

ESTUDOS CARIOTÍPICOS DE PEIXES DA FAMÍLIA SCIAENIDAE (TELEOSTEI, PERCIFORMES) DA REGIÃO DE CANANÉIA, SP, BRASIL. 2. SOBRE O CARIÓTIPO DE MENTICIRRHUS AMERICANUS (LINNAEUS, 1758)\*

Vicente GOMES\*\*, Anna Emília A. de M. VAZZOLER\*\*\* & PHAN Van Ngan

Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo

**Synopsis**

*The chromosomes of M. americanus was studied. The diploid number is 48 acrocentric chromosomes and the haploid number is 24. The diploid DNA content of blood cell nucleus was measured. C- and G- banding techniques were tried.*

Descriptors: Cytology, Genetics, Chromosomes, Karyotypes, Marine fish, Sciaenidae, *Menticirrhus americanus*, Cananéia, SP.  
Descritores: Citologia, Genética, Cromossomos, Cariótipos, Peixes Marinhos, Sciaenidae, *Menticirrhus americanus*, Cananéia, SP.

**Introdução**

Dando continuidade aos estudos cariotípicos de peixes marinhos da região de Cananéia, foram escolhidos como material de estudo os peixes da família Sciaenidae, devido à escassez de dados citogenéticos sobre ela e por ter sido estudada sob diversos aspectos, quanto a relações filogenéticas entre suas espécies (Chao, 1978).

A estrutura da espécie *M. americanus* (Linnaeus, 1758) foi estudada por Saccardo (1976), através da análise da variação de caracteres merísticos e morfométricos; alguns aspectos de seu ciclo de vida foram abordados por Paiva Filho *et al.* (1976). Essa espécie ocorre no Atlântico Oeste, desde as Antilhas até a Argentina, em águas costeiras e estuários (Chao, *op. cit.*). Seu comportamento mostrou-se bastante complexo, sugerindo a ampliação dos estudos, com o enfoque de outros aspectos.

Realizou-se, então, neste trabalho, para estabelecer o cariótipo e características cromossômicas de *M. americanus*, preparações de cromossomos metafásicos mitóticos e meióticos e ensaios de bandamentos C e G.

**Material e métodos**

Foram utilizados 15 indivíduos de *M. ame-*

(\*) Trabalho realizado com apoio financeiro da FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. 74/816 e Proc. 77/0497).

(\*\*) Aluno de Pós-Graduação do IOUSP.

(\*\*\*) Atualmente no INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.  
Publ. n. 604 do Inst. oceanogr. da Usp.

*ricanus*, 7 fêmeas e 8 machos, coletados na região estuarino-lagunar de Cananéia, litoral Sul, SP (25°01'S).

Os peixes receberam injeção intra-peritoneal de colchicina a 0,5%, em solução aquosa, na proporção de 0,2 ml/100g do peso do animal. Depois de 6 horas, os animais foram sacrificados.

Os cromossomos metafásicos mitóticos foram obtidos do rim pelo método de *air-drying*, modificado do de LeGrande & Fitzsimous (1976), como descrito em Gomes *et al.* (1983). Os cromossomos metafásicos meióticos foram obtidos de testículos por método adaptado do de Oyhenart-Perera *et al.* (1975), como descrito por Gomes *et al.* (*op. cit.*).

Para os ensaios de bandamento C, aplicou-se a técnica de Sumner (1972). As lâminas foram tratadas em Ba(OH)<sub>2</sub> a 5%, por 3 min, a 50°C; a seguir, lavadas em água deionizada; incubadas em 2SSC pH 7,0, a 60°C, por 1 h; novamente lavadas; coradas em Giemsa 2%, por 1 h e 30 min; lavadas, secas ao ar e montadas em Permount.

Para os ensaios de bandamento G, aplicou-se o método de Seabright (1972), modificado por Stocco (com.pess.\*), As lâminas foram mergulhadas em solução de tripsina (1:250) a 0,02%, em tampão fosfato pH 6,8, a 4°C, por 3 min e 30 seg; lavadas em água destilada e coradas em Giemsa 3%, em tampão fosfato, pH 6,8, por 12 a 13 min e montadas em Permount após secagem.

Os valores de conteúdo diplóide de DNA de eritrócitos foram obtidos pelo método de citofotometria de varredura (Soma *et*

(\*) Stocco, R. de C. - Instituto Butantã, SP, 1980.

al., 1975).

As medidas cromossômicas foram realizadas em 20 metáfases mitóticas (10 de machos e 10 de fêmeas), sendo realizadas na própria fotografia da seguinte maneira: o maior para de cromossomos foi medido ao microscópio com ocular micrométrica Wild 15XSK, sendo realizada uma correlação entre essas medidas e a ampliação fotográfica (Denton, 1973), como descrito por Gomes *et al.* (*op. cit.*).

Estabeleceu-se os valores modais haplóide e diplóide, sendo os cromossomos pareados e dispostos em ordem decrescente de tamanho, com base nas medidas e ajuste visual.

A nomenclatura dos cromossomos seguiu a proposta por Levan *et al.* (1964).

### Resultados

Na Tabela 1, está apresentada a variação encontrada nas contagens do número de cromossomos diplóides, em metáfases mitóticas de machos e fêmeas de *M. americanus* e do número de cromossomos haplóides, em metáfases meióticas de machos de *M. americanus*. O número modal diplóide, para ambos os sexos, foi igual a 48 cromossomos, representando 87,7% do total das contagens para machos e 85,0% para fêmeas. O número modal haplóide foi igual a 24 cromossomos ou bivalentes, representando 100% das contagens.

Tabela 1. Contagem dos números de cromossomos em metáfases diplóides ( $2n$ ) obtidas de rim de machos e fêmeas e os números de cromossomos em metáfases haplóides ( $n$ ), de testículos de *M. americanus*

SEXO	NÚMERO DE PEIXES	NÚMERO DE CROMOSSOMOS									TOTAL DE CÉLULAS
		22	23	24...45	46	47	48	49	50		
(2n)	M	6				1	5	50		1	57
	F	7			4	4	8	113	4		133
(n)	M	2		17							17

M = machos  
F = fêmeas

Na Figura 1, estão os cariótipos de macho e fêmea, montados em ordem decrescente de tamanho. Os 48 cromossomos são do tipo t (acrocêntricos), sendo que o primeiro par de homólogos apresenta uma constricção secundária no terço superior dos cromossomos. O tamanho decresce gradualmente, sendo que o comprimento total, ou seja, a média das medidas das duas cromátides, dos cromossomos metafásicos em contração média, variou de 3,18  $\mu\text{m}$  a 1,47  $\mu\text{m}$ , do maior para o menor par. O comprimento total do lote haplóide, ou seja, a soma dos valores médios de cada par, foi de 52,62  $\mu\text{m}$ .

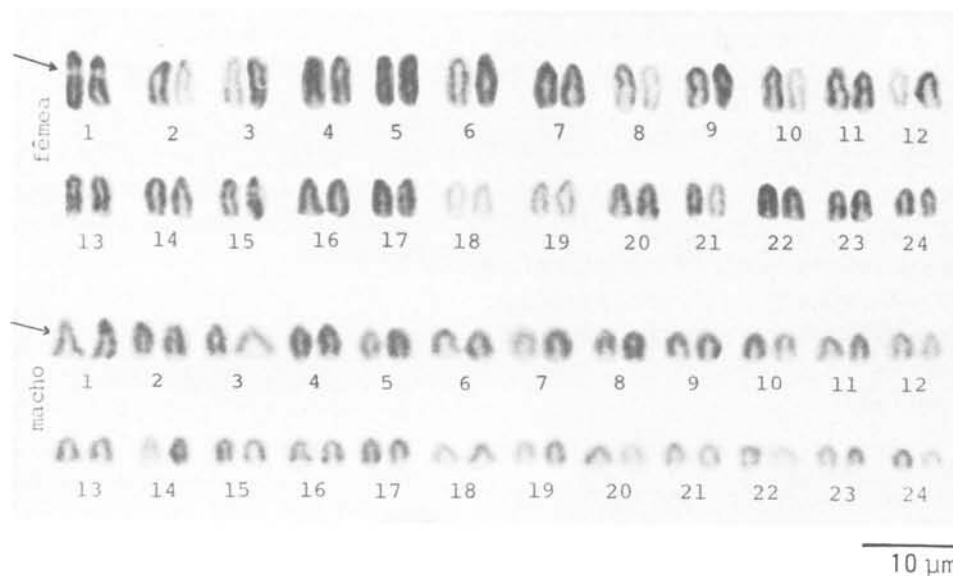


Fig. 1. Cariótipos de fêmea e macho de *M. americanus*. Os cromossomos foram montados em ordem decrescente de tamanho. As flechas indicam a constricção secundária no terço superior do primeiro par.

O conteúdo diplóide de DNA foi de  $1,57 \pm 0,03$  picogramas/célula.

O cariótipo de *M. americanus*, apresentando bandas C, está mostrado na Figura 2A. Pode-se perceber a presença de heterocromatina nas regiões centrométricas dos cromossomos, variando em inten-

sidade em cada par. Nas melhores metafases pôde-se notar heterocromatinas intercalares e teloméricas. Na Figura 2B, está o cariótipo de *M. americanus*, mostrando bandas G, mais evidentes em alguns cromossomos. Não foram constatadas diferenças cromossômicas entre os sexos.

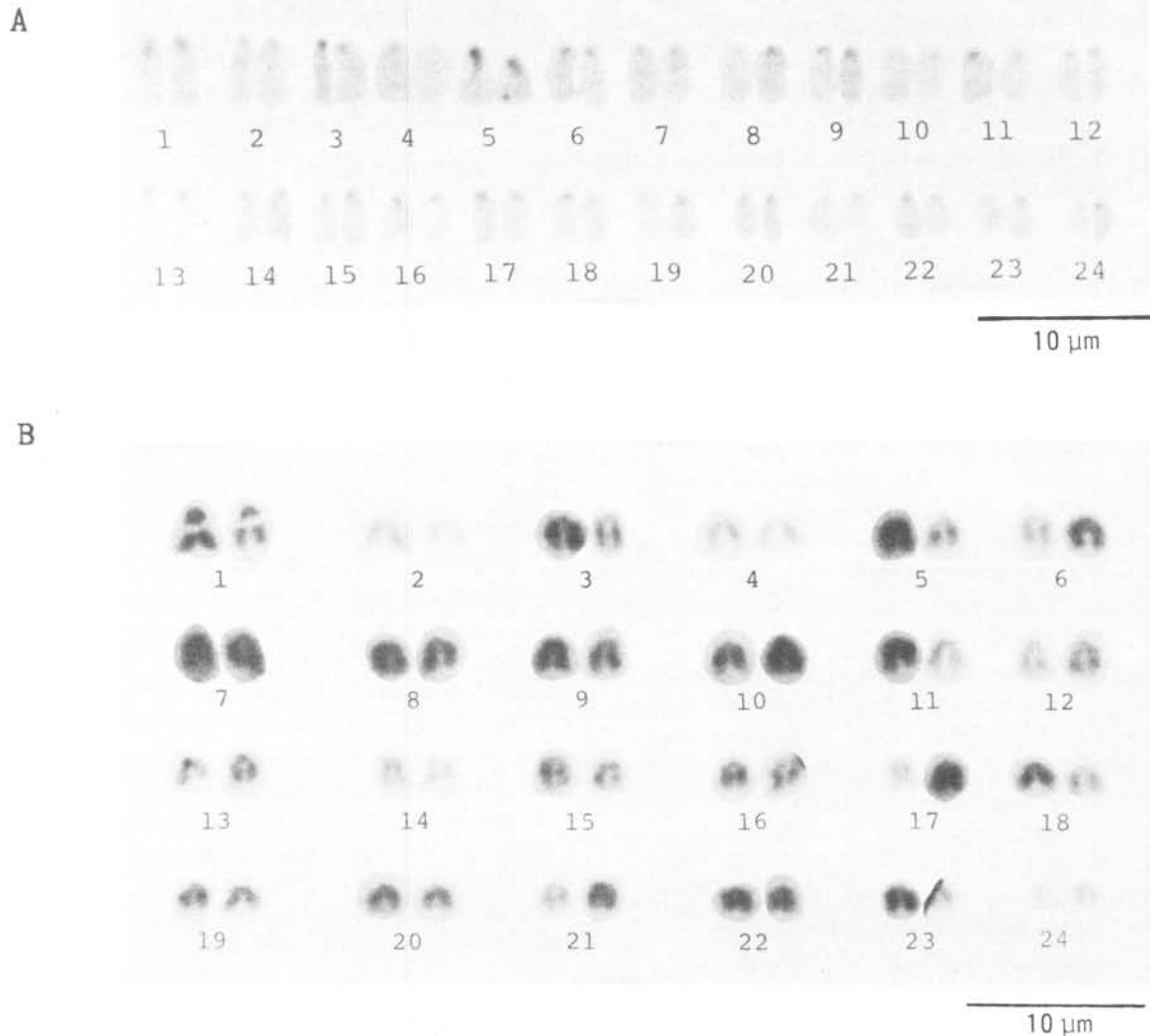


Fig. 2. Cariótipos de *M. americanus*, mostrando bandas C (em A) e bandas G (em B).

### Discussão

As metafases mitóticas de *M. americanus* apresentam 48 cromossomos tipo t, que é o complemento diplóide mais comumente encontrado nos perciformes (Ohno *et al.*, 1968). O conteúdo diplóide de DNA de  $1,57 \pm 0,03$  picogramas/célula está dentro da variação encontrada por Hinegardner & Rosen (1972) para 5 espécies de Sciaenidae, cujo conteúdo haplóide de DNA está entre 0,76 e 0,98 picogramas.

Devido à semelhança de tamanho dos cromossomos de *M. americanus*, o pareamento dos mesmos é um tanto subjetivo, já que pares adjacentes são dificilmente distinguíveis. Para solucionar esse problema, ensaiou-se técnicas de bandamento G, mas um padrão nítido não foi obtido. Apesar disso, pôde-se constatar a presença de bandas correspondentes em alguns pares, tornando, de certo modo, mais fácil a identificação dos homólogos. Por esse resultado, concorda-se com Bertollo (1978), quando ressalta que o

bandamento G em peixes seria possível, sendo necessário um aprimoramento das técnicas para esse grupo animal. Pela aplicação dessa técnica, pôde-se evidenciar, com maior nitidez, a posição da constricção secundária no terço superior do primeiro par de homólogos. Seria interessante verificar, em outras espécies de Sciaenidae, a existência e localização da constricção secundária que, por ser nítida, poderia servir como um marcador para a identificação de espécies.

Com a aplicação da técnica de bandamento C, pôde-se constatar a presença de heterocromatina na região pericentrométrica dos cromossomos. A evidenciação de heterocromatina centromérica pelo bandamento C é comum em grande variedade de animais (Toledo, 1978).

O exame das metáfases testiculares revelou que o número modal haplóide é igual a 24, o que vem de acordo com o número diplóide igual a 48. Apesar de terem-se obtido poucas metáfases testiculares para *M. americanus*, o fato de 100% delas apresentar os 24 cromossomos ou bivalentes, sem perdas ou rupturas dos mesmos, demonstra ser a técnica altamente satisfatória.

Pelas nossas análises, não se pôde constatar diferenças cromossômicas entre os sexos de *M. americanus*. Apesar de terem sido constatadas diferenças cariotípicas entre machos e fêmeas de muitas espécies de peixes, tais diferenças não constituem regra geral (Bertollo, 1978).

Deve-se ressaltar que a continuidade dos estudos cariotípicos em peixes da família Sciaenidae e de outros peixes brasileiros é de grande interesse, devido ao vasto campo de aplicação para esses dados.

### Conclusões

Por este trabalho, chegou-se às seguintes conclusões:

1. O cariótipo de *M. americanus* apresenta número diplóide de cromossomos igual a 48, sendo os mesmos do tipo t (acrocêntricos), decrescendo gradualmente de tamanho, de 3,18  $\mu\text{m}$  a 1,47  $\mu\text{m}$ , em média;
2. O primeiro par de homólogos possui uma constricção secundária localizada no terço superior dos cromossomos;
3. O conteúdo diplóide de DNA, por célula, foi de  $1,57 \pm 0,03$  picogramas;

4. Não foi possível estabelecer um padrão nítido de bandas G para *M. americanus*, mas a aplicação da técnica facilitou a identificação de alguns pares adjacentes e a visualização da constricção secundária;
5. Bandas C localizam-se, principalmente, nas regiões pericentroméricas dos cromossomos, e
6. Não foram constatadas diferenças cariotípicas entre machos e fêmeas pelos métodos empregados.

### Resumo

Estudou-se o cariótipo de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758), peixes teleosteos da família Sciaenidae, coletados na região estuarino-lagunar de Cananéia, SP, Brasil. Foram realizadas preparações de cromossomos mitóticos e meióticos e ensaios de bandeamentos C e G. O número diplóide encontrado para a espécie foi  $2n = 48$  cromossomos, tipo t cujos tamanhos variaram entre 3,18  $\mu\text{m}$  e 1,47  $\mu\text{m}$ , em média, do maior para o menor par. O primeiro par de homólogos apresenta uma constricção secundária no terço superior dos cromossomos. O número haplóide encontrado foi  $n = 24$ . O conteúdo diplóide de DNA foi de  $1,57 \pm 0,03$  picogramas por célula. Não se obteve padrão nítido de bandas G, mas a aplicação da técnica facilitou a identificação de alguns pares adjacentes e a visualização da constricção secundária. Bandas C localizam-se, principalmente, nas regiões pericentrométricas.

### Agradecimentos

Expressamos nossos agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa de estudo concedida a Vicente Gomes (Proc. 77/0497). À Lic. Rita de Cássia Stocco, do Instituto Butantã, pelo auxílio nas técnicas de bandamento. Ao Dr Mithitaka Soma, do Instituto Butantã, pelas medidas de conteúdo de DNA. À M.Sc. Hana Suzuki, pelo auxílio durante o trabalho.

### Referências bibliográficas

- BERTOLLO, L. A. C. 1978. Estudos citogenéticos no gênero *Hoplias* Gill, 1903 (Pisces - Erythrinidae). Tese de doutorado. Universidade de São

- Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 164p.
- CHAO, L. N. 1978. A basis for classifying western Atlantic Sciaenidae (Teleostei, Perciformes). NOAA tech. Rep. NMFS Cir., (415): 1-61.
- DENTON, T. E. 1973. Fish chromosome methodology. Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 166p.
- GOMES, V.; VAZZOLER, A. E. de M. & PHAN V. N. 1983. Estudos cariótipos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, Perciformes) da região de Cananãia, SP, Brasil. 1. Sobre o cariótipo de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 32(2):137-142.
- HINEGARDNER, R. & ROSEN, D. E. 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. Am. Nat., 106:621-644.
- LeGRANDE, W. H. & FITZSIMOUS, J. M. 1976. Karyology of the mullets *Mugil curema* and *M. cephalus* (Perciformes-Mugilidae) from Louisiana, Copeia, (2):338-391.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52:201-200.
- OHNO, S.; WOLF, V. & ATKIN, N. B. 1968. Evolution from fish to mammals by gene duplication. Hereditas, 59(3): 169-187.
- OYHENART-PERERA, M. F.; LUENGO, J. A. & BRUM-ZORRILLA, N. 1975. Estudio citogenético de *Cichlasoma facetum* (Jenyns) y *Crenicichla sexatilis* (Linn.) (Teleostei-Cichlidae). Revta Biol. Uruguay, 3(1):29-36.
- PAIVA FILHO, A. M.; VAZZOLER, A. E. A. de M.; ZANI, M. de L. & GUERRELHAS, A. C. de B. 1976. *Menticirrhus americanus*: estudo do comportamento e ciclo de vida da espécie. Ciênc. Cult., S Paulo, 28(7 supl.):219.
- SACCARDO, S. A. 1976. Diferenciação geográfica de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) entre as latitudes 23°30'S (Ubatuba, SP) e 32°10'S (Barra do Rio Grande, RS). Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 127p.
- SEABRIGHT, M. 1972. The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in chromosomes of man. Chromosoma, 36:204-210.
- SOMA, M.; BEÇAK, M. L. & BEÇAK, W. 1975. Estudo comparativo do conteúdo de DNA em 12 espécies de lacertílios. Ciênc. Cult., S Paulo, 27(12): 1324-1327.
- SUMNER, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp. cell. Res., 75:304-306.
- TOLEDO, L. F. A. 1978. Contribuição à citogenética dos Gymnotoidei (Pisces, Ostaryophysi). Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências, 128p.

(Recebido 16-set-1983;  
aceito 26-mar-1984)