do Complexo *Astyanax bimaculatus* oriundos de uma piscicultura na região de Santa Helena – PR.

RESUMO

Luan Felipe Schimmelfennig
luasch@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

Josiane Baccharin Traldi
jbtraldi@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

Daniel Rodrigues Blanco
danielrblanco@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

OBJETIVO: Considerando a possibilidade de introdução destas espécies cultivadas e a possibilidade das mesmas serem distintas das encontradas naturalmente, o presente trabalho objetivou-se em, por meio de análises citogenéticas clássicas, caracterizar cromossomicamente exemplares oriundos de uma piscicultura do município de Santa Helena – PR. **MÉTODOS:** Foram analisados 8 espécimes de *Astyanax* do grupo *bimaculatus*, sendo 3 machos e 5 fêmeas, proveniente de uma piscicultura situada no município de Santa Helena-PR. Utilizou-se a técnica para obtenção dos cromossomos mitóticos *in vitro*, as regiões de heterocromatina foram obtidas por meio do bandamento C e para a determinação das regiões organizadoras de nucléolo (Ag-NORs) utilizou-se a impregnação por nitrato de prata. **RESULTADOS:** O número diploide encontrado foi igual a 50 cromossomos em ambos os sexos. O bandamento C evidenciou uma pequena quantidade de heterocromatina, pálida, na maioria dos cromossomos, com algumas pequenas exceções. A impregnação por nitrato de prata identificou NORs simples alocadas no par cromossômico 17. **CONCLUSÕES:** Os dados citogenéticos apresentados no presente trabalho contribuem para um melhor entendimento do grupo *Astyanax bimaculatus*, o que irá contribuir para uma melhor compreensão da evolução cariotípica deste grupo.

PALAVRAS-CHAVE: Lambari; Piscicultura; Diversidade Cromossômica.



INTRODUÇÃO

Astyanax, que engloba os peixes de pequeno porte popularmente conhecidos como piabas e/ou lambaris, é tido como um dos grupos mais representativo em espécies de Characidae, possuindo em torno de 150 espécies válidas distribuídas do Sul dos Estados Unidos à região Central da Argentina (ESCHMEYER; FONG, 2015), com grande significância nos sistemas hidrográficos brasileiros.

A piscicultura é um ramo da produção animal que cresce com índice entre 10 e 30% ao ano (OSTRENSKY; BOEGER, 1998). Entre as espécies nativas, as pertencentes à *Astyanax* demonstram um grande potencial para a piscicultura. Mesmo que possua um mercado característico, apresenta ampla possibilidade de expansão, visto que é um peixe muitas vezes utilizado como isca viva para pesca esportiva. A manipulação das espécies de *Astyanax* é facilitada, pois estas apresentam como características reprodutivas a fecundação externa sem cuidado parental, período reprodutivo prolongado e não apresentam hábitos migratórios (VAZZOLER, 1996).

Considerando o contexto supracitado, este trabalho objetivou-se em estudar exemplares do grupo *Astyanax bimaculatus* oriundos de uma piscicultura utilizando-se de metodologias clássicas de Citogenética, a fim de obter o número diploide, o padrão de distribuição heterocromático e o número/localização das regiões organizadoras de nucléolo.

METODOLOGIA

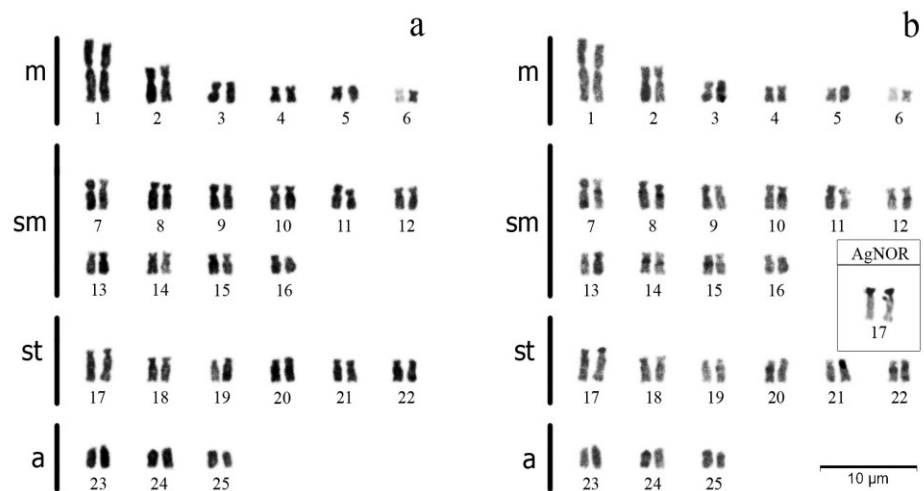
Foram analisados 8 espécimes de *Astyanax bimaculatus*, sendo 3 machos e 5 fêmeas, proveniente de uma piscicultura (GPS: 24°54'42"S 54°19'11"W) situada no município de Santa Helena-PR (Licença permanente SISBIO 38532-2). Os exemplares foram transportados vivos para o laboratório de Biodiversidade Cromossômica e Molecular da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Santa Helena, e mantidos em aquários aerados. Para a obtenção dos cromossomos metafásicos, os exemplares foram previamente anestesiados e sacrificados por meio de overdose por óleo de cravo (GRIFFITHS, 2000).

Os cromossomos foram extraídos do rim anterior segundo tratamento *in vitro* (FORESTI; OLIVEIRA; ALMEIDA-TOLEDO, 1993) e classificados em metacêntrico (m), submetacêntrico (sm), subteloicêntrico (st) e acrocêntrico (a) de acordo com a razão de braços (LEVAN; FREDGA; SANDBERG., 1964). O padrão de distribuição heterocromática foi obtido por tratamento com HCl e Hidróxido de Bário, com posterior estabilização por meio de solução de 2xSSC (SUMNER, 1972), com modificações na etapa de coloração (LUI et al., 2012). As regiões organizadoras de nucléolo (Ag-NORs) foram obtidas por impregnação por nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980). Os cromossomos foram analisados utilizando-se um microscópio Olympus BX 53 de epifluorescência acoplado a uma câmera de captura Qcolor5.

RESULTADOS

Analisando os exemplares coletados observou-se o número diploide de 50 cromossomos (12m+20sm+12st+6a, NF=94) tanto para macho quanto para fêmeas, ou seja, nenhum sistema de cromossomos sexuais heteromórficos foi identificado (Figura 1a). Foram observadas NORs simples localizadas na posição terminal no braço curto do par cromossômico 17 (Fig. 1, *in box*). O bandamento C evidenciou pouca heterocromatina, com algumas bandas pálidas na maioria dos cromossomos. Entretanto, algumas se destacam por serem mais fortes, principalmente as alocadas na região intersticial do braço longo dos pares cromossômicos 8, 12, 14 (Figura 1b).

Figura 1. Cariótipo de exemplar macho corado convencionalmente com Giemsa (a) e C-bandado (b). *In box*: cromossomos portadores das NORs.



Fonte: Autoria própria

DISCUSSÃO

É comumente encontrado, em outras espécies de *Astyanax*, um número diploide de 50 cromossomos, assim como encontrado nos exemplares analisados no presente trabalho. O grupo *Astyanax* é polifilético, por isso a identificação da ocorrência do mesmo número diploide ($2n = 50$) em diferentes espécies é de suma importância, pois pode ser um indicativo de ancestralidade entre essas espécies (MIRANDE, 2011).

Foi observado, nos exemplares analisados no presente trabalho variação com relação ao número fundamental (NF) e fórmula cariotípica (FC) quando comparados com os dados descritos na literatura. Esta divergência revela que rearranjos cromossômicos do tipo inversões pericêntricas são recorrentes no grupo. Adicionalmente, possíveis hibridizações entre distintas populações / espécies próxima podem ser a causa de origem desta variação.

A respeito do padrão de distribuição da heterocromatina, se observou bandas pálidas na região centromérica e algumas mais evidentes na região intersticial do braço curto, inclusive no par que apresenta as regiões organizadoras de nucléolo (NORs), essas características são comumente evidenciadas em diferentes populações / espécies de *Astyanax*, podendo ser considerado um caráter conservado no gênero (MIRANDE, 2011).

Os exemplares analisado no presente trabalho apresentam NORs simples localizadas no braço curto do primeiro par de cromossomos subtelocêntricos (par 17). Essa característica não é habitualmente encontrada nas demais espécies do grupo *Astyanax*, nas quais geralmente as NORs se encontram no primeiro par acrocêntrico. No entanto, apesar desta diferença, possivelmente estes cromossomos são correspondentes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O número diploide de 50 cromossomos foi encontrado em todos os espécimes analisados, em todos foi possível verificar uma grande diferença de tamanho entre o primeiro par e os outros, sendo o primeiro par maior que os outros, as bandas encontradas são em sua maioria pálida, com algumas que se destacam. Adicionalmente, foi encontrado um par de Ag-NOR e outro par apresenta apenas um cromossomo marcado, isso pode ter ocorrido devido a um crossing over desigual. Desta forma, podemos concluir que a caracterização cromossômica por meio das metodologias de citogenética clássica (coloração por Giemsa, bandamento C e Ag-NORs) dos exemplares de *Astyanax* do grupo *bimaculatus* traz dados relevantes para uma melhor compreensão da evolução cariotípica deste grupo.



Obtention of cytogenetic markers in specimens of the *Astyanax bimaculatus* complex from a fish farm in the Santa Helena region - PR.

ABSTRACT

OBJECTIVE: *Astyanax* is a group of fish species, popularly known as Lambaris and / or Piabas, which presents great diversity and taxonomic uncertainties. Due to their biological characteristics, in the western region of Paraná, many fish farms have chosen to create species of the *Astyanax bimaculatus* complex for commercialization as live baits. Considering the possibility of introduction of these cultivated species and the possibility of them being different from those found naturally, the present work aimed to characterize chromosomally, by classical cytogenetic, specimens from a fish farm. **METHODS:** Eight specimens of *Astyanax bimaculatus* group were analyzed, being three males and five females, from a fish farm located in the Santa Helena - PR. The technique *in vitro* was used to obtain the mitotic chromosomes. The heterochromatin regions were obtained by means of the C-band and the silver nitrate impregnation was used for the determination of the nucleolar organizer regions (Ag-NORs). **RESULTS:** The diploid number found was 50 chromosomes in both sexes. The C Banding showed a small amount of pale heterochromatin, on most chromosomes, with a few minor exceptions. The silver nitrate impregnation identified single NORs allocated in the chromosomal pair 17. **CONCLUSIONS:** The cytogenetic data showed in the present study contribute to a better understanding of the *Astyanax bimaculatus* group.

KEYWORDS: Lambari, fish farm, Chromosome Diversity.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UTFPR, Câmpus Santa Helena, pela disponibilidade da estrutura física que possibilitou a realização do mesmo.

REFERÊNCIAS

ESCHMEYER, W.N. & FONG, J.D. **Species by family/subfamily**. Disponível em:<http://research.calacademy.org/redirect?url=http://researcharchive.calacademy.org/research/Ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em: 25/09/2015, 2015.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F. A method for chromosome preparations from large specimens of fishes using in vitro short treatment with colchicines. **Experientia** 49: 810-813, 1993.

GRIFFITHS, S.P. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. **Journal of Fish Biology** 57: 1453–1464, 2000.

HOWELL, W.M.;BLACK, D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. **Experientia** 6: 1014-1015, 1980.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**. 52: 201-220, 1964.

LIMA, F. C. T., MALABARBA, L. R., BUCKUP, P. A., SILVA, J. F. P., VARI, R. P., HAROLD, A., et al. Genera Incertae sedis in Characidae. In: Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris-Jr, C. J. (Eds.), **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America** (pp. 106-169). Porto Alegre: Edipucrs, 2003.

LUI, R.L.; BLANCO, D.R.; MARGARIDO, V.P.; MOREIRA FILHO, O. Propidium iodide for making heterochromatin more evident in the C-banding technique. **Biotechnic & Histochemistry**, 87: 433-438, 2012.

MIRANDE, J.M. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. **Neotropical Ichthyology**, 8: 385-568, 2010.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo**. Guaíba: Agropecuária, 211p, 1998.

SUMNER, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, 75: 304-306, 1972.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos**: teoria e prática. São Paulo, Sociedade Brasileira de Ictiologia, 169p, 1996.

Recebido: 31 ago. 2017.

Aprovado: 02 out. 2017.

Como citar:

SCHIMMELFENNIG, L. F. et al. Obtenção de marcadores citogenéticos em exemplares do Complexo *Astyanax bimaculatus* oriundos de uma piscicultura na região de Santa Helena – PR.. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br//sicite/sicite2017/index>>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Luan Felipe Schimmelfennig

Prolongamento da Rua Cerejeira s/n, São Luiz, Santa Helena, Paraná, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

