

Contribuição à citogenética dos gêneros *Pomadasys* e *Anisotremus* (Haemulidae, Perciformes)

Ingrid Vilar Accioly¹, Wagner Franco Molina²

¹Bolsista Voluntária, ²Professor Orientador, Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Resumo

Estudos citogenéticos envolvendo populações e espécies de peixes do litoral do Brasil têm crescido de forma constante, entretanto, em alguns grupos, poucos dados são conhecidos, sobretudo envolvendo representantes da família Haemulidae. Em decorrência, o presente trabalho descreve o cariótipo das espécies *Pomadasys corvinaeformis*, *Anisotremus virginicus*, *A. surinamensis* e *A. moricandi*, coletados no litoral Nordeste do Brasil, pelo uso de técnicas citogenéticas. Os cariótipos apresentaram um valor diplóide de 48 cromossomos acrocêntricos. As quatro espécies apresentaram RONS simples em posição pericentromérica. Os resultados obtidos indicam um marcante conservadorismo cromossômico entre as espécies desta família, similar a outros grupos Perciformes analisados.

Palavras-chave: Citogenética de peixes, Perciformes, Haemulidae, conservadorismo cromossômico.

Abstract

Cytogenetics studies involving populations and species of fishes of the coast of Brazil have been growing in a constant way, and however, in some groups few data are known, mainly on the representatives of the family Haemulidae. In decurrence the present work describes the karyotypes of the species *Pomadasys corvinaeformis*, *Anisotremus virginicus*, *A. surinamensis* and *A. moricandi*, collected in the Northeast coast of Brazil, through of use of the cytogenetic methodologies. The karyotypes of the all species presented a diploid value of 48 acrocentric chromosomes. The four species presented unique NORs placed on pericentromeric position. The results indicate a marked chromosome conservatism among the species of this family, similar to the others analyzed Perciformes groups.

Keywords: Fish cytogenetics, Perciformes, Haemulidae, chromosome conservatism.

Introdução

Os peixes desde tempos históricos vêm representando um importante item alimentar na dieta humana. Em momentos mais recentes, sua exploração tem crescido na piscicultura e em outras atividades, como a aquariofilia e pesca esportiva. Do ponto de vista ecológico, estes organismos são considerados indispensáveis à manutenção de ambientes naturais equilibrados, consistindo em bioindicadores efetivos de poluição. Diante disto, fica evidente a importância da busca de novas informações, sobretudo genéticas para este grupo de vertebrados.

Entre os peixes modernos, destaca-se a Ordem Perciformes, abrigando o maior número de espécies (38%), com 18 Subordens, 148 famílias e cerca de 1.496 gêneros, com um total de 80% de suas 9.283 espécies habitando o ambiente marinho, em águas tropicais e subtropicais (NELSON, 1994).

De acordo com um exame detalhado da filogenia dos Percomorpha (JONHSON e PATTERSON, 1993), surgem evidências de que os Perciformes só podem ser considerados como um grupo monofilético se forem incluídos os membros das ordens Scorpaeniformes (incluindo Dactylopteridae), Pleuronectiformes e Tetraodontiformes. A última Ordem pode ser derivada de linhagens dos Perciformes. A Subordem Percoidei é a mais extensa, possuindo 71 famílias, das quais, as sete famílias mais extensas – Serranidae, Sciaenidae, Apogonidae, Percidae, Haemulidae, Carangidae, e Lutjanidae – contêm cerca de 53% das espécies (MENEZES e FIGUEIREDO, 1980; NELSON, 1994).

Devido ao seu tamanho e importância, a Ordem Perciformes vem acumulando um número crescente de informações citogenéticas. Das 148 famílias no grupo, 48 já dispõem de espécies cariotipadas (OHNO *et al.*, 1968; CATAUDELLA e CAPANNA, 1973; CANO *et al.*, 1981; FITZSIMONS e PARKER, 1985; ALVAREZ *et al.*, 1986; BRUM *et al.*, 1995), abrangendo 10% das espécies (AFFONSO, 2000). Destas, no entanto, apenas 2% correspondem a espécies marinhas (ALMEIDA-TOLEDO *et al.*, 1993; BRUM, 1996). Assim, apesar do fato de que a maior parte dos Perciformes é marinha, grande parte do conhecimento citogenético do grupo está restrito a representantes dulcícolas.

Algumas famílias de peixes marinhos foram escassamente estudadas citogeneticamente, entre elas, a família Haemulidae (=Pomadasyidae) (ACCIOLY, 2007). Esta família é constituída por aproximadamente 150 espécies (NELSON, 1994), sendo encontrada em águas litorâneas tropicais e subtropicais do Oceano Atlântico, Índico e Pacífico, embora algumas espécies estendam-se em águas temperadas (ROBINS e RAY, 1986).

Considerando, então, a etapa atual das investigações, este trabalho objetiva ampliar as informações citogenéticas disponíveis para a família Haemulidae, através da caracterização citogenética de quatro espécies, *Pomadasys corvinaeformis*, *Anisotremus moricandi*, *A. surinamensis* e *A. virginicus*, fazendo uso das técnicas de Ag-RONs e do bandamento C em *P. corvinaeformis*.

Material e Métodos

Material

As coletas foram realizadas na maré baixa, no período matutino. Os animais foram acondicionados e levados para o Laboratório de Genética e Recursos Marinhos (LGRM) da UFRN, onde foram mantidos em aquários devidamente aerados. Os exemplares de *Pomadasys corvinaeformis* (três machos, quatro fêmeas e um de sexo indeterminado), foram coletados na praia de Ponta Negra (5°53'1.73"S 35°9'57.85"W), Natal-RN, *A. moricandi* (três machos e uma fêmea) e *A. surinamensis* (um de sexo indeterminado) foram obtidos na praia de Búzios (6°0'28.12"S 35°6'19.23"W), Nísia Floresta-RN. Os exemplares de *Anisotremus virginicus* (uma fêmea e quatro de sexo indeterminado) foram provenientes do litoral de Salvador-BA – (Figura 1).



Figura 1 – Pontos de coleta das espécies *Pomadasys corvinaeformis*, *Anisotremus moricandi*, *A. surinamensis* e *A. virginicus*.

Métodos

O método de estimulação mitótica proposto por LEE e ELDER (1980), visando aumentar o índice mitótico, foi utilizado antecedendo, por um período de 24h, as preparações cromossômicas. Em seguida, os cromossomos mitóticos foram obtidos a partir de células renais, através da técnica *in vitro*, descrita por GOLD *et al.* (1990). Para a caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs) foi utilizada a técnica de impregnação pela prata, idealizada por HOWELL e BLACK (1980). O bandamento C preconizado por SUMNER (1972) foi adotado para análise das regiões heterocromáticas na espécie *P. corvinaeformis*.

Após o preparo, as lâminas foram analisadas em microscópio binocular com aumento de 1.000X, para o estabelecimento do valor diplóide modal das espécies e análise de aspectos estruturais dos cromossomos. As melhores metáfases foram registradas em fotomicroscópio óptico BX-42 Olympus, com sistema de captura digital de alta definição, para a determinação do cariótipo. Os pares cromossômicos foram arranjados em ordem decrescente de tamanho e divididos entre as categorias morfológicas, de acordo com LEVAN *et al.* (1964), em metacêntrico (m), submetacêntrico (sm), subtlocêntrico (st) e acrocêntrico (a).

Resultados

A análise cromossômica das espécies *Pomadasys corvinaeformis* (463 metáfases), *Anisotremus virginicus* (159 metáfases), *A. moricandi* (231 metáfases) e *A. surinamensis* (107 metáfases) identificou um valor diplóide modal de 48 cromossomos acrocêntricos (NF=48), comum a todas as espécies (Figura 2).

As regiões organizadoras de nucléolos (RONs) foram localizadas sobre um único par de cromossomos, em posição pericentromérica, em todas as espécies estudadas. Em *Pomadasys corvinaeformis*, o par marcado não pôde ser definido com precisão, porém, nas espécies do gênero *Anisotremus* as RONs se encontravam situadas no 18º par cromossômico (Figura 2).

No cariótipo de *Pomadasys corvinaeformis* segmentos heterocromáticos, evidenciadas pela banda C, estavam localizados em posição centromérica ou pericentromérica na maioria dos pares cromossômicos da espécie.

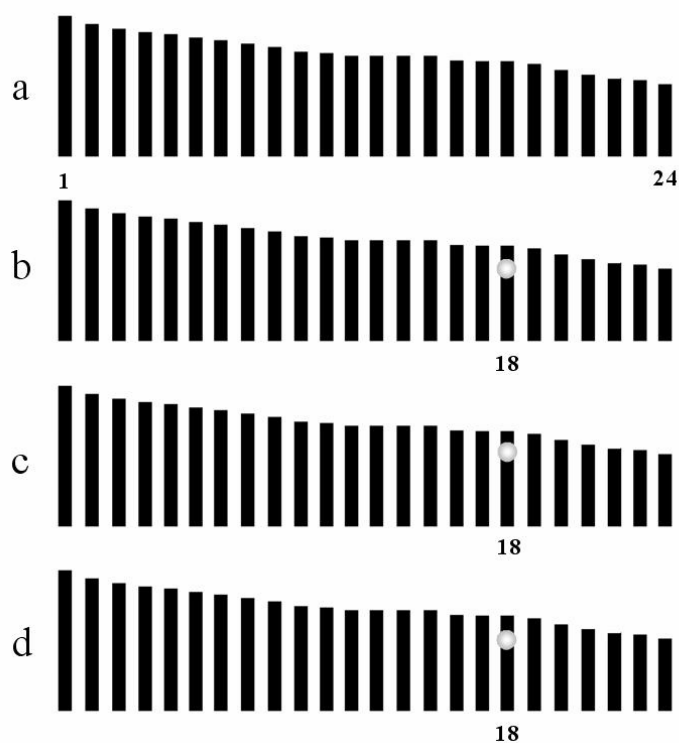


Figura 2 – Idiograma das espécies de Haemulidae analisadas. **a.** *P. corvinaeformis*; **b.** *A. virginicus*; **c.** *A. moricandi*; **d.** *A. surinamensis*. As RONS estão identificadas em posição pericentromérica no 18° par das espécies de *Anisotremus*.

Discussão e Conclusões

Considerada a Ordem mais rica em espécies entre os vertebrados, constituindo cerca de metade dos vertebrados conhecidos, poder-se-ia esperar que os Perciformes diferissem marcadamente quanto ao grau de diversificação cariotípica. Entretanto, segundo KLINKHARDT (1998), a despeito de sua heterogeneidade, a frequência de distribuição dos valores cromossômicos nesta Ordem apresenta uma surpreendente uniformidade, com um número diplóide e NF igual a 48 (mais de dois terços das espécies) sendo claramente dominante (AFFONSO, 2000).

Como seu cariótipo plesiomórfico consiste de $2n=48a$, parece natural supor que muitas espécies deste táxon retiveram um padrão basal, reflexo de sua origem monofilética. Porém, a maioria das variações fenotípicas parece não estar atrelada às mudanças no seu cariótipo. Este fato é particularmente interessante, tendo em vista que estudos morfológicos e anatômicos sugerem a possibilidade de que este grupo não tenha uma origem monofilética. Assim, sua sistematização taxonômica necessita de uma extensa revisão (BERG, 1958; FIEDLER, 1991).

O conservadorismo cromossômico das espécies de Haemulidae analisadas parece refletir a existência de alguns padrões biológicos que favorecem o fluxo gênico no grupo, como a presença de grandes populações, ampla área de distribuição geográfica, aparente ausência de especificidades ambientais (generalistas), ausência de barreiras geográficas bem definidas (GALETTI *et al.*, 2006).

Nas espécies dos gêneros *Anisotremus* e *Pomadasys*, como também em outros gêneros como *Haemulon* e *Conodon*, foram encontrados cariótipos semelhantes com $2n=48a$, $NF=48$ (com exceção da espécie *Orthopristes ruber* com fórmula cariotípica $2sm+46st/a$; em publicação), e um par com RONS em posição pericentromérica, relacionando aos Haemulidae uma condição plesiomórfica que favorece a idéia de conservadorismo cromossômico para a família (ACCIOLY, 2007).

Apesar do conservadorismo cromossômico, a família Haemulidae apresenta grandes variações morfológicas e de padrões de coloração nos adultos e juvenis com padrões crípticos. Tais características têm dificultado a delimitação de populações, espécies e do reconhecimento de formas jovens de diferentes espécies baseando-se apenas em suas características morfológicas, como é o caso da espécie *Haemulon aurolineatum*, que apresentava sinonímia com os gêneros *Bathystoma* e *Brachygenys* (GONZÁLES *et al.*, 1990).

RONS localizadas em um único par cromossômico é considerada uma condição padrão aos Perciformes, compartilhada não só pelos Haemulidae, como também com outras famílias desta Ordem, tais como, Serranidae (AGUILAR e GALETTI, 1997), Scianidae (FELDBERG *et al.*, 1999) e Notothenidae (OZOUF-COSTAZ *et al.*, 1997).

Nas espécies de Haemulidae aqui estudadas, todas revelaram RONS únicas intersticiais. *Anisotremus surinamensis*, *A. moricandi* e *A. virginicus* todas apresentaram sítios ribossomais intersticiais localizados sobre o 18° par, marcadamente homeólogo. A espécie *Conodon nobilis* (VASCONCELOS *et al.*, 2003) exibiu sítios em mesma posição sobre o 21° par, sugerindo a possibilidade de manutenção de grandes regiões sintênicas ao longo da diferenciação das várias linhagens filéticas nesta família. Situação observada em duas espécies da família Pomacanthidae (*Holacanthus ciliaris* e *H. tricolor*) e em uma espécie da família Chaetodontidae (*Chaetodon striatus*) onde a mesma constituição cariotípica foi encontrada nas três espécies, havendo coincidência dos sítios das RONS, em posição intersticial no terceiro par (AFFONSO *et al.*, 2001).

Em Haemulidae, a escassez das marcações heterocromáticas conspícuas, aliada a um cariótipo marcadamente simétrico, reduz a possibilidade de utilização da frequência e posição das RONS sobre os pares nucleolares como marcadores citotaxonômicos eficientes. Assim, para

o melhor entendimento dos eventos envolvidos na evolução cariotípica deste grupo, é necessário a utilização de um número maior de metodologias de bandamento cromossômico, visando identificar micro-alterações cromossômicas.

Apesar dos Haemulidae apresentarem cariótipos evolutivamente conservados, em relação ao número diplóide, NF e genes ribossomais, diante da possibilidade de mudanças não detectáveis na macroestrutura cariotípica, é provável que seus representantes tenham sofrido alterações cromossômicas imperceptíveis na estrutura cariotípica (e inversões paracêntricas) ou mudanças nos seus grupos de ligação (MOLINA, 1995), com relevância adaptativa.

Referências

ACCIOLY, Ingrid Vilar. **Levantamento cariotípico em espécies de peixes marinhos costeiros de fundo arenoso (*Osteichthyes, Perciformes*)**. 81f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

AFFONSO, P.R.A.M.; GUEDES, W.; PAULS, E.; GALETTI Jr., P.M. Cytogenetic analysis of coral reefs fishes from Brazil (Families Pomacanthidae and Chaetodontidae). **Cytology**, v. 66, p. 379-384, 2001.

AFFONSO, Paulo Roberto Antunes de Mello. **Caracterização citogenética de peixes de recifes de corais da Família Pomacanthidae (Perciformes)**. 146f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2000.

AGUILAR, C.T.; GALETTI Jr., P.M. Chromosomal studies in South Atlantic serranids (Pisces, Perciformes). **Cytobios**, v. 89, p.105-114, 1997.

ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. A citogenética de peixes no Brasil. In: X Encontro Brasileiro de Ictiologia, 1993. **Anais**. p., 1993, 347-376.

ALVAREZ, M.C.; GARCIA, E.; THODE, G. Contribution to the karyoevolutive study of the Labridae (Perciformes). The karyotypes of *Ctenolabrus rupestris* and *Symphodus ocellatus*. **Caryologia**, v. 39, p.353-357, 1986.

BERG, L.S. **System der rezenten und fossilen Fischartigen und Fische**. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin. 1958.

BRUM, M.J.I. Cytogenetic studies of Brazilian marine fish. **Brazilian Journal of Genetics**., v.19, p. 421-427, 1996.

BRUM, M.J.I.; CORREA, M.M.O.; OLIVEIRA, C.C.; GALETTI Jr., P.M. Cytogenetic studies on the Perciformes *Orthopristis ruber* (Haemulidae) and *Scartella cristata* (Blenniidae). **Caryologia**, v. 48 (3-4), p. 309-318, 1995.

CANO, J.; THODE, G.; ALVAREZ, M.C. Analisis cariologico de seis espécies de Esparidos del Mediterráneo. **Genética Ibérica**, v. 35, p.181-187, 1981.

CATAUDELLA, S.; CAPANNA, E. Chromosome complements of tree species of Mugilidae (Pisces, Perciformes). **Experientia**, v. 29, p. 489-491, 1973.

FELDBERG, E.; PORTO, J.I.R.; SANTOS, E.P.; VALENTIM, F.C. Cytogenetic studies of two freshwater sciaenids of the genus *Plagioscion* (Perciformes, Scianidae) from the Central Amazon. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 351-356, 1999.

FIEDLER, K. **Lehrbuch der speziellen Zoologie**, Bd.2 Wirbeltiere. Teil 2. Fische. Gustav Fischer Verlag Jena, 1991.

FITZSIMONS, J.M.; PARKER, R.M. Karyology of the Sparid fishes *Lagodon rhoboides* and *Aerchosargus probathocephalus* (Osteichthyes, Perciformes) from coastal Louisiana, North Carolina, and Florida. **Proceedings of the Louisiana Academy of Sciences**, v. 48, p. 86-92, 1985.

GALETTI JR, P.M.; MOLINA, W.F.; AFFONSO, P.R.A.M.; AGUILAR, C.T. Assessing genetic diversity of Brazilian reef fishes by chromosomal and DNA markers. **Genetica**, v. 126, p. 161-177, 2006.

GOLD, J.R.; LI, C.; SHIPLEY, N.S.; POWERS, P.K. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. **Journal of Fish Biology**, v. 37, p. 563-575, 1990.

GONZÁLES, D.; RUCIOS, E.G.; FIGUERAS, L. The Karyotype and “G” Bands of *Haemulon aurolineatum* CUVIER, 1829 (Pisces, Haemulidae). In: VII Congresso Nacional de Oceanografía, 1997. Mexico. **Anale del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología**, Mexico, 1990.

HOWELL, W.M.; BLACK, D.A. Controlled silver staining of nucleolus organizer region with protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**. v. 36, p.1014-1015, 1980.

JOHNSON, G.D.; PATTERSON, C. Percomorph phylogeny: A survey of acanthomorph characters and a new proposal. **Bulletin of Marine Science**, v. 52, p. 554-626, 1993.

KLINKHARDT, M.B. Some aspects of karyoevolution in fishes. **Animal Research and Development**, v. 47, p. 7-36, 1998.

LEE, M.R.; ELDER, F.F.B. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 26, p. 36-40, 1980.

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

MENEZES, N.A.; FIGUEREDO, J.L. **Manual de Peixes Marinhos do Sudoeste do Brasil**. IV- Teleostei (3). São Paulo, Museu de Zoologia da USP, 1980, p. 96.

MOLINA, W.F. Cromossomos sexuais e polimorfismo cromossômico no gênero *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). 177f. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil, 1995.

NELSON, J.S. **Fishes of the world**. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, 1994.

OHNO, S.; WOLF, U.; ATKIN, N.B. Evolution from fish to mammals by gene duplication. **Hereditas**, v. 59, p.169-187, 1968.

OZOUF-COSTAZ, C.; PISANO, E.; THAERON, C.; HUREAU, J. Antarctic fish chromosome banding: significance for evolutionary studies. **Cybium**, v. 21, p. 399-409, 1997.

ROBINS, C.R.; RAY, G.C. **A field guide to Atlantic coast fishes of North America**. Boston, U.S.A.: Houghton Mifflin Company, 1986, p 354.

SUMNER, A.T. Simple Technique for Demonstrating Centromeric Heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.

VASCONCELOS, A.J.M.; LIMA, L.C.B.; ACCIOLY, I.V.; MOLINA, W.F. Distribuição de Regiões Organizadoras de Nucléolo em Haemulidae (Pisces, Perciformes). In: 49º Congresso Nacional de Genética, 2003, Águas de Lindóia-SP. **Anais**, p., 2003, 431-431.

Ingrid Vilar Accioly

Endereço eletrônico: guinga20@yahoo.com

Base de pesquisa: Grupo de Genética de Recursos Marinhos

Endereço postal: Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus Universitário, Natal/RN – Brasil