



Análises cromossômicas em espécimes de *Loricariichthys* (Siluriformes, Loricariidae)

Chromosomal analysis in specimens of Loricariichthys (Siluriformes, Loricariidae)

Marcos Vinícius Pupo*, **Daniel Rodrigues Blanco[†]**,
Natalia Lima Lira[‡], **Sandro Tonello[§]**, **Marco Aurélio Tonelotto[¶]**,
João Carlos Maicrovicz^{||}

RESUMO

Os *Siluriformes* são uma ordem de peixes da classe *Actinopterygii* popularmente conhecidos como peixes-gatos ou bagres, com número superior a 4.100 espécies descritas, presentemente dispostas em 38 famílias, distribuindo-se extensamente em diversas drenagens da maioria dos continentes e muito relevante na região Neotropical. Dentro deste grupo, destaca-se a espécie *L. platymetopon*, que mesmo sendo uma espécie abundante na região, há poucos dados cromossômicos. Portanto, este trabalho teve como objetivo ampliar os conhecimentos citogenéticos da espécie, através da Coloração por Giemsa, Bandeamento C e Impregnação por Nitrato de Prata (Ag-NOR), a fim de contribuir com o entendimento da diversidade cromossômica no grupo. Os exemplares analisados de *L. platymetopon* apresentaram $2n = 54$ cromossomos (10m + 16sm + 28a, NF = 80). As marcações por Bandeamento C mostraram blocos heterocromáticos alocados nas regiões pericentroméricas em alguns dos cromossomos. A impregnação por Nitrato de Prata (Ag-NORs) revelou marcações na posição terminal de um cromossomo submetacêntrico do par 16, bem como na posição pericentromérica de um cromossomo do par 10. Os resultados obtidos neste trabalho ainda são prévios, porém contribuem para um melhor entendimento da diversidade cromossômica da espécie.

Palavras-chave: Citogenética, Cromossomos, Bandeamento C, Ag-NOR, *L. platymetopon*.

ABSTRACT

The *Siluriformes* are an order of fish of the *Actinopterygii* class, popularly known as catfish, with a number greater than 4,100 described species, presently arranged in 38 families, widely distributed in several drainages of most continents and very relevant in the region Neotropical. Within this group, the species *Loricariichthys platymetopon* stands out, but even though it is an abundant species in the region, there is a lack of chromosomal data. Therefore, this work aimed to expand the cytogenetic knowledge of the species, through Giemsa Staining, C-Banding and Silver Nitrate Impregnation (Ag-NOR), in order to contribute to the understanding of the chromosomal diversity in the group. The analyzed specimens of *L. platymetopon* have presented $2n = 54$ chromosomes (10m + 16sm + 28a, NF = 80). The C-Banding markings showed heterochromatic blocks allocated in the pericentromeric regions in some of the chromosomes. The silver nitrate impregnations (Ag-NORs) revealed markings in the terminal position of a submetacentric chromosome of the pair 16, as well as in the pericentromeric position of a chromosome of the pair 10. The results obtained in this work are still preliminary, but they contribute to a better understanding of the chromosomal diversity of the species.

Keywords: Cytogenetics, Chromosomes, C-Banding, Ag-NOR, *L. platymetopon*.



1 INTRODUÇÃO

Os peixes da ordem *Siluriformes*, comumente reconhecidos como cascudos ou bragres, diferenciam-se em um número superior a 4.100 espécies descritas, presentemente dispostas em 38 famílias (MALABARBA et al., 2020), representando 12% de todos os teleosteos e 6,3% dos vertebrados (ESCHMEYER & FONG, 2021). As espécies do grupo se distribuem extensamente em diversas drenagens da maioria dos continentes, sendo que somente duas famílias possuem hábitos marinhos (DE PINNA, 1998).

Na região Neotropical pode ser observada uma das mais representativas famílias do grupo, a família *Loricariidae* Bonaparte, 1831, que apresenta mais de 974 espécies válidas classificadas (MALABARBA, 2020), com aproximadamente 96 gêneros, abundantemente encontrados da região sul da Costa Rica à região nordeste da Argentina. No gênero *Loricariichthys* Bleeker 1862, a maioria das espécies estão distribuídas nas drenagens cisandinas da América do Sul até o norte de Buenos Aires (REIS & PEREIRA, 2000), sendo majoritariamente de hábitos detritívoros, com pequeno e médio porte, alcançando em média 43cm (TEIXEIRA DE MELLO et al., 2009). Bleeker em 1962 propôs o gênero *Loricariichthys* pela primeira vez, contudo apenas em 2000, Reis & Pereira corroboraram para a comprovação do monofiletismo do grupo, sendo atualmente este um dos quatro principais gêneros da subfamília *Loricariinae*.

Levantamentos ictiológicos recentes evidenciaram a riqueza de espécies do grupo *Loricariidae* nas regiões da Bacia do Alto Rio Paraná e Iguaçu, que possui a segunda maior a ocorrência de espécies nestas regiões (REIS et al., 2020). *Loricariichthys platymetopon* diferencia-se das demais espécies do gênero pela presença de 5-16 dentes no pré-maxilar, geralmente 6-10; 5-19 dentes no dentário, geralmente de 6-17; 2-3 placas pré-anais; e pedúnculo caudal muito deprimido, retangular em corte transversal (PAIXÃO, 2012). Apesar de *Loricariidae* ser uma família rica em espécies, existe ainda uma escassez em estudos citogenéticos.

Considerando o contexto supracitado, este projeto teve como objetivo caracterizar por meio de metodologias de Citogenética clássica exemplares de *Loricariichthys platymetopon* provenientes do município de Santa Helena – PR. A caracterização, aqui representado pela determinação do número diploide, padrão de distribuição heterocromático e AG-NORs auxiliam no entendimento da evolução cromossômica do grupo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados 9 exemplares - todos machos, de *L. platymetopon* (Figura 1) provenientes do município de Santa Helena, Paraná (24°54'47,91"S 54°17'35,82"W), com auxílio de redes e tarrafas (Licença permanente SISBIO 38532) e levados vivos para o Laboratório de Ictiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Santa Helena, onde foram mantidos em aquários aerados. Os indivíduos foram eutanasiados por overdose de óleo de cravo na concentração de 100mg/L (GRIFFITHS, 2000) para retirada dos tecidos para as análises citogenéticas.

Imagem 1: Vista dorsal, lateral e ventral de *L. platymetopon*.



Fonte: RAREDON S., 2021

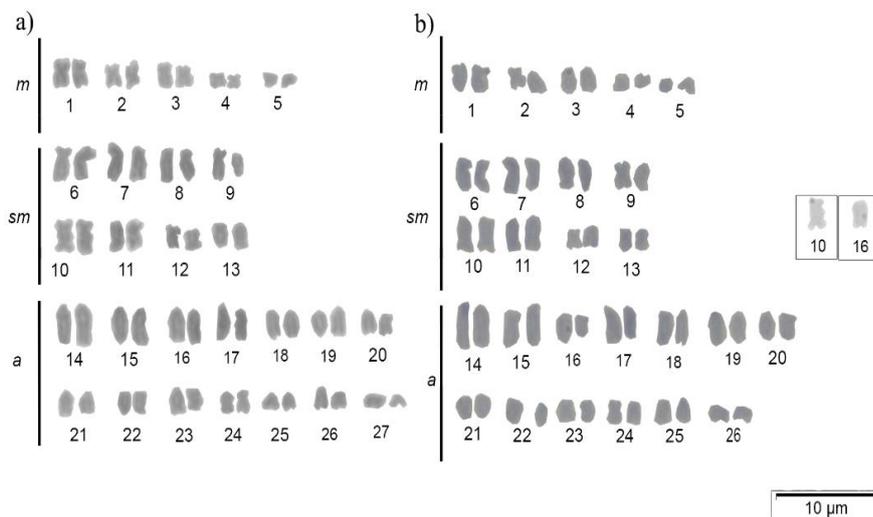
Para a preparação e obtenção de cromossomos mitóticos foi utilizada a técnica “*in vitro*” adaptada por Foresti et al. (1996). O bandamento C seguiu o protocolo descrito por Sumner (1972). A impregnação por nitrato de prata seguiu o protocolo proposto por Howell e Black (1980).

As contagens cromossômicas e observações mais detalhadas foram feitas com a objetiva de imersão no microscópio óptico, em aumento de 1000 vezes. As melhores metáfases foram capturadas em fotomicroscópio Olympus BX53 com câmera digital QColor5M acoplada. A classificação cromossômica seguiu o proposto por Levan et al. (1964) adotando-se os seguintes limites para a relação de braços (RB): RB= 1,00-1,70, metacêntrico (m); RB= 1,71-3,00, submetacêntrico (sm); RB= 3,01-7,00, subtelocêntrico (st); RB= maior que 7,00, acrocêntrico (a). Na determinação do número fundamental (NF), os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos serão considerados com 2 braços cromossômicos.

RESULTADOS

Em todos os espécimes aqui analisados de *L. platymetopon* foram encontrados um número $2n = 54$ cromossomos, sendo $10m + 16sm + 28a$, (NF = 80), (Figura 1a) nos quais foram frequentemente observadas uma possível constrição secundária e um único par de cromossomos acrocêntrico. Esse mesmo número diplóide tenho sido reportado semelhantemente em populações de *Loricariichthys anus*, *Rineloricaria stellata* e *Rineloricaria pentamaculata* (PORTO; PORTELA-CASTRO; MARTINS-SANTOS, 2011; TAKAGUI; VENTURELLI; DIAS et al., 2014), sugerindo que este possa ser considerado um número basal para o grupo e que tais espécies podem apresentar alguma relação filogenética.

Figura 1: Cariótipo em Giemsa (a), Bandeamento-C (b) e Ag-NORs (in box).



Fonte: Autoria Própria, 2021

Takagi et al. (2020) analisaram populações de *L. platymetopon* provenientes do rio Paranapanema e encontraram um número diploide de $2n=54$, com fórmula cariotípica de $10 m + 16 sm + 28 a$, and $FN = 80$, sem evidências de dimorfismos sexuais. O fato de encontrarmos o mesmo número diploide e mesma fórmula cariotípica em populações distintas de *L. platymetopon* reforça a conservação na macroestrutura cariotípica desta espécie.

As marcações por Bandeamento C mostraram marcações de heterocromatina recorrentes nas regiões pericentroméricas em alguns dos cromossomos, com diferenças pontuais em poucos cromossomos. Outros estudos com *L. platymetopon*, como os de Takagi et al. (2014) que analisaram populações provenientes do rio Iguaçu, descreveram padrões semelhantes de distribuição de heterocromatina na região pericentrométrica dos cromossomos, com algumas variações nos números de marcações, mostrando ser esta uma característica conservada e recorrente nas populações desta espécie.

As marcações obtidas pela impregnações por Nitrato de Prata (Ag-NORs) foram observadas em um cromossomo do par submetacêntrico 16 em posição terminal, bem como na posição pericentrométrica de um cromossomo do par cromossômico 10. Um padrão similar de marcações na região pericentrométrica foram registradas por Porto et al. (2011) em populações de *Rineloricaria* de uma população proveniente do rio Keller, tanto nas NORs quanto nas regiões heterocromáticas dos cromossomos.

Embora as limitações da coleta tenham proporcionado apenas indivíduos do sexo masculino, é observado de forma recorrente na literatura que o grupo *Loricariidae* tem apresentado uma alta variedade cariotípica no que condiz a variações do número diplóide e cromossomos sexuais associados a diversos casos de polimorfismos numéricos e estruturais (ARAI, 2011). Numa perspectiva evolutiva, alguns autores consideram que o grupo diversificou-se de um ancestral consistindo de 54 cromossomos, com NORs intersticiais e poucos blocos de heterocromatina (TAKAGUI et al., 2020; ZIEMNICZAK et al. 2012; ARTONI & BERTOLLO, 2001).



CONCLUSÃO

As análises em *L. platymetopon* indicaram conservação do número diplóide dentro do gênero com $2n=54$, com poucas variações na fórmula cariotípica e uma variação grande de marcações por blocos heterocromáticos que demanda análises mais aprofundadas para uma melhor compreensão. Quanto as marcações por Ag-NOR, observou-se que as marcações tem sido frequentemente reportadas em posição pericentromérica, coincidindo com os resultados obtidos neste trabalho, o que pode indicar uma possível relação que também demanda maiores análises. Os resultados obtidos neste trabalho ainda são prévios, porém contribuem para um melhor entendimento da diversidade cromossômica da espécie.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Santa Helena pelo fomento e permissão para utilização da estrutura, ao ICMBio pela autorização para a coleta, à Polícia Ambiental de Santa Helena pelo apoio nas atividades de campo e todos os integrantes do Grupo de Estudos em Ictiologia Neotropical - GEIN.



REFERÊNCIAS

- ARAI, R. **Fish Karyotypes: A Check List**. Springer, Tokyo, 2011.
- ARTONI R. F., BERTOLLO L. A. C. **Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes)**. *Hereditas.*; 134(3): 201-10. 2001.
- DE PINNA, M. C. C. **A new sarcoglanidine catfish, phylogeny of its subfamily, and an appraisal of the phyletic status of the Trichomycterinae (Teleostei, Trichomycteridae)**. *Am Mus Novit* . 1989; 2950:1-25.
- FORESTI, F., C. OLIVEIRA; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.. **A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine**. *Cellular and Molecular Life Sciences*. v. 49. p. 810-813. 1993.
- FRICKE, R., ESCHMEYER, W. N. & R. VAN DER LAAN. **ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES**. The California Academy of Sciences. 2021.
- GRIFFITHS, S. P. **The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes**. *Journal of Fish Biology*. v. 57, p. 1453-1464. 2000.
- HOWELL, W.; BLACK, D. A. **Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method**. *Experientia*. v. 36, p. 1014-1015. 1980.
- MALABARBA J. FERRER L. **Systematic revision of the Neotropical catfish genus Scleronema (Siluriformes: Trichomycteridae)**, with descriptions of six new species from Pampa grasslands. *Neotropical Ichthyology*. 18 (2). 2020.
- PAIXÃO, A. **Revisão Taxonômica e filogenia de *Loricariichthys* Bleeker, 1862 (Ostariophysi: Siruliformes: Loricariidae)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2012.
- PORTO E. F., PORTELA-CASTRO A. L., MARTINS-SANTOS I. C. **Chromosome polymorphism in *Rineloricaria pentamaculata* (Loricariidae, Siluriformes) of the Paraná river basin**. *Ichthyol Res*; 58:225–231. 2011.
- RAREDON, S. **Catfish Species Inventory Image Base**. Disponível em:< <http://acsi.acnatsci.org/base/>>. Acesso em 15 Set. 2021.
- REIS, R. E. & E. H. L. PEREIRA.. **Three new species of the loricariid catfish genus *Loricariichthys* (Teleostei: Siluriformes) from Southern South America**. *Copeia*, 4: 1029-1047. 2000.
- SUMNER, A. T. **A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin**. *Experimental Cell Research*. v. 75, p. 304-306. 1972.
- TAKAGUI F.H., VENTURELLI N.B., DIAS A.L, SWARC, A. A.C., VICARI M. R., FENOCCHIO A.S., et al. **The importance of pericentric inversions in the karyotypic diversification of the species *Loricariichthys anus* and *Loricariichthys platymetopon***. *Zebrafish*;11:300–305. 2014.
- TAKAGUI, F. H. et al. **Unrevealing the Karyotypic Evolution and Cytotaxonomy of Armored Catfishes (Loricariinae) with Emphasis in *Sturisoma*, *Loricariichthys*, *Loricaria*, *Proloricaria*, *Pyxiloricaria*, and *Rineloricaria***. *ZEBRAFISH* Volume 17, Number 5, 2020.
- TEIXEIRA DE MELLO, F., N. VIDAL, I. GONZALEZ-BERGONZONI & C. IGLESIAS. **Length-weight relationships of eight fish species from the lower section of the Uruguay River (Río Negro, Uruguay)**. *Journal of Applied Ichthyology*, 25: 128-129. 2009.
- ZIEMNICZAK K., BARROS A. V., ROSA K. O., NOGAROTO V., ALMEIDA M. C., CESTARI M. M., MOREIRA-FILHO O., ARTONI R. F., VICARI M. R. **Comparative cytogenetics of Loricariidae (Actinopterygii: Siluriformes): emphasis in Neoplecostominae and Hypoptopomatinae**. *Ital J Zool.*; 79(4):492-501. 2012.