

Citótipos diferentes de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Characiformes, Tetragonopterinae) e descrição cariotípica de *Markiana nigripinnis* Perugia, 1891 (Characiformes, Characidae, *incertae sedis*) de rios da bacia do Rio Paraguai

Different cytotypes of *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Characiformes, Tetragonopterinae), and karyotypical description of *Markiana nigripinnis* Perugia, 1891 (Characiformes, Characidae, *incertae sedis*) from rivers within the Paraguai River basin

Carlos Suetoshi Miyazawa ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Docente da Universidade Federal do ABC (UFABC), CCNH; e-mail: carlosmiya@uol.com.br, carlos.miyazawa@ufabc.edu.br

Recebido em: 25 ago. 2014 ▪ Aceito em: 01 set. 2014 ▪ Publicado em: 30 abr. 2015.

Resumo. No presente trabalho, foram estudados os cromossomos metafásicos de caracídeos da bacia do rio Paraguai, de três localidades diferentes. Do rio Bento Gomes, Poconé (MT) *Markiana nigripinnis*, com $2n=52$ (24M, 8SM, 4ST e 16A) e apresentando também um par de cromossomos com sítios de RONS (Regiões Organizadoras de Nucléolos), dois citótipos de *Tetragonopterus argenteus*, com $2n=50$ (14M, 4SM, 4ST e 28A), citótipo 1, tem até quatro cromossomos portadores de RONS. O citótipo 2, mostrou $2n=52$ (14M, 4SM, 4ST e 30A) e apenas um par de RONS. Do rio Miranda (Passo do Lontra, MS), foram analisados dois machos de *Tetragonopterus argenteus*, que apresentaram um cariótipo similar ao descrito para o citótipo 1, do rio Cuiabá. O citótipo 1 é uma sinapomorfia para o grupo, pois grupos externos de *Tetragonopterus argenteus* apresentam $2n=52$, sendo portanto o citótipo 1 provavelmente de origem mais recente. **Palavras-chave:** *Tetragonopterus argenteus*; *Markiana nigripinnis*; citótipo; citogenética; Pantanal; Mato Grosso.

Abstract. In the present paper, the metaphase chromosomes of characids from the Paraguay River basin, from three different locations, were studied. From Bento Gomes River, Poconé (MT) *Markiana nigripinnis*, $2n = 52$ (24M, 8SM, 4ST and 16A), and also showing one chromosome pair with NORs (Nucleolar Organization Regions) sites; two cytotypes of *Tetragonopterus argenteus*, $2n = 50$ (14M, 4SM, 4ST and 28A), cytotype 1, have up to 4 chromosomes carrying NORs. The cytotype 2 showed $2n = 52$ (14M, 4SM, 4ST and 30A) and only one pair of NORs. Off Miranda river, two males of *Tetragonopterus argenteus*, which showed a similar karyotype to that described for cytotype 1, from Cuiabá River, were analyzed. The cytotype 1 is a synapomorphy for the group as external groups of *Tetragonopterus argenteus* are $2n = 52$ cytotype 1 and, therefore, probably of more recent origin. **Keywords:** *Tetragonopterus argenteus*; *Markiana nigripinnis*; cytotype; cytogenetics; Pantanal; Mato Grosso.

1 INTRODUÇÃO

Entre os anos de 1993 e 1997 foram realizadas pesquisas de citogenética de peixes pela Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), com o intuito de implantar uma nova área na região que tem três biomas no estado de Mato Grosso: o Pantanal Matogrossense, o Cerrado e a Floresta Amazônica, sendo portanto o estado com maior diversidade de biomas do Brasil.

A citogenética de peixes começou com os trabalhos de Bertollo e colaboradores (1978) que descreveram as técnicas para obtenção de cromossomos mitóticos e desde então teve projeção mundial. No Brasil os estados do Sudeste brasileiro foram os que mais produziram trabalhos, principalmente o estado de São Paulo. No Mato Grosso que apesar de toda sua diversidade estes estudos chegaram somente em 1993.

No presente trabalho foram estudadas duas espécies de Characiformes, que estão como *incertae sedis* em Characidae e que faziam parte da subfamília Tetragonopteridae, sendo que *Tetragonopterus argenteus* ainda é desta subfamília, e *Markiana nigripinnis* está como *incertae sedis*.

Trabalhos anteriores de citogenética com *Markiana nigripinnis* são inexistentes, e nem mesmo os trabalhos de Scheel (1973) que descreveu o número haploide de várias espécies apresentam esta

espécie. Para *Tetragonopterus argenteus* existem trabalhos na bacia do rio São Francisco, da bacia Amazônica (VENERE *et al.*, 2004) e do rio Paragauai na Argentina (FENOCCHIO *et al.*, 2003), sendo que todos mostram exemplares com $2n = 52$ cromossomos.

No presente trabalho são mostrados exemplares de *Tetragonopterus argenteus* com dois citótipos sendo o citótipo 1 com $2n = 50$ e o citótipo 2 com $2n = 52$ cromossomos. Para *Markiana nigripinnis* é feita a primeira descrição deste grupo com $2n = 52$ cromossomos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram estudadas as seguintes espécies: *Markiana nigripinnis* (Fig. 1) do rio Bento Gomes, município de Poconé (MT), *Tetragonopterus argenteus* (Fig. 2A e B) do rio Cuiabá, município de Cuiabá (MT) (Figura 2A e B) e *Tetragonopterus argenteus* (Fig. 2C) do rio Miranda, estação de Passo do Lontra (MS).

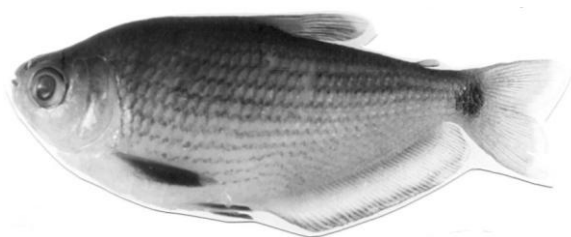


Figura 1. Exemplar de *Markiana nigripinnis* (8 cm de comprimento padrão).

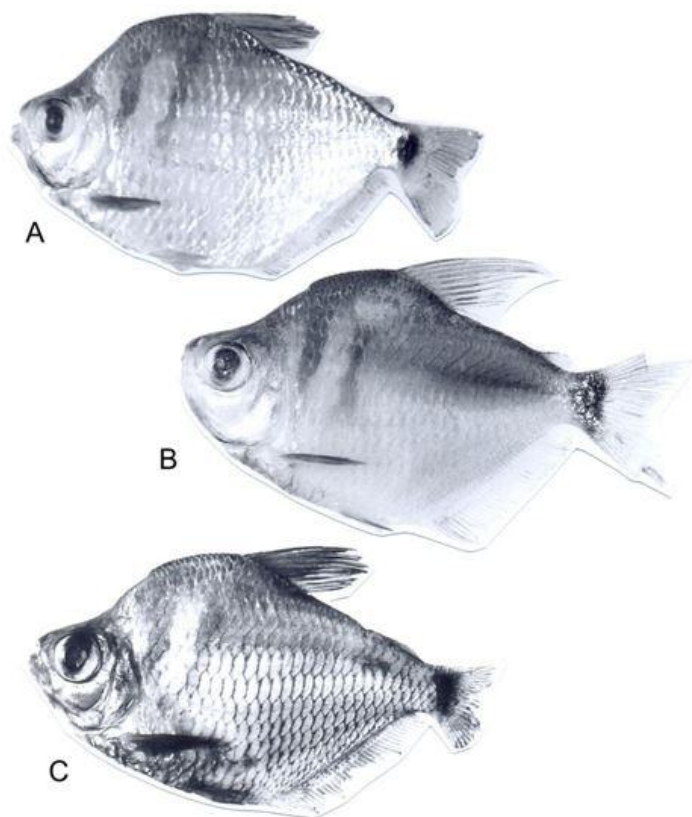


Figura 2. *Tetragonopterus argenteus*. A - $2n = 50$, rio Cuiabá, Cuiabá - MT; exemplar com 9 cm de comprimento padrão; B - $2n = 52$, rio Cuiabá, Cuiabá - MT; exemplar com 7 cm de comprimento padrão; C - $2n = 50$, rio Miranda, MS; exemplar com 8 cm de comprimento padrão.

2.2 Métodos

Para induzir a divisão celular, quando a temperatura ambiente permitiu que se mantivesse a água do aquário até a 25°C, foram utilizados peixes parasitados com o protozoário ciliado *Ichthyophthyrius multifillis*. Tendo em vista que a temperatura ambiente de Cuiabá foi normalmente de ~35°C, para as preparações de peixes pequenos usou-se arrancar escamas e passar álcool sobre a área descamada, com o intuito de induzir o parasitismo por fungos, normalmente do gênero *Saprolegnia*.

Para a obtenção de cromossomos mitóticos foram utilizadas as técnicas de preparação direta de Egozcue (1971), adaptada por Bertollo e colaboradores (1978), para estudos em peixes, técnica de solução de Hank's (GOLD, 1970) e cultura celular de curto termo para tecidos sólidos (FENOCCHIO *et al.*, 1991). A heterocromatina constitutiva foi obtida através da técnica descrita por Sumner (1972). Para a obtenção das Regiões Organizadoras de Nucléolo (AgRONS), foi empregada a técnica de impregnação pelo nitrato de prata coloidal, descrita por Howell e Black (1980). Para obtenção das RONS, foi utilizada a técnica descrita por Schmid (1980), empregando-se a Cromomicina A₃ - um fluorocromo G-C específico, conseguindo-se desta forma as bandas CMA₃+. Os cromossomos foram identificados pela relação de braços (RB), segundo Levan e colaboradores (1964).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foram analisados exemplares de *Tetragonopterus argenteus* (cujo nome vulgar é sauaú) e foram encontrados dois citótipos, sendo o citótipo1 com 2n = 50 cromossomos e o citótipo 2 com 2n = 52 cromossomos. Também foram analisados exemplares de *Markiana nigripinnis* (cujo nome vulgar é lambari do campo), com 2n = 52 cromossomos, como segue.

3.1 Citótipo1 de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Tetragonopterinae), rio Cuiabá, município de Cuiabá, MT

Foram analisados nove exemplares (quatro machos e cinco fêmeas) de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817, do rio Cuiabá, no município de Cuiabá (MT), onde o valor diplóide modal foi de 2n = 50 cromossomos (Tab. 1), sendo sete pares M, dois pares SM, dois pares ST e 14 pares A, não sendo encontradas diferenças cromossômicas entre os sexos (Fig. 3). Para este grupo foi encontrado NF = 72. Estes animais foram caracterizados como citótipo1.

As AgRONS estão presentes preferencialmente em um par de cromossomos submetacêntricos, com marcação telomérica no braço menor, ocorrendo também metáfases com três ou quatro cromossomos marcados, desta forma, além do par SM, preferencialmente marcado, há um ou dois cromossomos subtelocêntricos, com AgRONS na região telomérica do braço maior (Fig. 4 A e B).

A heterocromatina constitutiva pode ser detectada na região centromérica, havendo também blocos teloméricos e até todo o braço heterocromático, em alguns cromossomos (Fig. 4C).

A cromomicina A₃ evidenciou bandas CMA₃+ em um par de cromossomos, na maioria das células analisadas (Fig. 4D).

Tabela 1. Valor diploide modal de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817, citótipo1, do Rio Cuiabá (Cuiabá, MT).

Nº e sexo do peixe	Nº de cromossomos					
	47	48	49	50	51	52
73 f	1	2	2	18	2	1
81 f	-	2	2	10	-	1
83 m	-	3	3	10	2	4
87 f	-	-	-	9	2	2
88 m	-	1	2	14	2	2
146 f	-	-	-	5	1	4
147 f	-	2	-	17	2	-
263 m	-	-	-	2	-	1
423 m	-	1	1	8	1	-
Total	1	11	10	93	12	15
%	0,70	7,75	7,04	65,49	8,45	10,57

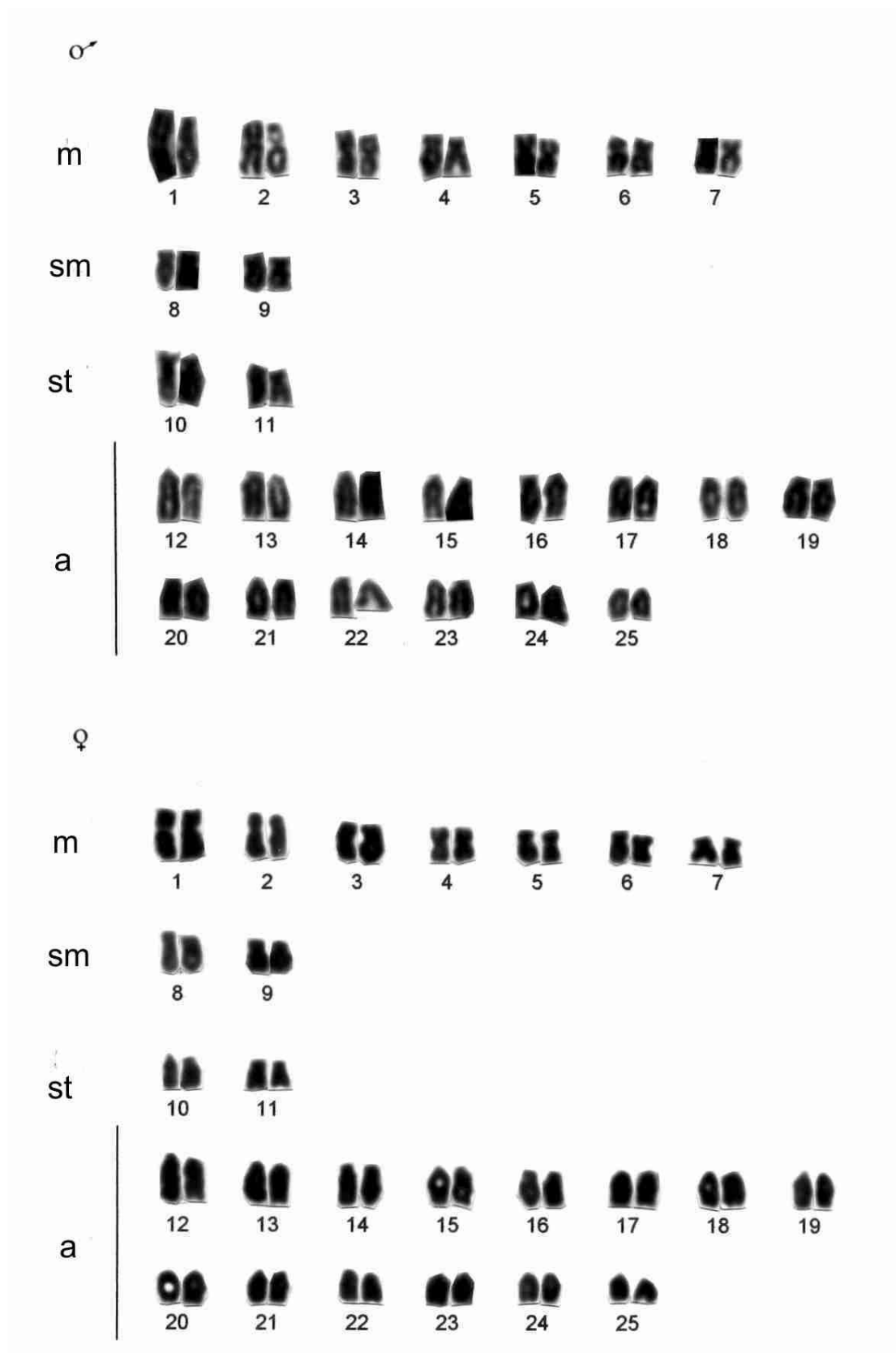


Figura 3. Cariótipo de macho e fêmea, em coloração normal de Giemsa, de *Tetragonopterus argenteus*, citótipo1 (Rio Cuiabá, Cuiabá – MT).

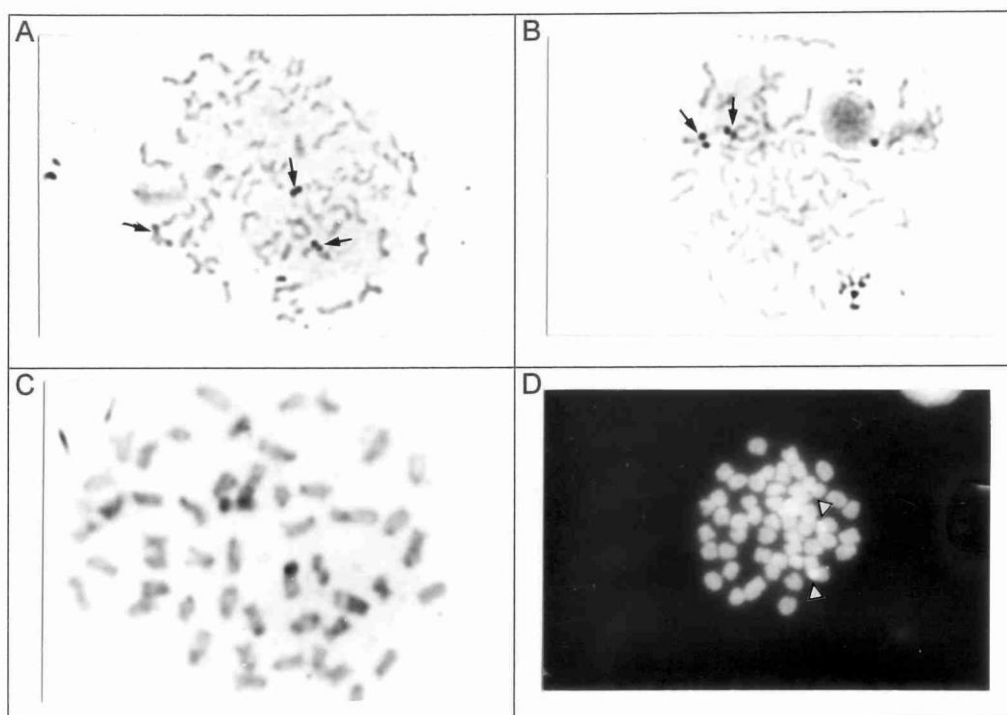


Figura 4. Metáfases de *Tetragonopterus argenteus*, citótipo1, rio Cuiabá, município de Cuiabá (MT), onde: A, três AgRONS; B, dois AgRONS; C, banda C; D, CMA₃+. As setas indicam cromossomos portadores de AgRONS em A e B, e sítios CMA₃+ em D.

3.2 Citótipo2 de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817, (Tetragonopterinae), rio Cuiabá, município de Cuiabá, MT

Foram analisados quatro exemplares (três machos e uma fêmea) de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Tetragonopterinae), do rio Cuiabá, município de Cuiabá (MT), que apresentaram $2n = 52$ (Tab. 2), sendo oito pares M, dois pares SM, dois pares ST e 15 pares A, não tendo sido detectadas diferenças no cariótipo de machos e fêmeas (Fig. 5), sendo seu NF = 74. Estes animais foram caracterizados como citótipo 2.

As AgRONS aparecem no braço curto de um par de cromossomos submetacêntricos, na maioria das células analisadas (Fig. 6 A e B).

O padrão obtido pelo bandamento C não se apresentou suficientemente resolutivo para comparações com o citótipo anterior (Fig. 6C).

A cromomicina evidenciou bandas CMA₃+ no braço curto de um par de cromossomos submetacêntricos, na maioria das metáfases analisadas (Fig. 6D).

Tabela 2. Valor diploide modal de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817, citótipo2, do Rio Cuiabá (Cuiabá, MT).

Nº e sexo do peixe	Nº de cromossomos					
	47	48	49	50	51	52
93 m	-	-	1	3	4	23
94 m	-	-	-	-	2	5
275 m	-	2	2	6	6	11
305 f	-	2	6	16	3	26
Total	-	4	9	25	15	65
%	-	3,39	7,63	21,19	12,71	55,08



Figura 5. Cariótipo de fêmea, em coloração normal de Giemsa, de *Tetragonopterus argenteus*, citótipo2, do rio Cuiabá, município de Cuiabá (MT).

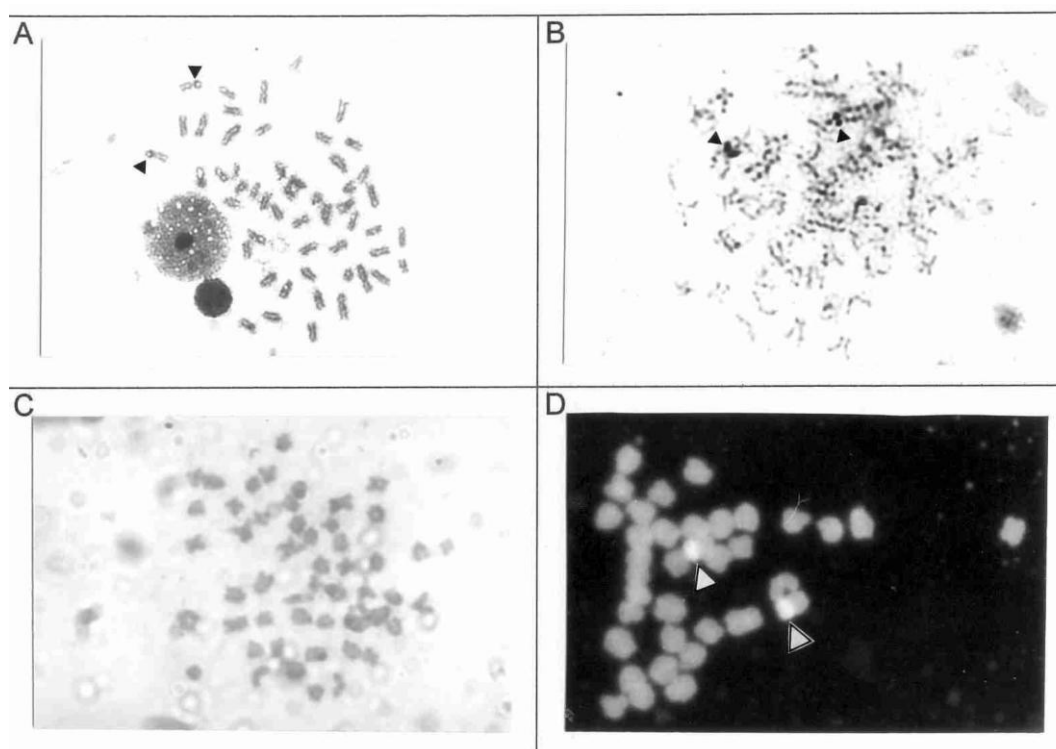


Figura 6. Metáfases de *Tetragonopterus argenteus*, citótipo2, rio Cuiabá, município de Cuiabá (MT), onde: A e B, AgRONS; C, banda C; D, CMA₃+. As setas indicam cromossomos portadores de AgRONS em A e B, e sítios CMA₃+ em D.

3.3 *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Tetragonopterinae), do rio Miranda, Passo do Lontra, MS (nome vulgar: sauá)

Foram analisados dois machos de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817, do rio Miranda, Passo do Lontra (MS), onde o valor diploide modal foi de $2n = 50$ (Tab. 3), sendo sete pares M, dois pares SM, dois pares ST e 14 pares A (Fig. 7), sendo $NF = 72$.

Tabela 3. Valor diploide modal de *Tetragonopterus argenteus* do rio Miranda, Passo do Lontra, MS.

Nº e sexo do peixe	Nº de cromossomos					
	47	48	49	50	51	52
8738 m	1	-	-	3	-	-
8741 m	4	2	3	35	2	1
Total	5	2	3	38	2	1
% do total	9,81	3,92	5,88	74,51	3,92	1,96

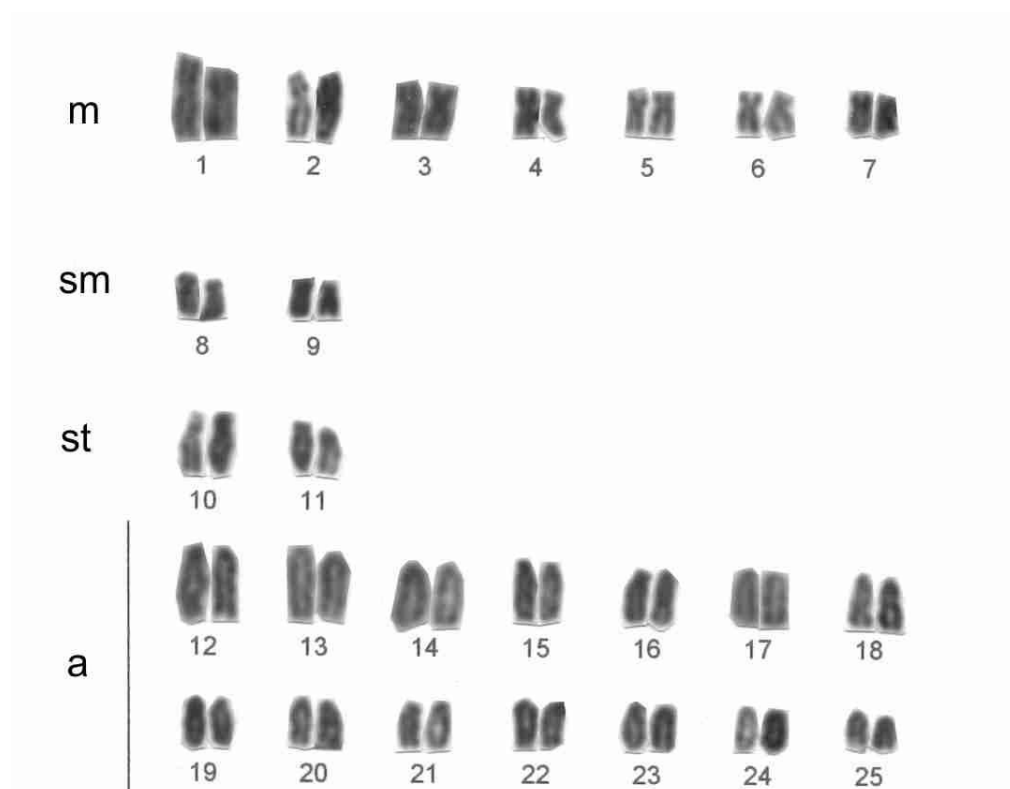


Figura 7. Cariótipo de macho, em coloração normal de Giemsa, de *Tetragonopterus argenteus*, do rio Miranda, Passo do Lontra (MS).

Embora no citótipo1 também tenham sido encontradas células com $2n = 51$ e $2n = 52$ cromossomos, estas são em menor número que $2n = 50$ cromossomos, caracterizando, portanto, o valor modal destes exemplares em 50.

O citótipo1 com $2n = 50$ cromossomos existente em duas localidades diferentes no Pantanal Mato Grossense é um caráter sinapomórfico, pois se analisarmos outras espécies deste grupo, como é o caso de *Tetragonopterus chalcus* do rio São Francisco (PORTELA *et al.*, 1988), apresenta $2n = 52$ cromossomos, servindo, portanto, como grupo externo e polarizando os dados neste sentido. O citótipo2 com $2n = 52$ cromossomos foi encontrado em um número reduzido de exemplares, o que pode in-

dicar que se a amostra for ampliada pode ser que este citótipo seja evidenciado em um maior número de exemplares.

O número de Regiões Organizadoras de Nucléolos e a banda C dos citótipos encontrados não variou, ou teve uma pequena variação, não sendo esta significativa como pode ser visualizado pelas análises de fluorocromos realizada.

A variação encontrada entre estes citótipos que é fundamentalmente de um par de cromossomos metacêntricos que aparece a mais no citótipo 2 não parece ser suficiente para que sejam divididas em espécies diferentes. Ao que parece, porém, estes não se inter cruzam, uma vez que exemplares com $2n = 51$ cromossomos que seriam híbridos entre estes não foram encontrados.

Entretanto, uma maior amostragem destes peixes poderia levar ao encontro de algum exemplar com $2n = 51$. Desta forma, ao que parece, de fato se trata de um caso de citótipos diferentes que são cariótipos diferentes, mas que ainda não é o suficiente para levar a especiar um grupo, mesmo que este viva em locais distantes ou como foi encontrado, sejam simpátricos.

3.4 *Markiana nigripinnis* (Perugia, 1891) (Tetragonopterinae), rio Bento Gomes, Poconé, MT (nome vulgar: lambari do campo)

Foram analisados 13 indivíduos (nove machos e quatro fêmeas) de *Markiana nigripinnis* Perugia, 1891 (Tetragonopterinae) que apresentaram $2n = 52$ cromossomos (Tab. 4) com 12 pares M, quatro pares SM, dois pares ST e oito pares A (Fig. 8). Para este grupo foi encontrado NF = 88. Não foram encontradas diferenças cromossômicas entre machos e fêmeas.

As análises com a impregnação pelo nitrato de prata revelaram um e dois cromossomos portadores de AgRONS, onde na maioria eram representados por um par, destacando-se um bloco intersticial heteromórfico, no braço maior de um par de cromossomos metacêntricos pequenos (Fig. 9A e B). A cromomicina A₃ mostrou bandas positivas, também heteromórficas, em região comparável às AgRONS (Fig. 9D).

Embora com reduzida qualidade, as preparações de bandas C puderam mostrar alguns pequenos blocos de heterocromatina centromérica e telomérica (Fig. 9C).

Tabela 4. Valor diploide modal de *Markiana nigripinnis* do rio Bento Gomes, município de Poconé, MT.

Nº e sexo do peixe	Nº de cromossomos				
	48	49	50	51	52
184 f	1	1	2	3	25
192 f	-	-	3	1	5
232 m	5	2	-	-	8
233 m	7	3	5	1	10
244 m	-	1	1	1	5
245 f	1	-	-	-	3
362 m	1	2	5	5	37
363 m	-	-	1	1	8
375 m	-	2	1	1	5
376 m	1	1	1	2	12
377 m	-	-	-	-	2
421 m	-	1	5	3	11
422 f	1	2	6	6	26
Total	17	14	30	22	157
%	7,08	5,83	12,50	9,16	65,43

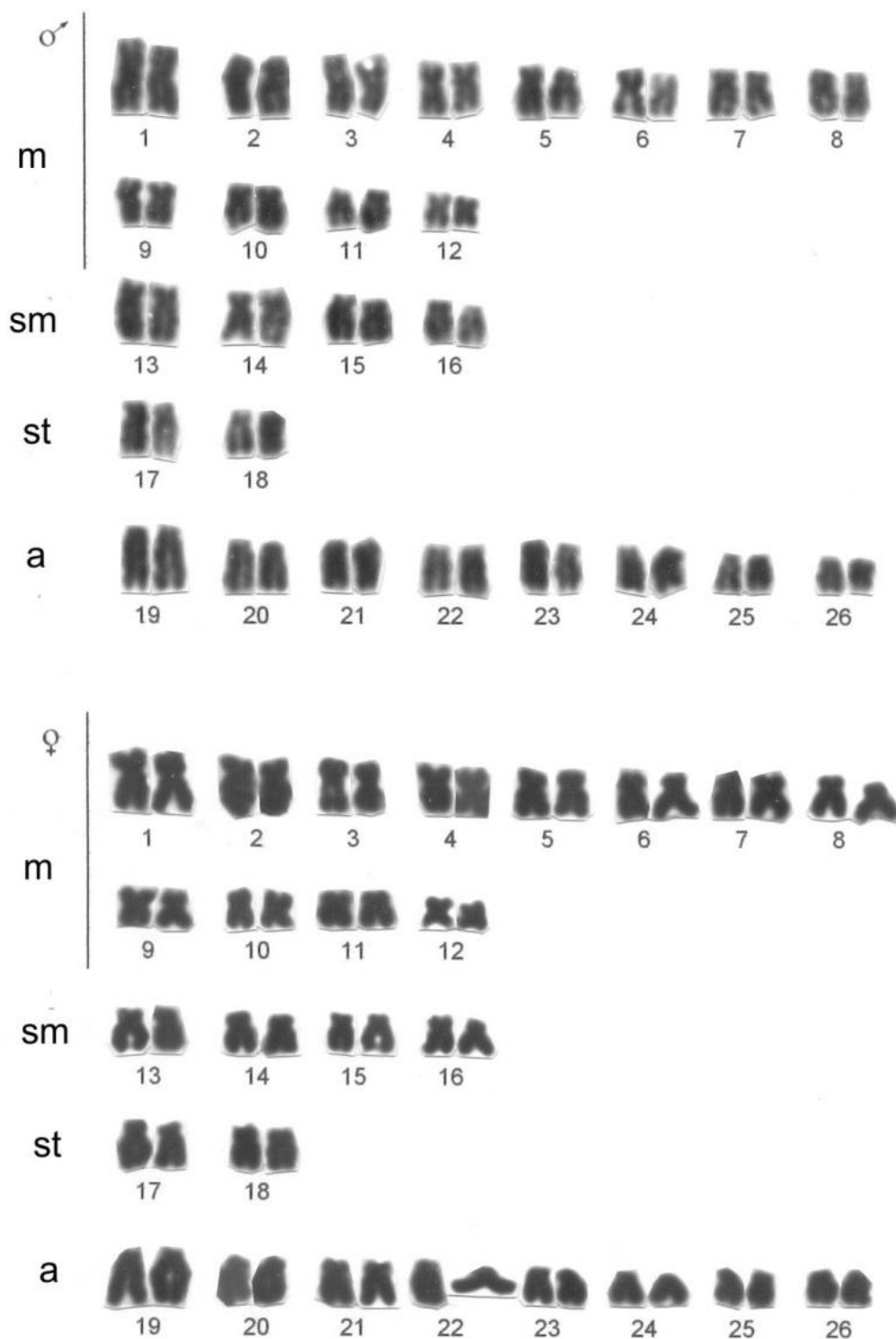


Figura 8. Cariótipo em coloração normal de Giemsa de *Markiana nigripinnis*, do rio Bento Gomes, Poconé (MT).

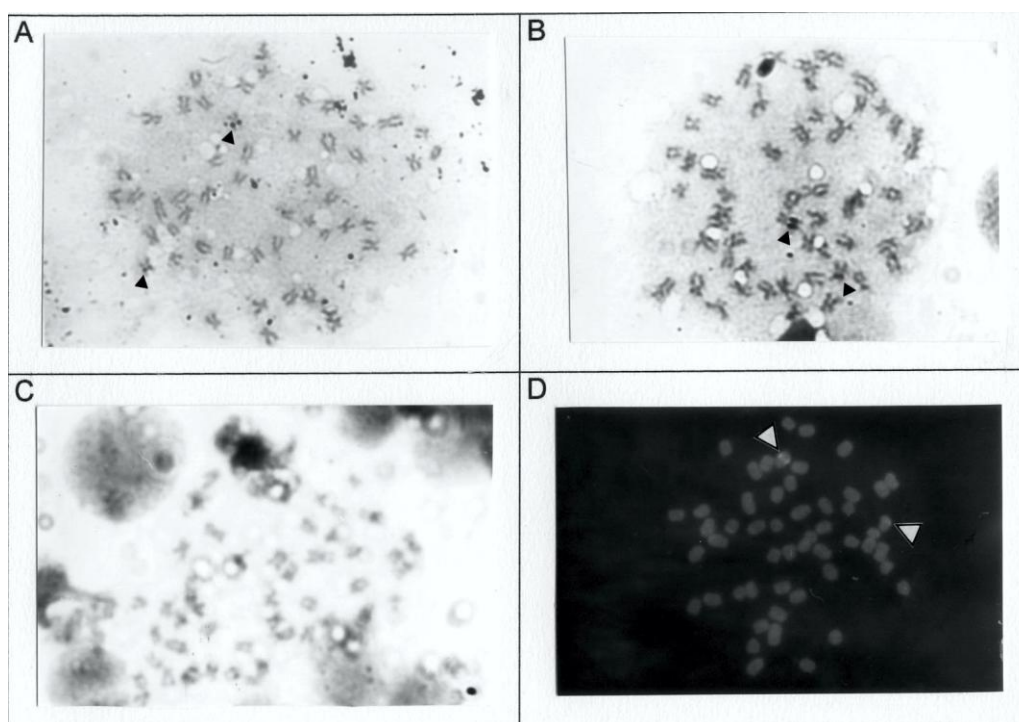


Figura 9. Metáfases de *Markiana nigripinnis*, do rio Bento Gomes, Poconé (MT), mostrando: A e B, um par de cromossomos portadores de AgRNs; C, banda C; D, CMA₃. As setas indicam os cromossomos marcados pela prata em A e B, e CMA₃ em D.

Estes dados mostram que *Markiana nigripinnis* tem um valor diploide semelhante à da maioria dos Characiformes, que tem como valores mais comuns $2n = 50$ e 52 cromossomos (PORTELA *et al.*, 1986; AREFJEV, 1990; KRINSKI, MIYAZAWA, 2014, entre outros), não mostrando diferenças cariotípicas em relação aos demais grupos de Characidae *incertae sedis* (REIS *et al.*, 2003), como apresenta morfologicamente um corpo muito robusto e uma nadadeira anal longa, que o torna um peixe singular.

Como não existem publicações anteriores com o cariótipo deste grupo, comparações neste gênero não são possíveis.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos no presente trabalho é possível concluir que:

- Dois citótipos de *Tetragonopterus argenteus* foram encontrados, sendo o citótipo1 com $2n = 50$ cromossomos e o citótipo2 com $2n = 52$ cromossomos. Ambos apresentam um par de Regiões Organizadoras de Nucléolos;
- Markiana nigripinnis* apresenta $2n = 52$ cromossomos e um par de Regiões Organizadoras de Nucléolos.

5 AGRADECIMENTOS

Agradeço ao técnico de laboratório Francisco de Assis Rondon pela contribuição nas coletas de campo, à Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) pela infraestrutura essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço, ainda, à Fundação de Amparo a Pesquisado do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e ao Banco da Amazônia (BASA) pelo financiamento do material permanente e do material de consumo usados no presente trabalho.

6 REFERÊNCIAS

- AREFJEV, V. A. Problems of kariotypic variability in the family Characidae (Pisces, Characiformes) with the description of somatic karyotypes for six species of tetras. *Caryologia*, v. 43, p. 305 – 319, 1990.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on Hoplias-lacerdae (Pisces, Erythrinidae). *Rev. Brazil. Genet.*, v. I, p. 103 – 120, 1978.
- EGOZCUE, J. *Técnicas em citogenética*. Barcelona, Espanha: Editorial Espaxs, 1971.
- FENOCCHIO, A. S.; VENERE, P. C.; CESAR, A. C. G.; DIAS, A. L.; BERTOLLO, L. A. C. Short term culture of solid tissues of fishes. *Caryologia*, v. 44, p. 161 – 166, 1991.
- FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; RONCATI, H. A.; MOREIRA FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Cytogenetic Survey of the Fish Fauna from Argentina. *Caryologia*, v. 56, n. 2, 2003.
- HOWELL, W. M.; 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.
- KRINSKI, D.; MIYAZAWA, C. S. Cytogenetic Analysis of Three Species of *Astyanax* Genus (Pisces, Characidae, *Incertae sedis*) from Freshwaters of Upper Paraguay Basin, Mato Grosso State, Brazil. *Journal of Life Sciences*, v. 8, p. 51-57, 2014.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, v. 52, p. 201-220, 1964.
- Portela, A. L. B. S.; GALETTI, Jr., P. M.; BERTOLLO, L. A. C. Considerations on the chromosome evolution of Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). *Rev. Brasil. Genet.*, v.11, n. 2, p. 307-316, 1988.
- REIS, R. E. Subfamily Tetragonopterinae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JUNIOR, C. J. (Eds.). *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: Edipucrs, 2003.
- SCHEEL, J. J. *Fish chromosomes and their evolution*: interval Report of Danmarks Akvarium. Charlottenlund, Dinamarca: s.ed., 1973.
- SCHMIDT, M. Chromosome banding in amphibia IV. Differentiation of GC and AT rich chromosome regions in Anura. *Chromosoma*, v. 77, p. 83-103, 1980.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exptl. Cell. Res.*, v. 25, p. 304-306, 1972.

Como citar este artigo científico

MIYAZAWA, C. S. Citótipos diferentes de *Tetragonopterus argenteus* Cuvier, 1817 (Characiformes, Tetragonopterinae) e descrição cariotípica de *Markiana nigripinnis* Perugia, 1891 (Characiformes, Characidae, *incertae sedis*) de rios da bacia do Rio Paraguai. *Scientia Vitae*, v. 2, n. 8, ano 3, abr. 2015, p. 17-27. Disponível em: <http://www.revistaifpsr.com/v2n8ano3_2015.htm>; acesso em: __/__/__.