

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ESTUDO CITOGENÉTICO DE DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO**  
***Hypostomus* (PISCES, LORICARIIDAE) DO RIO UBERABINHA -**  
**UBERLÂNDIA/MG.**

Karine Almeida Dias

Monografia apresentada à Coordenação do Curso  
de Ciências Biológicas , da Universidade Federal  
de Uberlândia, para a obtenção do grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas

Uberlândia - MG

Julho/2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO CITOGENÉTICO DE DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Hypostomus*  
(PISCES, LORICARIIDAE) DO RIO UBERABINHA - UBERLÂNDIA/MG.

Karine Almeida Dias

Sandra Morelli

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Ciências Biológicas, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
a obtenção do grau de bacharel em  
Ciências Biológicas

Uberlândia - MG


Julho/2004


UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS


ESTUDO CITOGENÉTICO DE DUAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Hypostomus*  
(PISCES, LORICARIIDAE) DO RIO UBERABINHA - UBERLÂNDIA/MG

Karine Almeida Dias

Aprovado Pela Banca Examinadora Em 21/07/04 Nota 100

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Sandra Morelli

  
Prof. Dr. José Fernando Pinese

  
Prof. Msc. Luis Carlos Guilherme

Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Biologia  
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Uberlândia, 02 de julho de 2004 .

## Resumo

Esta pesquisa foi realizada com 08 exemplares de peixes, sendo 5 machos e 3 fêmeas, da espécie *Hypostomus variipictus*, e 02 exemplares (1 macho e 1 fêmea) de *Hypostomus sp.*, pertencentes à família Loricariidae, que apresentaram algumas metáfases em condições possíveis de análise.

As coletas desses peixes foram realizadas em diferentes ocasiões do ano. Primeiramente, foram preparados os cromossomos mitóticos, para as duas espécies. Na seqüência foi feita a detecção das NORs pela impregnação com nitrato de Prata e, por fim, a detecção de heterocromatina constitutiva para *Hypostomus variipictus*.

Os estudos cromossômicos em *Hypostomus variipictus* mostraram que a população possui  $2n=72$  cromossomos para machos e fêmeas, apenas um par marcado pela Prata e não possui diferenças cromossômicas entre os sexos. O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva obedeceu ao já descrito para o gênero *Hypostomus* em espécies com número elevado de cromossomos.

Os *Hypostomus sp.* apresentaram número cromossômico diploide igual a 68, mostrando assim uma ampla variabilidade cariotípica no gênero *Hypostomus*.

Palavras-Chaves: Citogenética, *Hypostomus*, NOR

**“Aos meu pais Paulo Dias e Cibele e meus irmãos Paulo Júnior e Brunno”**

## Agradecimentos

Agradeço à Deus que permitiu que eu não perdesse a garra e a vontade de vencer.

Aos meus pais, Paulo Dias e Cibele que sempre tiveram palavras amorosas e apoio insuperável nos momentos mais difíceis.

Aos meu irmãos Paulo Júnior e Brunno pelo seu amor e carinho em todos os instantes.

À minha querida orientadora Sandra Morelli, que não mediu esforços para que este trabalho pudesse ser feito;

A toda minha família que me incentivou e confiou em mim, principalmente minha tia Eliana, pela sua grande disposição em me ajudar sempre; à minha madrinha Lourdes por torcer tanto pela minha vitória e às minhas avós Hercília e Sebastiana que me amaram todo esse tempo incondicionalmente;

Aos amigos do Laboratório de Citogenética pelo companheirismo e agradável convívio;

Ao colega Luis Guilherme pela ajuda na captura dos peixes;

A duas grandes companheiras Milena e Ana Cristina pelo auxílio, incentivo e amizade.

Aos meus amigos de turma que sempre estiveram ao meu lado, nas horas difíceis e nas horas de muita festa;

A todos meu grandes amigos e colegas que souberam perdoar a minha ausência e pacientemente aguardaram meu retorno, me incentivaram e estiveram por perto em cada momento, especialmente, Larissa, Patrícia, Grazielle, Sarah, Alcione e Rodrigo.

## Índice

1.	INTRODUÇÃO .....	1
1.1.	Considerações Gerais.....	1
1.2.	Gênero <i>Hypostomus</i> .....	2
2.	OBJETIVOS .....	6
2.1.	Objetivo geral:.....	6
2.2.	Objetivos específicos: .....	6
3.	Materiais e Métodos.....	7
3.1.	Materiais.....	7
3.2.	Metodologia .....	7
3.2.1.	Preparação dos cromossomos mitóticos .....	7
3.2.2.	Deteção das NORs pela impregnação com nitrato de Prata (Ag-NORs).....	8
3.2.3.	Deteção da Heterocromatina Constitutiva- Banda C .....	9
4.	Resultados e Discussão .....	10
5.	Conclusão .....	19
6.	Referências Bibliográficas .....	20

## Lista de Figuras

Figura 1 – Exemplar de <i>Hypostomus variipictus</i> medindo 28 cm.....	10
Figura 2 – Gráfico do número 2n para fêmeas de <i>Hypostomus variipictus</i> .....	11
Figura 3 – Gráfico do número 2n para machos de <i>Hypostomus variipictus</i> .....	11
Figura 4 – Gráfico do número 2n para fêmea de <i>Hypostomus sp</i> .....	12
Figura 5 – Cariótipo de <i>Hypostomus variipictus</i> com coloração Giemsa convencional.....	13
Figura 6 – Cariótipo de <i>Hypostomus sp</i> com coloração Giemsa convencional.....	14
Figura 7 - Metáfase de <i>Hypostomus variipictus</i> tratada com nitrato de Prata.....	16
Figura 8 - Metáfase de <i>Hypostomus variipictus</i> evidenciando as regiões de heterocromatina constitutiva.....	18



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Considerações Gerais.

A citogenética de peixes neotropicais tem se desenvolvido de modo notável nas últimas décadas, embora os dados cromossômicos obtidos ainda sejam poucos frente à grande variedade de espécies existentes (GUERRA, 1988). Ciência híbrida, originariamente constituída de genética e citologia, e realçada pelas descobertas nos campos da microscopia eletrônica, da cultura de tecidos, da bioquímica e da microbiologia. Seus estudos vão muito além do simples entendimento da transmissão, continuidade dos genes e cromossomos; relacionam-se, também, com a arquitetura molecular do cromossomo e tenta compreendê-lo em termos da função genética (SWANSON, 1969).

Apesar de os estudos citogenéticos, de peixes neotropicais, terem se iniciado na década de 70, as pesquisas mostram que ainda há muito que se estudar, principalmente, porque os peixes constituem o grupo mais numeroso e diversificado entre os vertebrados. Seus habitats variam de acordo com a espécie, já o tamanho, o colorido e a forma de seus corpos podem representar estratégias de reprodução e seus ciclos de vida.

Além disso, por possuírem uma posição basal na filogenia, por apresentarem um grande número de espécies e características biológicas peculiares, os peixes representam um dos melhores grupos para estudos genéticos, citogenéticos e evolutivos (TOLEDO-FILHO *et al.* 1978).

Além da importância comercial de alguns grupos, os peixes constituem-se em expressiva fonte de proteína animal para a população humana e a pesca constitui-se como uma importante atividade de subsistência e lazer para muitas pessoas.

E entre os peixes neotropicais, os Loricariidae, comumente conhecidos como cascudos, ocupam o segundo lugar em número de espécies. Eles se distribuem por todo neotrópico, ocupando habitats muito variados, o que demonstra a sua capacidade adaptativa (ARTONI e BERTOLLO, 1999).

## 1.2. Gênero *Hypostomus*

Segundo BRITSKI (1972), *Hypostomus* é o gênero de cascudos dominante nos rios brasileiros. O número de espécies do gênero *Hypostomus* - peixe de água doce - é grande e a sua sistemática extremamente confusa. São cerca de 116 espécies de peixes de *Hypostomus* da família Loricariidae, que está amplamente distribuída na região neotropical. Esses peixes da ordem Siluriforme apresentam os corpos recobertos por escudos dérmicos e a boca ventral em forma de ventosa.

Apresentam o dorso e os lados revestidos por uma armadura de placas ósseas, grandes, contíguas, mais ou menos carenadas, com uma a três placas pós-occipitais. O abdome apresenta placas aciculadas, as quais, quando completas, vão do focinho, em torno dos lábios, até o ânus. (GUIA ILUSTRADO DE PEIXES DA BACIA DO RIO GRANDE, 2000).

Os cascudos vivem no fundo, alimentam-se de algas do perifiton e de detritos. São apreciados como alimentos em algumas regiões do país. As espécies menores deste gênero são utilizadas com fins ornamentais, conhecidas como "limpa-vidros" por se alimentarem do lodo que se acumula nas paredes dos aquários.

Os cascudos podem ficar fora d'água por longo tempo, isto porque além de respirarem pelas brânquias, o fazem também pelo estômago. Esses peixes possuem características biológicas que lhes proporcionam acentuada importância ecológica, nesse sentido salientando o hábito alimentar detritívoro-herbívoros, atuando assim, como premineralizadores de matéria orgânica antes do seu reingresso na cadeia alimentar. E, existem espécies de cascudos com importância bioeconômica, por exemplo, o

*Rhinelepis aspera*, encontrada na bacia do Paraná, onde se constitui num importante recurso pesqueiro (ARTONI, 1988).

Montoya et al. (1988) apud in CRUZ e LANGEANI (2000) esclarecem que são conhecidas, na família, mais de 600 espécies, agrupadas em cerca de 70 gêneros; compreendendo aproximadamente 24% de todas as espécies conhecidas de bagre; sua diversidade é maior que a de muitos outros grupos de teleósteos neotropicais.

Os *Hypostomus* apresentam uma série de particularidades cromossômicas próprias do grupo, como variação no tipo de NORs no mesmo gênero e outros, e que são, sem dúvida, de grande interesse para a citogenética de peixes. Do ponto de vista citogenético, foram poucas espécies do gênero *Hypostomus* estudadas até o momento e os números diplóides encontrados variam de  $2n = 52$  a  $2n = 84$ . Vale ressaltar que cariótipos apresentam cromossomos dos tipos metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos (FENERICH et al. 1998).

A variabilidade cariotípica na família Loricariidae não é só sentida pelo número de cromossomos, mas também por sua estrutura cromossômica, levando a diferentes fórmulas cariotípicas. Uma variação ampla tem sido verificada para o número cromossômico diplóide nos Loricariidae, variando de  $2n=44$ , em uma espécie de Loricariinae a  $2n=80$  em uma espécie de Hypostaminae (ARTONI, 1996).

Os Loricariinae tem se mostrado bastante diversificados em relação à macroestrutura do cariótipo, com amplitude para o número cromossômico diplóide de  $2n=44$  para *Rhineloricaria latirostris* a  $2n=62$  para *Loricaria* sp (ARTONI, 1996).

Segundo HOWEL e BLACK (1980) as variações mais frequentes nos cromossomos referem-se a diferenças nas regiões organizadoras de nucléolos (NORs).

Nas regiões organizadoras de nucléolo se situam os genes que produzem determinados tipos de RNA ribossomais, os quais constituirão grande parte do nucléolo. Pela técnica de impregnação pelo nitrato de Prata, são coradas as proteínas residuais que permaneceram aderidas as NORs após as atividades transcricional desta região para a formação do nucléolo (GUERRA, 1988)

As NORs abrigam o DNA ribossômico, o qual RNA ribossômico é o componente fundamental dos ribossomos. Estes atuam na tradução do RNA mensageiro produzindo as proteínas. É esta importância do RNA ribossômico na síntese protéica que justifica o enorme interesse dessas regiões cromossômicas (GUERRA, 1988).

O estudo das NORs, além de contribuir para o conhecimento da estrutura cromossômica, pode fornecer informação a respeito da atividade gênica dessas regiões, bem como possíveis alterações cromossômicas estruturais que tenham ocorrido ao longo da evolução das espécies.

Os peixes neotropicais podem apresentar dois padrões de distribuição de NORs: alguns grupos as NORs localizam-se em um único par de cromossomos, enquanto outros grupos apresentam NORs em vários cromossomos do cariótipo, são as NORs simples e NORs múltiplas, respectivamente (ARTONI, 1996).

De acordo com GOLD (1984); GALLETI et al. (1984); MOREIRA FILHO, et al. (1984), a ocorrência de NORs simples tem se mostrado mais freqüente entre os peixes estudados sob este aspecto. Entre essas espécies, situações polimórficas que envolvem diferenças de tamanho das marcações entre cromossomos homólogos, são muito freqüentes. (FORESTI et al. 1981). A diferença de tamanho, segundo Gold (1979) é verificada entre os Hypostominae, principalmente nas espécies com NORs simples, onde é comum a presença de um cromossomo com região organizadora de nucléolo maior que a do seu homólogo.

Há uma grande variabilidade, também em relação à heterocromatina constitutiva, que é a heterocromatina que ocorre em porções homólogas do par cromossômico, que apresentam heteropiconose, composta, em grande parte, por DNA altamente repetitivo. Também é chamada de DNA satélite, pois se apresenta em uma banda separada da banda principal em centrifugação em gradiente de cloreto de cézio. Acredita-se que esse DNA não seja codificante. A heterocromatina constitutiva é permanentemente não transcrita e não um caso de repressão da atividade gênica. O bandamento C e o método de análise mais comum da heterocromatina (PIECZARKA e MATTEVI, 1998). Por este método, o DNA é preferencialmente eliminado das regiões eucromáticas e, portanto, estas não se apresentam tão fortemente marcadas como a heterocromatina após a coloração com Giemsa (COMINGS, 1973).

A variabilidade de respostas a diferentes técnicas de bandeamentos e análises de DNA tem sugerido uma natureza heterogênea para a heterocromatina constitutiva, podendo estar refletida em diversidade de função. Essa heterogeneidade de heterocromatina é um evento comum em muitos organismos (ROCCHI, 1982).

ARTONI (1996) classificou várias espécies de *Hypostomus* com variedades de heterocromatina constitutiva encontrando com frequência marcações bem evidentes e outras mais pálidas em cromossomos tratados pelo bandeamento C.

Há uma tendência para os Loricariidae e também para os Siluriformes que se refere à presença de pouca heterocromatina nos cromossomos, geralmente com localização telomérica e/ou centromérica. Porém algumas espécies podem apresentar uma quantidade relativamente maior de bandas heterocromáticas. Por vezes, esta heterocromatina aparece associada às regiões organizadoras de nucléolos (NORs).

ANDREATA et al.(a) (1993) mostraram que as poucas espécies de Loricariidae que apresentaram mecanismos cromossômicos de determinação do sexo comprovados como *Pseudotocinclus tietensis* (XXXY) e *Microlepidogaster leucofrenatus* (ZZIZW) (ANDREATA et al.(b).1993), ambos Hypoptopomatina, evidenciam acúmulo de heterocromatina constitutiva na diferenciação desses sistemas.

SCAVONE e JULIO (1995) apontam uma exceção que ocorre nos Loricariinae onde um sistema XX/XY de determinação sexual envolve a perda de um segmento eucromático sendo um processo de heterocromatinização ausente.

As variações morfológicas e numéricas entre os *Hypostomus* são muito frequentes por isso a comparação entre as populações é de grande importância para a ampliação do conhecimento da citogenética de peixes de água doce da região neotropical. Desta forma, abre-se uma perspectiva para o nosso tipo de análise nos *Hypostomus*, uma vez que pretendemos analisar a organização dos cromossomos desse grupo, a partir das técnicas que possibilitem a evidência de diferentes regiões cromossômicas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral:

O objetivo deste trabalho foi estudar citogeneticamente duas populações pertencentes ao gênero *Hypostomus*, encontradas na bacia do rio Uberabinha (Uberlândia-MG).

Tal estudo visa contribuir para uma ampliação do conhecimento da citogenética desses peixes de água doce da região neotropical.

### 2.2. Objetivos específicos:

Estudar as características cromossômicas de diferentes populações de *Hypostomus*, utilizando a coloração Giemsa convencional;

Definir a localização das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) através da técnica de impregnação de nitrato de Prata;

Observar o padrão de distribuição de heterocromatinas constitutivas com técnica de Banda C.

Comparar cariotipicamente as duas espécies do gênero *Hypostomus*.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Materiais

A coleta dos exemplares de *Hypostomus* para esta pesquisa foi feita no rio Uberabinha, sob a ponte da avenida Getúlio Vargas, do perímetro urbano do município de Uberlândia, MG.

#### 3.2. Metodologia

##### 3.2.1. Preparação dos cromossomos mitóticos

Técnica de preparações diretas, adaptada por BERTOLLO et al. (1978), para estudos cromossômicos em peixes, com pequenas mudanças:

- Injetar, intra-peritonealmente, colchicina a 0,025%, na proporção de 1 ml/100g de peso do animal;
- Deixar o peixe em um aquário bem aerado, por aproximadamente uma hora, sacrificando-o a seguir e retirando os órgãos desejados (rim cefálico);
- Lavar rapidamente um fragmento do órgão retirado (rim cefálico) em solução hipotônica de KCl 0,075M;
- Transferir o material para uma pequena cuba de vidro, contendo 8 a 10 ml de solução hipotônica de KCl a 0,075M;
- Fragmentar bem o material, com auxílio de pinças de dissecação, completando-se este processo com uma seringa hipodérmica, desprovida de agulha, através de leves movimentos de aspiração e expiração do material, facilitando-se a separação das células, até se obter uma suspensão celular homogênea;

- Colocar a suspensão obtida a 36-37° C, durante 20 minutos;
- Suspende novamente o material com bastante cuidado, com auxílio de uma pipeta Pasteur, e transferir a suspensão obtida para um tubo de centrifuga;
- Acrescentar algumas gotas de fixador, recém preparado, (álcool metílico : ácido acético- 3:1), suspender novamente o material e centrifugar por 10 minutos, a 900 rpm, descartando o sobrenadante com pipeta Pasteur;
- Adicionar, vagarosamente 5-7 ml de fixador recém preparado, deixando escorrer através das paredes do tubo;
- Suspende novamente o material, cuidadosamente, com auxílio da pipeta Pasteur;
- Repetir os itens 8 a 10 por duas vezes. Após a última centrifugação e eliminação do sobrenadante, adicionar 1 ml de fixador e suspender novamente bem o material. Este poderá então ser guardado em geladeira, acondicionado em pequenos frascos tipo "ependorff", ou trabalhado conforme os seguintes passos;
- Pingar 3-4 gotas da suspensão obtida, sobre diferentes regiões de uma lâmina bem limpa e seca, que deve estar sobre uma placa aquecida, a 62°C.
- Deixar secar ao ar.
- Corar com solução de Giemsa a 5%, em tampão fosfato (pH=6,8), durante 8 minutos.
- Lavar a lâmina com água destilada e deixar secar ao ar.

### 3.2.2. Detecção das NORs pela impregnação com nitrato de Prata (Ag-NORs)

A técnica apresentada a seguir foi descrita por HOWELL e BLACK (1980).

- Colocar uma gota de solução de gelatina a 2% acrescida de ácido fórmico, na proporção de uma parte para 100 de solução e 2 gotas de solução aquosa de nitrato de prata a 50%, sobre lâmina preparada para cromossomos mitóticos;
- Misturar as duas soluções e cobrir com lamínula;
- Transferir para estufa a 70° C. Decorridos alguns minutos (5 a 6), a lâmina adquire uma coloração amarelada, passando para marrom dourada;
- Remover a lamínula com água e lavar bem a lâmina em água deionizada;
- Secar e examinar ao microscópio.



### 3.2.3. Detecção da Heterocromatina Constitutiva- Banda C

Técnica descrita por SUMNER (1972) com algumas modificações:

- Tratar a lâmina contendo os cromossomos mitóticos com uma solução de HCl 0,2N, à temperatura ambiente, durante 15 minutos.
- Lavar em água deionizada e secar ao ar.
- Submergir as lâminas numa cuba com 2 x 2xSSC por 15 minutos.
- Lavar e secar ao ar.
- Submergir as lâminas em um cuba com hidróxido de Bário a 5% por 01 a 30 minutos, a 41°C.
- Lavar em solução de HCl 0,2N e em seguida em água deionizada e secar ao ar.
- Incubar as lâminas numa solução salina de 2 2xSSC, aquecida por 45 minutos a 60°C.
- Lavar em água deionizada e secar ao ar.
- Corar com Giemsa a 2%, em tampão fosfato pH 6,8 durante 20 a 30 minutos
- Lavar em água deionizada e secar ao ar.

#### 4. Resultados e Discussão

Foram coletados 11 exemplares de *Hypostomus variipictus* (figura 1), provenientes do Rio Uberabinha (Uberlândia MG). Os cromossomos foram obtidos através da técnica de preparação direta e apenas 8 indivíduos (3 fêmeas e 5 machos) apresentaram metáfases em condições possíveis de análise. O número cromossômico diplóide observado foi de  $2n=72$  cromossomos para machos e fêmeas. O cariótipo é constituído de 6 pares de cromossomos metacêntricos, 13 pares de submetacêntricos, 5 pares de subtelocêntricos e 12 pares de acrocêntricos (figura 5). Nas figuras 2 e 3 é possível observar a quantidade de cada número cromossômico encontrados nos exemplares analisados.

Figura 1 – Exemplar de *Hypostomus variipictus* medindo 28 cm

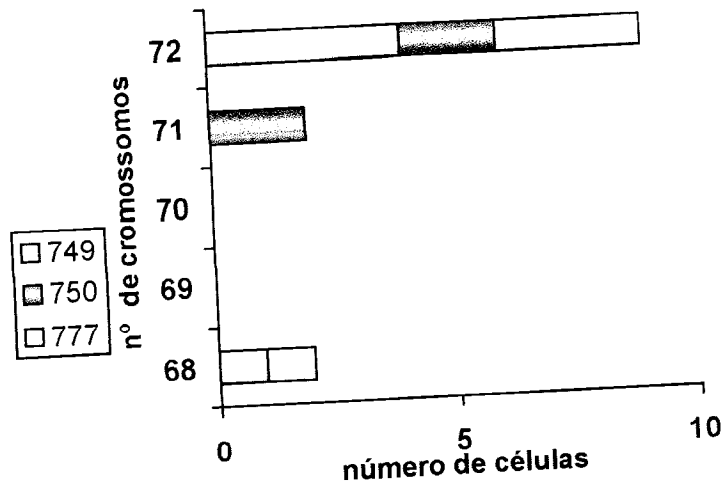


Figura 2 – Gráfico do número  $2n$  para fêmeas de *Hypostomus variipictus*

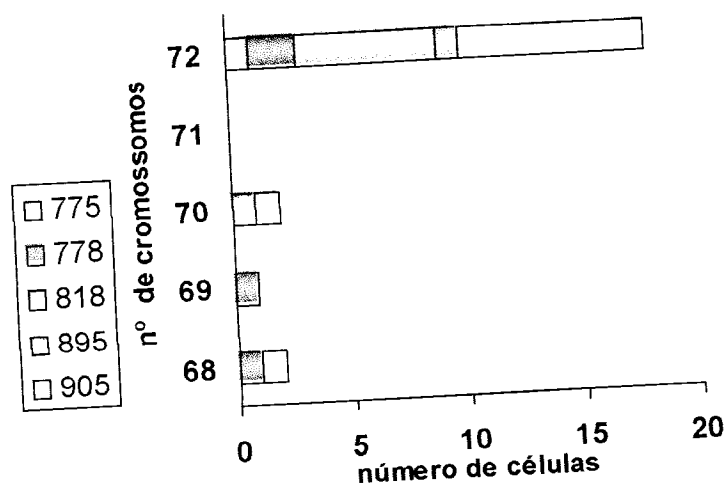


Figura 3 – Gráfico do número  $2n$  para machos de *Hypostomus variipictus*

Dos 2 exemplares de *Hypostomus sp.* coletados (1 macho e 1 fêmea), no rio Uberabinha, apenas um apresentou resultados proveitosos. Várias metáfases foram encontradas apresentando um número diplóide de 68 cromossomos para a maioria das

metáfases em 6 lâminas (A a F) do mesmo exemplar (figura 4). O cariótipo é constituído de 10 pares de cromossomos do tipo metacêntricos, 8 pares de submetacêntricos e 4 pares de subtelo-cêntricos e 12 pares de acrocêntricos.

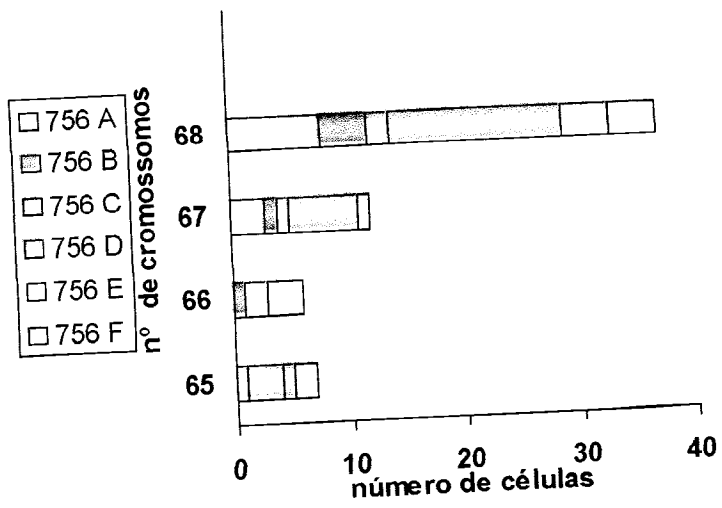


Figura 4 – Gráfico do número 2n para fêmea de *Hypostomus sp*

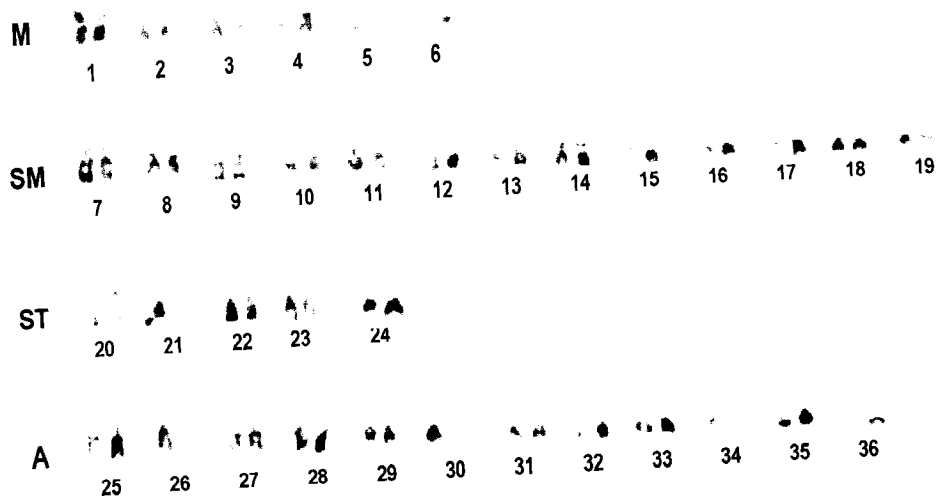


Figura 5 – Cariótipo de *Hypostomus variipictus* com coloração Giemsa convencional, exemplar do sexo masculino .

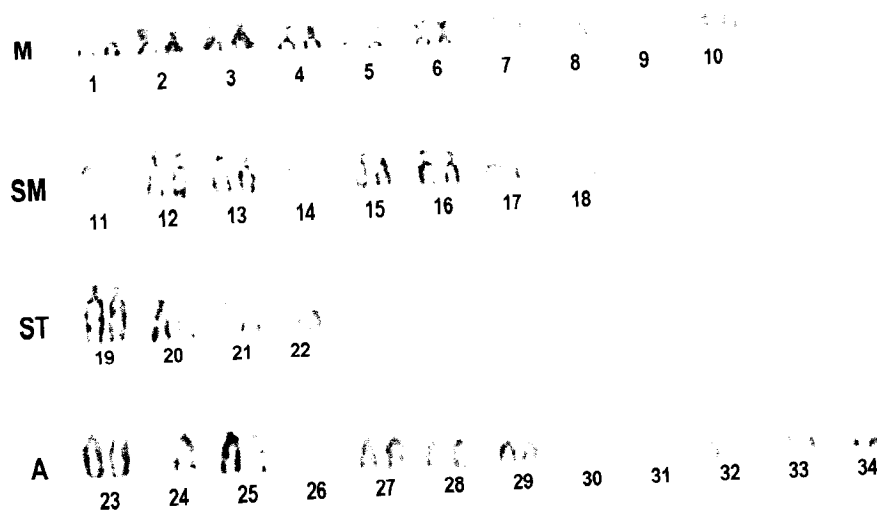


Figura 6 – Cariótipo de *Hypostomus* sp com coloração Giemsa convencional, exemplar do sexo feminino.

Encontra-se uma ampla variabilidade cariotípica no gênero *Hypostomus*, seja quanto ao número cromossômico diplóide, como também quanto à macroestrutura dos tipos e bandeamentos cromossômicos. Como foi evidenciado por ARTONI (1996), em doze espécies diferentes o número cromossômico variou de  $2n=52$  a  $2n=80$  cromossomos, e apresentando também, estruturas cariotípicas bastante diversificadas.

Em *H. ancistroides* do rio Mogi Guaçu, município de Pirassununga, SP, ARTONI (1996) observou um cariótipo de  $2n=68$  cromossomos para machos e fêmeas, com tipos de cromossomos similares ao de *Hypostomus* sp. A, porém com diferença de dois cromossomos que se encontram a mais nesta espécie.

ARTONI (1996), também analisou duas espécies diferentes de *Hypostomus* com o mesmo número diplóide de cromossomos  $2n=72$  que se diferenciaram na quantidade de metacêntricos e submetacêntricos, como *Hypostomus regani* e *Hypostomus* sp. B.

Apesar do número de cromossomos de 4 espécies de *Hypostomus*, estudadas por ARTONI (1996), ser o mesmo que o de *Hypostomus variipictus* existem diferenças nos tipos cromossômicos (figura 5). A maioria dos cromossomos dos *Hypostomus*, analisados por Artoni, possui seus cromossomos do tipo submetlocêntricos, diferente do *Hypostomus variipictus* que apresenta sua maioria de cromossomos do tipo submetacêntricos.

Em *Hypostomus* sp observa-se uma grande semelhança com a macroestrutura cariotípica de *Hypostomus ancistroides* estudados ARTONI (1996), esta similaridade está presente, não só quanto aos tipos de cromossômicos, como também pela presença de um grande par submetlocêntrico, este o maior no lote.

As alterações cromossômicas que se apresentaram mais marcantes entre os *Hypostomus* foram provavelmente os rearranjos robertsonianos, embora não possam ser descartados outros mecanismos. Nesse grupo pode-se notar grande variação interespecífica no número diplóide, sendo que nas espécies com menores números diplóides predominam cromossomos com dois braços (M-SM), situação que de um modo geral se inverte nas espécies com maiores números diplóides, onde predominam os cromossomos ST-A (ARTONI, 1996).

Esta condição quando analisada em comparação com grupos externos próximos de *Hypostomus*, como por exemplo, *Rinelepsis*, entre outros, permite considerar as espécies com números diplóides mais baixos como mais conservadas e as demais, que

então teriam seus números cromossômicos aumentados, como derivadas cariotipicamente (ARTONI, 1996), sugerindo que mecanismos de fissões cêntricas estariam relacionados à evolução dos cariótipos neste grupo.

Apesar da estrutura do cariótipo dos *Hypostomus* não ser conservada, ela proporciona condições de caracterização individual de diferentes espécies, podendo ser considerados como diagnósticos, dados de número diplóide, fórmula cromossômica, número e posição de NORs e quantidade e distribuição da heterocromatina constitutiva.

O estudo das NORs, para *Hypostomus variipictus*, mostrou marcações no braço menor de um par submetacêntrico, como mostrado na figura 7, indicando um sistema de NORs simples. Este é, segundo vários autores, a situação mais comum entre os Loricariidae, mas não para o grupo dos *Hypostomus*.



Figura 7- Metáfase de *Hypostomus variipictus* tratada com nitrato de Prata, evidenciando as Regiões Organizadoras de Nucléolos.

Entre a maioria dos peixes estudados na família Loricariidae, segundo GOLD (1984); GALLETTI *et al.* (1984); MOREIRA FILHO, *et al.* (1984), a ocorrência de NORs simples tem se mostrado mais frequente. Nos *Hypostomus* as NORs mostram-se bastante variáveis. Além de frequente polimorfismo de tamanho dessas regiões, entre cromossomos homólogos, verifica-se a presença de espécies com um só par de NORs e outras com NORs em vários cromossomos, sendo essas últimas as mais frequentes



neste gênero (ARTONI; BERTOLLO,1992). Nos *Hypostomus* estudados por ARTONI (1996) a maioria apresentou NORs múltiplas.

Após a análise citogenética de duas populações de *Hypostomus*, classificadas como *Hypostomus* sp B e *Hypostomus regani*, ambos com 72 cromossomos, ARTONI (1996) verificou a presença de sistema simples em uma população e múltipla em outra, mostrando assim a divergência com relação ao caráter regiões organizadoras de nucléolo.

Segundo HSU et al. (1975), a ocorrência de NORs múltiplas deve ser uma situação derivada em relação à condição de NORs simples, desta forma o padrão de NORs para população de *Hypostomus variipictus* seria a condição primitiva.

O emprego da técnica de bandamento C em *Hypostomus variipictus* permitiu a visualização de conspícuas bandas heterocromáticas em regiões teloméricas no braço maior de cromossomos do tipo submetacêntrico e acrocêntrico, além de bandas intersticiais em um par submetocêntrico. Há presença de marcações bem evidentes e outras mais pálidas nesses cromossomos tratados pelo bandamento C (Figura 8).



Figura 8 - Metáfase de *Hypostomus variipictus* evidenciando as regiões de heterocromatina constitutiva.

Os *Hypostomus* têm, geralmente, apresentado pouca heterocromatina constitutiva, freqüentemente associados a NORs, além da localização

centromérica/telomérica, em alguns cromossomos do cariótipo. Segundo ARTONI (1996), nas espécies com números diplóides mais baixos, como *Hypostomus emarginatus*, onde a maioria dos cromossomos possui dois braços, a heterocromatina apresenta-se na região telomérica. No entanto essa situação se modifica nas espécies com número diplóide mais elevado, onde os menores cromossomos, de tipo acrocêntrico, possuem marcações teloméricas e os maiores acrocêntricos possuem marcações intersticiais, equívocais e equidistantes do centrômero.

ARTONI (1996) também classificou várias espécies de *Hypostomus* com variedades de heterocromatina constitutiva. Foram bastante evidentes no braço longo e curto de cromossomos submetacêntricos. Porém uma grande parte dos exemplares analisados não proporcionou com clareza a distinção morfológica dos cromossomos marcados pela técnica de bandeamento C.

O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva em *Hypostomus variipictus* foi bastante similar ao descrito por ARTONI (1996) para espécies com número  $2n$  elevado, como é o caso da espécie em questão.

Apesar do *Hypostomus variipictus* apresentarem marcações em cromossomos submetacêntricos no que se refere às heterocromatinas intersticiais, estas são encontradas mais freqüentemente nos grandes cromossomos acrocêntricos, nos *Hypostomus* com número diplóide mais elevado (ARTONI, 1996).

## 5. Conclusões

- Os estudos cromossômicos em *Hypostomus variipictus* mostraram que a população possui  $2n=72$  cromossomos para machos e fêmeas e não possui nenhum sistema de determinação sexual;
- Os *Hypostomus sp* apresentaram número cromossômico diplóide igual a 68 cromossomos;
- O sistema de NORs em *Hypostomus variipictus* mostrou marcações, pelo nitrato de Prata, simples com a presença de um par submetacêntrico com marcação no braço menor, condição primitiva para o gênero.
- No padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva em *Hypostomus variipictus* foram verificadas bandas heterocromáticas em regiões teloméricas no braço maior de cromossomos do tipo submetacêntrico e acrocêntrico, além de bandas intersticiais em um par subtelocêntrico. Obedecendo, assim ao já descrito para o gênero *Hypostomus* em espécies com número elevado de cromossomos.

## 6. Referências Bibliográficas

- ANDREATA, A.A.; ALMEIDA-TOLEDO, I.F.; OLIVEIRA, C. e TOLEDO-FILHO, S.A. 1993a Chromosome studie in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): I. XXXY Sex chromosome heteromorphism in *Pseudotocinclus tietensis*. **Cytologia**, p.57: 369-372.
- ANDREATA, A.A.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; OLIVEIRA, C. e TOLEDO-FILHO, S.A. 1993b Chromosome studie in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). II. ZZ/ZW sex chromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in *Aficrolepdogaster leucofrenatus*. **Cytogenet.Cell Genet**, p.63: 215-220
- ARTONI, R.F. e BERTOLLO, L.A.C. 1992. Regiões organizadoras de nucléolos e heterocromatina constitutiva em peixes do gênero *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae, Hypostominae). **IV Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**, p.56
- ARTONI, R.F. 1998 **Estudos citogenéticos na família Loricariidae, com ênfase no gênero *Hypostomus Lacepede (1803) (Pisces, Siluriformes)***. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de São Carlos.
- ARTONI, R. F. e BERTOLLO, L.A. 1999. Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Genética**, vol.106, p.209-214.
- BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C.S. e MOREIRA FILHO, O. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazil. J. Genet.**, v.1, p.103-120
- BRITSKI, H.A. 1972. Peixes de água doce do estado de São Paulo: Sistemática. In **Poluição e Piscicultura** (Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí ed.), CIBFU, Faculdade de Saúde Pública da USP e Instituto de Pesca, CPRN, AS, São Paulo, p.103.
- COMINGS, D.E.; AVELINO, E.; OKADA, T. e WYANDT, E.H. 1973 The mechanism of C- and G – banding of chromosomes. **Experimental Cell Research**, v.77, p.469-493.

- CRUZ, A.L. e LANGEANI, F. 2000. Comportamento Reprodutivo do Cascudo *Liposarcus anisitsi* (EIGENMANN; KENNEDY, 1903) (OSTARIOPHYSI: LORICARIIDAE: HYPOSTAMINAE) em caliveiro, p 109-115.
- FENERICH, P.O.; FORESTI, F. e OLIVEIRA, C. 1998. Análise comparativa do DNA nuclear e citotaxonomica em *Hypostomus* (Hypostominae) B.12 Botucatu-São Paulo. **VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais** - Londrina - Paraná.
- FORESTI, F., TOLEDO-ALMEIDA, L.F. e TOLEDO-FILHO, S.A. 1981. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. **Cytogenet. Cell Genet.** 31,p.137-144
- GALLETI JR. P.M.; FORESTI, F., BERTOLLO, L.A.O. e MOREIRA FILHO, O. 1984. Characterization of eight species of Annelomidae (Cypriniformes) fishes on the nucleolar organizing region. **Caryologia** 37(4), p.401-408
- GOLD, J.R. 1979: Citogenetics. In: **Fish physiology**. Vol 8
- GOLD, J.R. 1984. Silver-staining and heteromorphism of chromosomal nucleolus organizer regions in North American Cyprinid fishes. **Copeia** 1, p.133-136.
- GUERRA, S.M. 1988. **Introdução a Citogenética Geral**. Ed. Guanabara, p 1-137
- GUIA ILUSTRADO DE PEIXES DA BACIA DO RIO GRANDE 2000**. CEMIG/ CETEC . Belo Horizonte-MG.
- HOWELL, W.M. e BLACK, D.A. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, n36, p.1014-1015.
- HSU, T.C.; SPIRITO, S.E. e PERDUE, M.L. 1975. Distribution of 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. **Chromosoma**. n53:p.41-51

- MOREIRA FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.O.; GALETTI JR. P.M. (1984). Structure and variability of nucleolar organizer regions in Parodontidae fish. **Can. J. Genet. Cytol.**, n26,p.564-568.
- PIECZARKA, J.C. e MATTEVI, M.S. 1998. Heterocromatina constitutiva. **Série monografias** Ed. Sociedade Brasileira de Genética, v.7 p.185-225.
- ROOCHI, A. 1982. On the heterogeneity of heterochromatin. **Caryologia** 35(2),p 169-189.
- SCAVONE, M.D. e JULIO Jr. 1995. Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the maleid eatfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae:Siluriformes). **Brazil. J. Genetic.**, 18 (1):p.31-35
- SUMNER, A.T. 1972. A simple technique for demostrating centromeric heterochromatin. **Expl. Cell. Res** v. 74, p.304-306.
- SWANGON, C.P.; MERZ, T. e YOUNG, W.J. 1989. **Citogenetics** p.20-24.
- TOLEDO-FILHO, S.A.; FORESTI, F. e RIBEIRO, A.F. 1978. Ictiogenética. aspectos básicos e aplicados **Ciência e Cultura**, v.30, p.320-327.