

RELATÓRIO DE PESQUISA

Caracterização citogenética de peixes do Parque Estadual Mata São Francisco

Relatório final de pesquisa apresentado ao Instituto Ambiental do Paraná (IAP), como requisito obrigatório para o desenvolvimento de pesquisa em unidade de conservação.

Lenice Souza Shibatta
(Coordenadora do Projeto)

Londrina
(2010)

INTRODUÇÃO

O Parque Estadual Mata São Francisco está localizado no estado do Paraná entre os municípios de Cornélio Procópio (27%) e Santa Mariana (73%), a aproximadamente 70 km de Londrina. Consiste em um bioma de floresta de Araucária e vegetações exuberantes, com uma área de 832,58 ha. Esta reserva preserva uma das últimas e mais significativa remanescente de floresta estacional semidecidual do Norte do Paraná, abrigando várias espécies de animais silvestres. Em suas terras nasce o córrego Araras, que desemboca diretamente no rio das Cinzas, fazendo parte da bacia hidrográfica do rio Paranapanema. Nele existem inúmeras populações de peixes ainda não estudadas, assim como a maioria do rico ecossistema existente no parque (IAP, 2007). Em um levantamento prévio da ictiofauna do córrego Araras foi constatada a presença de várias espécies de peixes de pequeno porte como *Astyanax* sp., *Trichomycterus* sp., *Imparfinis schubarti*, *Hypostomus ancistroides* e *Characidium zebra* (Orsi e Pimenta, comunicação pessoal), que segundo SHIBATTA, et al. (2002) são pouco conhecidos em termos de sua biologia, bem como sobre sua evolução, sistemática e distribuição.

Este quadro é similar ao que se encontra à maioria das espécies de peixe, um grupo com elevado número de espécies, com cerca de 24.600, o que equivale, aproximadamente, ao número de espécies de todos os demais vertebrados (NELSON, 2006). Para se ter uma idéia, apenas na América do Sul, devido sua grande diversidade de ambientes, existe uma fauna de peixes muito rica, com cerca de 60 famílias e aproximadamente 2.800 espécies conhecidas. Entretanto, estima-se que existam cerca de 8.000 espécies de peixes de água doce neotropicais (SCHAEFFER, 1998).

Os estudos citogenéticos têm por objetivos principais, analisar e explicar a estrutura e o comportamento cromossômico e cariotípico que garantem a conservação, transmissão e ordenação da informação genética para o desenvolvimento dos organismos, além de estudar os seus mecanismos de controle, variação e suas conseqüências genéticas e implicações evolutivas (LACADENA, 1996). Nas duas últimas décadas a Citogenética vem contribuindo significativamente para um melhor conhecimento da biodiversidade de peixes neotropicais, apresentando uma somatória de informações e descobertas relativas a processos evolutivos nesse grupo, tais como rearranjos cromossômicos, polimorfismos estruturais e/ou numéricos, poliploidia natural, sistemas de cromossomos sexuais, distribuição geográfica de espécies e/ou populações (ARTONI et al., 2000). Estima-se que, até o momento, se conheça o cariótipo de cerca de 2.600 espécies em todo mundo, um número considerado pequeno quando comparado a quantidade de

peixes existente (OLIVEIRA et al, 2000). Entretanto, importantes subsídios têm sido fornecidos para um melhor entendimento das relações evolutivas entre espécies e populações, assim como para a caracterização de complexos de espécies, em associação com dados de morfologia, biogeografia, comportamento e biologia molecular (ARTONI et al., 2000). Desta forma, os objetivos deste trabalho de pesquisa foram caracterizar citogeneticamente os peixes do Parque Estadual Mata São Francisco, contribuir com o conhecimento da ictiofauna local e incrementar a pesquisa na UNIFIL, com o envolvimento de alunos do curso de Ciências Biológicas em trabalhos de Iniciação Científica;

METODOLOGIA:

Os peixes coletados foram identificados pelo sistemata Dr. Oscar Akio Shibatta e material testemunho foi depositado na coleção de zoologia da Universidade Estadual de Londrina.

Coleta dos peixes:

As coletas foram feitas, sob a licença de coleta 87/08, concedida pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), nos meses de maio a novembro de 2008, sendo duas coletas a cada mês, perfazendo 14 coletas ao longo do trabalho.

Os exemplares foram coletados, com auxílio de peneiras e rede de arrasto, e transportados vivos até o laboratório em tambores aerados com aerador de aquário à bateria.

Obtenção de cromossomos mitóticos (técnica de preparação direta)

A técnica utilizada foi a adaptada para peixes por BERTOLLO et al., (1978).

Para estimular a mitose foi injetado subcutaneamente uma solução de fermento biológico sacarosado (5gr fermento: 3gr açúcar: 10ml água), 1ml para cada 100gr do peso animal (LEE e ELDER,1980).

A organização dos cariótipos

Os cromossomos metafásicos foram fotografados com o auxílio de um fotomicroscópio.

As fotos foram reveladas, ampliadas e recortadas para a montagem dos cariótipos.

A morfologia dos cromossomos foi determinada como proposto por Levan et al., 1964.

A ordenação dos cromossomos será em ordem decrescente de tamanho

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este projeto de pesquisa teve início em Abril de 2008 e nesse período foram realizados estudos citogenéticos em 11 espécies de peixes (*Astyanax altiparanae*, *Gymnotus paraguensis*, *Callichthys callichthys*, *Rhamdia quelen*, *Imparfinis schubarti*, *Pimelodella meeki*, *Hoplias malabaricus*, *Hypostomus ancistroides*, *Steindachnerina insculpta*, *Geophagus brasiliensis*, e *Cetopsorhamdia iheringi*).

Os exemplares de *Astyanax altiparanae* revelaram a presença de $2n=50$ cromossomos, distribuídos em $12m+18sm+10st+10a$. A Ag-NOR evidenciou a presença de sete cromossomos marcados. A heterocromatina está presente nas regiões teloméricas em vários cromossomos. O número diplóide observado é predominante entre os *Astyanax* e parece apresentar uma condição plesiomórfica para esse gênero, entretanto a fórmula cariotípica, a localização da Ag-NOR, bem como a distribuição da heterocromatina, diferiu de algumas populações já analisadas.

Em *Gymnotus paraguensis*, todos os exemplares apresentaram $2n=54$ cromossomos, distribuídos em $50m/sm+4st/a$. O número diplóide corrobora com os demais trabalhos apresentados, entretanto a fórmula cariotípica apresenta diferenças em relação à presença de cromossomos ST/A. A NOR foi observada em dois pares de cromossomos, em um par de cromossomos metacêntricos grandes e na posição terminal do braço curto de um pequeno par de M/SM. NORs múltiplas já foram evidenciadas em outros trabalhos, entretanto com marcação em apenas 3 cromossomos. Os resultados demonstram algumas diferenças que sugerem uma possível divergência populacional.

O número diplóide em *Callichthys callichthys* foi de $2n= 58$, distribuídos em $23m+14sm+14st+2a$. A NOR foi observada em um par de cromossomos acrocêntricos, com heteromorfismo de tamanho entre os homólogos. Foi detectado também, em algumas metáfases, a presença de até três cromossomos marcados pelo nitrato de prata, sendo dois acrocêntricos e um subtelo-cêntrico.

Em *Geophagus barsiliensis* o número diplóide foi de $2n=50$, distribuídos em $12m+18sm+10st+10a$. Esse número diplóide é identificado em grande parte das espécies da família Cichlidae. Apesar de o número diplóide ser bastante conservado, já foram observadas variações na fórmula cariotípica nessa espécie, indicando diferenças populacionais.

Os resultados obtidos em *Steindachnerina insculpta* demonstraram a presença de 54 cromossomos distribuídos em 54m/sm. Estes resultados corroboram com os já encontrados na literatura, reforçando a grande estabilidade cariotípica deste grupo.

Em *Hypostomus ancistroides*, os resultados obtidos evidenciaram um número diplóide composto de $2n=58$ cromossomos, distribuídos em 32m/sm+36 st/a. Quando comparado a outros resultados observa-se similaridade no número diplóide, porém com diferenças na fórmula cariotípica.

Os exemplares de *Rhamdia quelen*, *Cetopsorhamdia iheringi* e *Imparfinis schubarti*, apresentaram números diplóides de $2n= 58$, distribuídos em 30m+12sm+10st+6a, 26m+16sm+8st+8a, 22m+16sm+10st+10a, respectivamente. Em *Pimelodella meeki*, foi observado 46 cromossomos, distribuídos em 24m+14sm+4st+4a.

Hoplias malabaricus, apresentou $2n=39$ cromossomos para os machos e 40 para as fêmeas, distribuídos em 39/40m/sm.

Os resultados obtidos evidenciam a utilidade das informações citogenéticas para confirmar a identificação de espécies (citotaxonomia) e as variações populacionais. Embora espécies novas não tenham sido encontradas, a citogenética certamente poderia ter auxiliado no seu reconhecimento.

Vale à pena ressaltar que, no decorrer do trabalho, estiveram envolvidos 11 alunos de graduação desenvolvendo a Iniciação Científica, desta forma, incrementando a pesquisa no Centro Universitário Filadélfia. Neste período os resultados foram apresentados nos XVI e XVII Simpósios de Iniciação Científica e no II Encontro de Extensão da UNIFIL.

Agradecimentos:

Gostaríamos de agradecer imensamente ao IAP, pela concessão da licença de coleta, ao Sr. Devanil Bonni e ao “Pele”, pela atenção e a grande ajuda durante as coletas.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA:

ARTONI, R. F.; VICARI, M. R.; BERTOLLO, L. A. C. 2000. Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas. Publicação UEPG- Biological and Health Sciences, 6 (1): 43-60.

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. 1978. Cytotaxomic considerations in *Hoplias lacerdae* (Pisces Erythrinidae). Braz. J. Genet., 1: 103-120.

LACADENA, L. R., 1996. Citogenética. Editorial Complutense. 931p.

LEE M. R. & ELDER F. F. B. 1980. Yeast stimulation of bone mirrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 20: 36-40.

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

OLIVEIRA C. & GOSZTONYI, 2000. A cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discusion of chromossome evolution in Siluriformes. *Caryologia* 53(1): 31-37.

NELSON S.J., 1994. *Fishes of the World*. 3 ed. United Status of America: John Wiley & Sons. 600p.

SCHAEFFER S. A. 1998. Conflict and resolution: impacto f new taxa on phylogenetic studies of the neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae). In: *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. L.R Malabarba; R.E. Reis; R.P. Vari; Z.M.S. Lucena & C.A.S Lucena. EDIPUCRS, Porto Alegre. Pp375-400.

SHIBATTA O.A., ORSI M. L., BENNEMANN S. T. & SILVA-SOUZA A. T. 2002. Diversidade e distribuição de peixes na bacia do rio Tibagi. Pp. 403-423. In: MEDRI. M.E., BIANCHINI, E., SHIBATTA O. A. & PIMENTA J. A. (Eds.), *A bacia do rio Tibagi*. Londrina, M. E. Medri. 595p.

EQUIPE DE TRABALHO

Coordenadora: MS. Lenice Souza Shibatta (UNIFIL)

Colaboradores: Dr. Oscar Akio Shibatta (UEL)

Dra. Lúcia Giuliano-Caetano (UEL)

Dra Ana Lúcia Dias (UEL)

Alunos envolvidos no projeto: Thaís S. Francescon, Ana Carolina V. F. Barros, Jaqueline L. A. de Souza, Nelissa C. Torezani, Juliandra R. Rosisca; Fernanda Carvalho Simeão, João Lucas Trivelato, Aderson Silvério Lima Filho, Thamyres Ramalho Chaves, Thamirez Refundini e Elissa Cristine Bezerra (Alunos de graduação do curso de Ciências Biológicas e de Biomedicina da UNIFIL)

RELAÓRIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELOS DISCENTES:

Nome da aluna: **Ana Carolina Vizentim F. de Barros**

Carga horária no projeto: **296 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 3º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material *de Rhamdia quelen*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Nelissa Camargo Torezani**

Carga horária no projeto: **186 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluno do 4º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material *de Pimelodella meeki*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Fernanda Carvalho Simeão**

Carga horária no projeto: **186 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 2º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material *de Astyanax altiparanae*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome do aluno: **João Lucas Trivelatto**

Carga horária no projeto: **168 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluno do 2º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São

Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Geophagus brasiliensis*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Juliandra Rodrigues Rosisca**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluno do 3º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Cetopsorhamdia iheringi* determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Tamyres Ramalho chaves**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 2º ano do Curso Biomedicina, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Imparfinis schubarti*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Jaqueline Lima Alves de Souza**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 4º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Hypostomus ancistroides*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Thais Scotton Francescon**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 4º ano no Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Hoplias malabaricus*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Thamirez Refundini**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 1º ano no Curso de Biomedicina, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Preparação dos peixes para obtenção de cromossomos

metafásicos; responsável da análise do material de *Gymnotus paraguensis*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome do aluno: **Aderson Silvério Lima-filho**

Carga horária no projeto: **152 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluno do 2º ano do Curso de Ciências Biológicas, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Participação em todas as coletas de peixes na Mata São Francisco; preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Steindachnerina isculpta*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

Nome da aluna: **Elissa Cristine Bezerra**

Carga horária no projeto: **108 horas atividades**

Atividades desenvolvidas:

Aluna do 1º ano no Curso de Biologia, participou do projeto desenvolvendo as seguintes atividades: Preparação dos peixes para obtenção de cromossomos metafásicos; responsável da análise do material de *Callichthys callichthys*, determinando seu número diplóide e montando cariótipo, para determinação da fórmula cariotípica.

RESUMOS EM ANAIS DO XVI SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNIFIL (2008)

Nome do Pesquisador (Aluno): Tamyres R. Chaves; Fernanda C. Simeão; Jaqueline L.A. Souza; Aderson S. Lima-Filho; João L. Trivelato; Thaís S. Francescon; Oscar A. Shibatta; Ana L. Dias; Lucia Giuliano-Caetano; Lenice Souza-Shibatta

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitario Filadélfia UNIFIL

Curso para apresentação: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE CROMOSSÔMICA EM *Astyanax altiparanae* (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO

RESUMO: O gênero *Astyanax*, conhecido popularmente como lambari, pertence à família Characidae e é um dos táxons de peixes de água doce mais amplamente distribuídos em nossos rios. Sua distribuição vai desde a Argentina até a fronteira do México com os Estados Unidos. É um gênero muito especioso, possuindo aproximadamente 100 espécies e subespécies nominais. Lambaris são muito comuns em rios e riachos, sendo importantes presas de peixes e aves, estando próximos à base da cadeia alimentar. O hábito alimentar dos lambaris é onívoro, sendo muito oportunistas, consumindo o que o ambiente lhes oferece. *Astyanax altiparanae* pertence a um complexo de espécies conhecido como *Astyanax bimaculatus*, que apresenta ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo desde os rios das Guianas até a bacia do rio da Prata. Estudos citogenéticos revelam que o gênero *Astyanax* apresenta uma ampla variabilidade cariotípica entre as espécies, incluindo variação no número diplóide de $2n=36$ a $2n=50$. O presente trabalho teve como objetivo analisar citogeneticamente espécimes de *Astyanax altiparanae*, procedentes do rio Araras, do Parque Estadual Mata São Francisco. As coletas foram autorizadas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença de pesquisa 87/08. Após as preparações citogenéticas, os exemplares foram fixados em formol a 10% e depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). Foram coletados, com auxílio de tarrafas, dois exemplares de *Astyanax altiparanae*, cujos dados citogenéticos revelaram a presença de $2n=50$ cromossomos, distribuídos em 11 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 14 pares de cromossomos subtelo/acrocêntrico. O número diplóide observado no presente trabalho é predominante entre os *Astyanax* e parece apresentar uma condição pleiomórfica para esse gênero, entretanto a fórmula cariotípica diferiu de algumas populações já analisadas. Os resultados aqui apresentados são preliminares e o aumento da amostragem, bem como estudos adicionais, como bandamentos, deverão ser aplicados para uma melhor caracterização dessa população de lambaris.

Palavras-chave: Citogenética; Cromossomo; *Astyanax altiparanae*

Nome do Pesquisador (Aluno): João L. Trivelato; Jaqueline L.A. Souza; Aderson S. Lima-Filho; Fernanda C. Simeão; Tamyres R. Chaves; Thaís S. Francescon; Oscar A. Shibatta; Ana L. Dias; Lucia Giuliano-Caetano; Lenice Souza-Shibatta

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitario Filadélfia UNIFIL

Curso para apresentação: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE CROMOSSOMICA EM *Geophagus brasiliensis* (PERCIFORMES, CICHLIDAE) DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO.

RESUMO: A família Cichlidae representa o maior e mais diversificado grupo de peixes entre os Perciformes de água doce neotropicais, sendo considerado um dos maiores grupos de teleósteos, com cerca de 1.290 espécies distribuídas em, aproximadamente, 227 gêneros, sendo que a grande maioria habita a África e a América do Sul. Os ciclídeos, em sua maioria, são peixes adaptados a ambientes lênticos, comumente encontrados em lagoas marginais, lagos e mesmo em rios, nos locais de águas mais tranquilas. Os primeiros estudos citogenéticos realizados neste grupo de peixes iniciaram-se em 1965 e até o momento se tem dados do número diplóide ($2n$) de, aproximadamente, 120 espécies. O presente trabalho teve como objetivo apresentar dados cariotípicos de *Geophagus brasiliensis* pertencentes ao rio Araras, localizado no Parque Estadual Mata São Francisco. As coletas foram feitas com tarrafas e arrasto, com autorização do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença de pesquisa 87/08. Após as preparações citogenética, os exemplares foram fixados em formol a 10% e depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). Foram coletados oito exemplares de *G. brasiliensis*, todos os exemplares, tanto machos quanto fêmeas, apresentaram $2n=48$, constituído por quatro cromossomos submetracêntricos e 44 subtlocêntricos/acrocêntricos. O número diplóide $2n=48$ é identificado em grande parte das espécies dessa família, composto em sua maioria por cromossomos do tipo subtelo/acro, sendo considerado o número basal para os ciclídeos neotropicais. Apesar do número diplóide ser bastante conservado, já foram observadas variações na fórmula cariotípica nessa espécie, por diversos autores, indicando diferenças populacionais. O dados aqui apresentados são preliminares mas já confirmam que *G. brasiliensis* possui características citogenéticas bem conservadas quando comparadas as demais populações já estudadas. Entretanto, estudos adicionais, como bandamentos, deverão ser desenvolvidos para uma melhor caracterização citogenética dessa população de *G. brasiliensis*, pertencente ao rio Araras.

Palavras-chave: Citogenética; cromossomos; *Geophagus brasiliensis*

Nome do Pesquisador (Aluno): Jaqueline L.A. Souza; Aderson S. Lima-Filho; Fernanda C. Simeão; João L. Trivelato; Tamyres R. Chaves; Thaís S. Francescon; Nelissa C. Torrezani; Oscar A. Shibatta; Ana L. Dias; Lucia Giuliano-Caetano; Lenice Souza-Shibatta

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitario Filadélfia UNIFIL

Curso para apresentação: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE CROMOSSOMICA EM *Hypostumus ancistroides* (LORICARIIDAE, HYPOSTOMINAE) DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO.

RESUMO: O gênero *Hypostumus*, popularmente conhecido como cascudo, pertence a família Loricariidae e é considerado o grupo mais especioso dentro desta família, compreendendo cerca de 120 espécies amplamente distribuídas nas grandes bacias hidrográficas brasileiras. Os peixes desta família podem ser encontrados em ambientes lóticos e em rios não muito profundos, com fundo arenoso ou sobre rochas. Para sobreviverem em tais ambientes e para suportar fortes correntezas são anatomicamente adaptados, possuindo ventosas bucais, nadadeiras modificadas e corpo de formato achatado. O presente trabalho teve como objetivo apresentar dados citogenéticos preliminares de *Hypostumus ancistroides*, uma espécie amplamente distribuída na bacia do rio Tibagi. Os exemplares foram coletados no rio Araras, localizado no Parque Estadual Mata São Francisco, com peneiras e tarrafas. As coletas foram feitas com autorização do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença 87/08. Foram coletados três exemplares, sendo uma fêmea e dois machos que, após as preparações citogenéticas, foram fixados em formol a 10% e

depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). Os resultados obtidos, pela coloração com Giemsa, evidenciaram um número diplóide composto de $2n=58$, para ambos os sexos, distribuídos em 32 cromossomos metacêntrico/submetracêntrico e 36 subtelocêntrico/acrocêntrico. Quando comparado os resultados obtidos neste trabalho com os da literatura, observa-se similaridade no número diplóide de $2n=58$, porém com diferenças na fórmula cariotípica, sendo observada a presença de mais cromossomos dos tipos subtelo/acro, em relação a outras populações já analisadas. Essas diferenças podem ser resultados de dificuldades no pareamento ou classificação cromossômica, devido a forte condensação de alguns cromossomos, mas também podem estar relacionadas a diferenças populacionais, como já observado em alguns trabalhos. Este resultado deve ser confirmado com o aprofundamento dos estudos e, caso se confirme, será mais uma justificativa para a existência do Parque Estadual Mata São Francisco, uma vez que a preservação de uma população, com características genéticas diversas, é importante para a manutenção da biodiversidade.

Apoio: UNIFIL/Fundação Araucária

Nome do Pesquisador (Aluno): Aderson Silvério de Lima Filho

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitario Filadélfia UNIFIL

Curso para apresentação: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE CARIOTÍPICA EM *Steindachnerina insculpta* (CHARACIFORMES, CURIMATIDAE) DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO.

A família Curimatidae é composta por oito gêneros e aproximadamente 120 espécies, amplamente distribuídas nas Américas do Sul e Central. Os indivíduos dessa família são popularmente conhecidos como “saguirus” ou “papa-terra”, devido ao seu hábito alimentar eminentemente detritívoro. Na bacia do rio Tibagi ocorrem três espécies, dentre as quais *Steindachnerina insculpta* é a mais comum, ocorrendo em rios e riachos. Dados citogenéticos demonstram uma grande estabilidade cariotípica para esta família. No presente trabalho foram analisados os cariótipos de oito exemplares de *Steindachnerina insculpta*, provenientes do rio Araras, situado no Parque Estadual Mata São Francisco. As coletas foram feitas com tarrafas, e autorizadas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença de pesquisa 87/08. Após as preparações citogenéticas, os exemplares foram fixados em formol a 10% e depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). Os resultados obtidos, pela coloração com Giemsa, evidenciaram um número diplóide composto de $2n=54$, para ambos os sexos, constituído exclusivamente por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. Estes resultados corroboram com os já encontrados na literatura, reforçando a grande estabilidade cariotípica deste grupo. Foram observados também, em algumas metáfases de três indivíduos, a presença de um microcromossomo supranumerário ou B que, segundo alguns autores a sua presença é recente e evoluiu independentemente nessas espécies. A presença de até dois cromossomos extras já foi evidenciado em outras populações de *Steindachnerina insculpta*. Esta variação tanto inter quanto intra individual dos cromossomos supranumerários, observada neste grupo, demonstra a instabilidade mitótica deste cromossomo, devido, provavelmente, ao seu comportamento não-Mendeliano durante a divisão celular. Os dados aqui apresentados são preliminares, mas a similaridade cromossômica com outras populações da bacia podem ser uma evidência de que o rio Araras não apresenta-se isolado de outros rios, permitindo o fluxo de indivíduos, formando uma só população com outras partes da bacia do rio Tibagi.

Palavras-chave: Citogenética; *Steindachnerina insculpta*; supranumerários

RESUMOS EM ANAIS DO XVII SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNIFIL (2009)

Nome do Pesquisador(Aluno): Fernanda Carvalho Simeão

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitario Filadelfia- Unifil

Curso para apresentação: LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE CROMOSSÔMICA EM *Astyanax altiparanae* (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO

O gênero *Astyanax*, conhecido popularmente como lambari, pertence à família Characidae e é um dos táxons de peixes de água doce mais amplamente distribuídos em nossos rios. Sua distribuição vai desde a Argentina até a fronteira do México com os Estados Unidos. É um gênero muito especioso, possuindo aproximadamente 100 espécies e subespécies nominais. Lambaris são muito comuns em rios e riachos, sendo importantes presas de peixes e aves, estando próximos à base da cadeia alimentar. O hábito alimentar dos lambaris é onívoro, sendo muito oportunistas, consumindo o que o ambiente lhes oferece. *Astyanax altiparanae* pertence a um complexo de espécies conhecido como *Astyanax bimaculatus*, que apresenta ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo desde os rios das Guianas até a bacia do rio da Prata. Estudos citogenéticos revelam que o gênero *Astyanax* apresenta uma ampla variabilidade cariotípica entre as espécies, incluindo variação no número diplóide de $2n=36$ a $2n=50$. O presente trabalho teve como objetivo analisar citogeneticamente espécimes de *Astyanax altiparanae*, procedentes do rio Araras, do Parque Estadual Mata São Francisco. As coletas foram autorizadas pelo Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença de pesquisa 87/08. Após as preparações citogenéticas, os exemplares foram fixados em formol a 10% e depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). Foram coletados, com auxílio de tarrafas, 89 exemplares de *Astyanax altiparanae*, cujos dados citogenéticos revelaram a presença de $2n=50$ cromossomos, distribuídos em 6 pares de cromossomos metacêntricos, 9 submetacêntricos, 5 pares de subtelocêntrico e 5 pares de cromossomos acrocêntrico. A impregnação por nitrato de prata (Ag-NOR) evidenciou a presença de 7 cromossomos marcados. A heterocromatina está presente nas regiões teloméricas em vários cromossomos. O número diplóide observado no presente trabalho é predominante entre os *Astyanax* e parece apresentar uma condição pleiomórfica para esse gênero, entretanto a fórmula cariotípica, a localização da NOR, bem como a distribuição da heterocromatina, diferiu de algumas populações já analisadas. Esses resultados irão colaborar com um maior entendimento a cerca da evolução cariotípica desse grupo, considerado bastante complexo pelos taxonomistas.

Palavras-chave: Citogenética; Cromossomo; *Astyanax altiparanae*

Nome do Pesquisador(Aluno): Elissa Cristine Bezerra

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibattta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universitário Filadelfia-Unifil

Curso para apresentação: LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDO CITOGENÉTICO DE *Callichthys callichthys* (SILURIFORMES, CALLICHTHYIDAE)

Os *Callichthys* é um dos sete gêneros pertencentes à família Callichthyidae, conhecidos popularmente como cascudos, por apresentarem o corpo revestido por placas ósseas verticais. São peixes de pequeno porte, podendo atingir até 20 cm de comprimento, de cor acinzentada. Sua distribuição é concentrada nas bacias dos rios Amazonas, Araguaia, Paraguai, Uruguai, Paraná e bacias litorâneas da região Sul. O objetivo deste trabalho foi caracterizar citogeneticamente uma população de *Callichthys callichthys*, procedentes do Parque Estadual Mata São Francisco. Foram coletados 11 exemplares provenientes do córrego Araras, com auxílio de peneiras, sob a licença de coleta 87/08, concedida pelo IAP. A obtenção de cromossomos metafásicos seguiu a técnica descrita por Fenocchio e Bertollo (1988) e a detecção da NOR e da heterocromatina por Howell e Black (1980) e Sumner (1972), respectivamente. Todos os exemplares apresentaram $2n=58$, distribuídos em oito pares de metacêntricos, nove pares de subtelocêntricos, nove pares de submetacêntricos e dois pares de acrocêntricos. O número diplóide em *C. callichthys* é bastante variável, podendo apresentar de 52 a 74 cromossomos. Esta grande variabilidade pode ser devido a presença de cromossomos extras, bem como estar relacionado a características populacionais ou até mesmo em função de diferentes espécies. A região organizadora de nucléolo (NOR) foi observada em um par de cromossomos acrocêntricos, com heteromorfismo de tamanho entre os homólogos. Foi detectado também, em algumas metáfases, a presença de até três cromossomos marcados pelo nitrato de prata, sendo dois acrocêntricos e um subtelocêntrico. NOR simples nesta espécie é bastante comum, entretanto já foi observado a presença de marcações múltiplas. A técnica de banda C evidenciou fracas marcações nas regiões tanto telomérica quanto centroméricas, em alguns cromossomos. O padrão de banda C corrobora com a maioria dos resultados presentes na literatura. Esses dados demonstram que *C. callichthys* é um grupo de peixes bastante complexo e mais estudos deverão ser desenvolvidos para um melhor entendimento desse grupo.

Palavras-chave: Citogenética, bandamento cromossômico, *Callichthys*

Nome do Pesquisador(Aluno): Thamirez Refundini

Nome do Orientador: Lenice Souza Shibatta

Titulação do Orientador: Mestre

Instituição: Centro Universidade Filadélfia- Unifil

Curso para apresentação: BIOMEDICINA

DADOS CITOGENÉTICOS EM *Gymnotus paraguensis*, (GYMNOTIFORMES, GYMNOTIDADE)

A família Gymnotidae é formada por um grupo monofilético, tendo como único representante o gênero *Gymnotus* composto por 32 espécies válidas. São peixes elétrogênicos de água doce, amplamente distribuído na região neotropical. Este grupo apresenta grande diversidade cariotípica, podendo ser encontrado desde $2n=39/40$, em *G. pantanal*, a $2n=54$, em *G. paraguensis*. O objetivo do presente trabalho foi analisar citogeneticamente uma população de *Gymnotus paraguensis*, procedente do Parque Estadual Mata São Francisco/PR. Foram coletados 20 exemplares de *G. paraguensis* no córrego Araras, com auxílio de peneiras, com autorização do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença 87/08. A obtenção de cromossomos metafásicos seguiu a técnica descrita por Fenocchio e Bertollo (1988) e a detecção da região organizadora de nucléolo (NOR), por Howell e Black (1980). Todos os exemplares apresentaram $2n=54$ cromossomos, distribuídos em 25 pares de Metacêntricos/Submetacêntricos e 2 pares de Subtelocêntricos/Acrocêntricos. Foi observado a presença de uma constrição secundária intersticial em um par de cromossomos metacêntricos, considerado característico da espécie. O número diplóide, observado no presente trabalho, corrobora com os demais trabalhos apresentados para esta espécie, entretanto a fórmula cariotípica apresenta diferenças

em relação à presença de cromossomos ST/A, em comparação com outros trabalhos. A NOR foi observada em dois pares de cromossomos, em um par de cromossomos metacêntricos grandes, coincidente com a constricção intersticial, e na posição terminal do braço curto de um pequeno par de M/SM. Regiões organizadoras de nucléolos múltiplas já foram evidenciadas em outros trabalhos, entretanto com marcação em apenas 3 cromossomos. Os resultados apresentados no presente estudo são preliminares, porém já demonstram algumas diferenças em relação às demais populações de *G. paraguensis* analisadas, sugerindo uma possível divergência populacional.

Palavras-chave: Citogenética, *Gymnotus*, NOR.

RESUMO EXPANDIDO EM ANAIS DO II ENCONTRO DE EXTENSÃO DA UNIFIL (2008)

CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE PEIXES DO PARQUE ESTADUAL MATA SÃO FRANCISCO

**Lenice Souza-Shibatta
Tamyres R. Chaves
Fernanda C. Simeão
Jaqueline L. A. Souza
Aderson S. Lima-Filho
João L. Trivelato
Tháís S. Francescon
Oscar A. Shibatta
Lucia Giuliano-Caetano
Ana L. Dias**

Introdução

O Parque Estadual Mata São Francisco preserva uma das últimas e mais significativa remanescente de floresta estacional semidecidual do Norte do Paraná, abrigando várias espécies de animais silvestres, além de uma exuberante floresta de Araucária. Em suas terras passa o córrego Araras, que desemboca no rio das Cinzas, fazendo parte da bacia hidrográfica do rio Paranapanema. Nele existem inúmeras populações de peixes ainda não estudadas e, em um levantamento prévio de sua ictiofauna, foi constatada a presença de várias espécies de peixes de pequeno porte, e como alguns desses peixes não são migradores, talvez seja possível a presença de alguma espécie ainda desconhecida para a ciência. Além disso, esses peixes ainda são pouco conhecidos em termos de sua biologia, bem como sobre sua evolução, sistemática e distribuição.

Nas duas últimas décadas a Citogenética vem contribuindo significativamente para um melhor conhecimento da biodiversidade de peixes neotropicais, apresentando uma somatória de informações e descobertas relativas a processos evolutivos nesse grupo, tais como rearranjos cromossômicos, polimorfismos estruturais e/ou numéricos, sistemas de cromossomos sexuais, distribuição geográfica de espécies e/ou populações.

Tendo em vista a importância e a necessidade de estudos no Parque Estadual Mata São Francisco, este trabalho teve como objetivo conhecer melhor sua ictiofauna, utilizando como ferramenta a Citogenética, bem como o envolver alunos do Centro Universitário Filadélfia - UNIFIL em trabalhos de Iniciação Científica.

Material e Métodos

As coletas foram feitas no córrego Araras com autorização do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), sob o registro de licença de pesquisa 87/08, com auxílio de tarrafas, peneiras e arrasto. Após as preparações citogenéticas, os exemplares foram fixados em formol a 10% e depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL).

A técnica utilizada para obtenção de cromossomos metafásicos seguiu as técnicas descritas por FENOCCHIO & BERTOLLO (1988) e os cromossomos foram classificados segundo a técnica proposta por LEVAN *et al.* (1964).

Resultado e Discussão

Foram analisados citogeneticamente oito exemplares de *Geophagus brasiliensis*, seis de *Hypostomus ancistroides*, oito de *Steindachnerina insculpta*, 52 de *Astyanax altiparanae*, nove de *Hoplias malabaricus*, nove de *Gymnotus paraguensis* e seis de *Imparfinis schubarti*.

G. brasiliensis apresentou $2n=48$, constituído por quatro cromossomos submetracêntricos e 44 subtlocêntricos/acrocêntricos. O número diplóide $2n=48$ é identificado em grande parte das espécies dessa família, composto em sua maioria por cromossomos do tipo subtelo/acro, sendo considerado o número basal para os ciclídeos neotropicais.

Em *H. ancistroides* foi evidenciado um número diplóide composto de $2n=58$, distribuídos em 32 cromossomos metacêntrico/submetracêntrico e 36 subtlocêntrico/acrocêntrico. Este número diplóide é bastante comum em relação a outras populações já analisadas, porém com diferenças na fórmula cariotípica, sendo observada a presença de mais cromossomos dos tipos subtelo/acro.

Em *S. insculpta* foi observado um número diplóide composto de $2n=54$, constituído exclusivamente por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. Estes resultados corroboram com os já encontrados na literatura, reforçando a grande estabilidade cariotípica deste grupo. Foram observados também, em algumas metáfases de três indivíduos, a presença de um microcromossomo supranumerário ou B que, segundo alguns autores, a sua presença é recente e evoluiu independentemente nessas espécies.

Já em *A. altiparanae* pode ser observado $2n=50$ cromossomos, distribuídos em 11 pares de cromossomos meta/submetacêntricos e 14 pares de cromossomos subtelo/acrocêntrico. O número diplóide observado no presente trabalho é predominante entre os *Astyanax* e parece apresentar uma condição pleiomórfica para esse gênero, entretanto a fórmula cariotípica diferiu de algumas populações já analisadas.

Em *Hoplias malabaricus*, *Gymnotus paraguensis* e *Imparfinis schubarti*, foram determinados, até o momento, somente o número diplóide, sendo que *H. malabaricus* apresentou $2n=39$ para machos e 40 para fêmeas, demonstrando um sistema sexual do tipo X_1X_2Y e $X_1X_1X_2X_2$, em machos e fêmeas, respectivamente.

G. paraguensis apresentou 54 cromossomos, com a presença de um par de metacêntrico apresentando uma constrição secundária, característica da espécie.

Em *I. schubarti* foi observado a presença de 68 cromossomos, como já observado em outras populações. Os resultados desses últimos são preliminares, uma vez que serão montados seus respectivos cariótipos para uma melhor caracterização dessas espécies. Para dar continuidade neste trabalho, pretende-se aumentar o número de espécies, bem como de exemplares de algumas espécies e empregar estudos adicionais, como bandamentos, para uma melhor caracterização da ictiofauna do Parque Estadual Mata São Francisco.

Referências

- ARTONI R. F. & BERTOLLO L. A. C. Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on Karyotype evolution in the genus *Hypostomus*. *Caryologia* 49:81-90, 1996.
- BRITSKI, H. A.; SATO Y.; ROSA, A.B. S. *Manual de identificação de peixes da região de 3 Marias*. Brasília: CODEVASP, 1986.
- BRUM, M.JI; GALETTI JUNIOR, P. M. Teleostei ground plan karyotype. *J.Comp. Biol.*,2(2): 91-102, 1997.
- BURGESS, W, E. Two new genera of angelfishes, Family Pomacanthidae. *Tropical Fish Hobbyist*. 39: 68-70, 1991.
- DE ROSA, LVS., FORESTI, F, MARTINS, C., OLIVEIRA, C., SOBRINHO, PE. And WASKO, AP., Cytogenetic analyses of two Curimatidae species (Pisces; Characiformes) from the Paranapanema and Tietê Rivers. *Braz. J. Biol.* Vol67, nº2, p. 333-338, 2007.
- FELDBERG, E; BERTOLLO, L. A. C. Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, periformes). *Caryologia*, 38: 257-268, 1985.
- FENOCCHIO A. S. & BERTOLLO L. A. C. A simple method for fresh-water fish lymphocyte culture. *Rev. Brasil. Genet.*11: 847-852, 1988.
- GRAVENA, W. ,TERIBELE, R., GIULIANO-CAETANO, L. and DIAS, AL. Occurrence of B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yepez, 1948) (Characiformes, Curimatidae) from the Tibagi River basin (Paraná State, Brazil). *Braz. J. Biol.* Vol67, nº4, p.905-908, 2007.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A.A.. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 2001-220, 1964.
- MARTINS C., GIULIANO-CAETANO, L. and DIAS AL. Occurrence of a B Chromosome in *Cyphocharax modesta* (Pisces. Curimatidae). *Cytobios*. Vol. 85, p. 247-253, 1996.
- MICHELE, J. L.; TAKAHASHI, C. S. 1977. Comparative Cytology of *Tilapia rendalli* and *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Pisces). *Cytology*, 42: 535-537
- REIS R. E., KULLANDER S. O. & FERRARIS Jr C. J. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, 742 pp, 2003.
- OLIVEIRA C. & GOSZTONYI, A cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in Siluriformes. *Caryologia* 53(1): 31-37, 2000.
- VARI R. P., The Curimatidae a lowland Neotropical fish family (Pisces, Characiformes): distribution, endemism and phylogenetic biogeography, pp.343-377, in: HEYER, W.R. e VANZOLINI. P. E. (eds), Neotropical distribution patterns. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil, 1987..
- VENERE PC e GALETTI JR. PM. Natural triploidy and chromosome B in the fish *Curimata modesta* (Curimatidae,Characiformes). *Rev. Brazil. Genet.*, vol 8,no 4, p. 681-687, 1985.
- WEITZMAN S.H and VARI R.P., Characins and their allies, IN: JR. Paxton and WN. Eschmeyer (eds). *Encyclopedia of fishes*. 2ed., San Diego, USA, p. 101-107, 1998.