

**DIVERSIDADE CARIOTÍPICA DE PIRANHA VERMELHA (*Pygocentrus nattereri*)
(CHARACIFORMES, CHARACIDAE), RIO SALOBO, BACIA DO ARAGUAIA, PARÁ, BRASIL**

**KARYOTYPICAL DIVERSITY OF THE RED PIRANHA (*Pygocentrus nattereri*) (CHARACIFORMES, CHARACIDAE),
SALOBO RIVER, ARAGUAIA BASIN, PARÁ, BRAZIL**

Mariana Passos Santana*¹, Patrícia Giongo², Natália Martins Travenzoli¹, Nicholas Jacob Walker¹, Wagner Martins Santana Sampaio^{1,3}

*Graduanda em Ciências Biológicas; Universidade Federal de Viçosa; Av. PH Rolfes, sem número, 36570-000 – Viçosa – Minas Gerais - Brasil; diversidadegenetica@gmail.com,

¹Laboratório de Sistemática Molecular, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 – Viçosa Minas Gerais-Brasil;

²Laboratório de Genética Evolutiva e Ecológica, Campus de Rio Paranaíba, Universidade Federal de Viçosa, 38810-000, Rio Paranaíba, Minas Gerais -Brasil;

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Tangará da Serra, 78300-000, Tangará da Serra, Mato Grosso–Brasil.

Resumo

Serrasalmideos são peixes conhecidos por pacus e piranhas, incluindo cerca de 80 espécies e 15 gêneros. Os gêneros estão representados na bacia Amazônica, Paraná-Paraguai e São Francisco. O objetivo deste trabalho foi realizar análises cariotípicas e definir a localização dos sítios de NORs, em espécimes de piranha vermelha *Pygocentrus nattereri*. Foram analisados dez indivíduos de *P. nattereri* coletados no rio Salobo, bacia do Araguaia, no município de Rio Maria, Pará-Brasil. Os espécimes foram submetidos às técnicas de obtenção de cromossomos mitóticos metafásicos a partir de células do rim anterior e as NORs obtidas pela impregnação com nitrato de prata. O registro fotográfico feito em microscópio Olympus BX60, as fotos processadas em Adobe Photoshop CS2 e as metáfases montadas no Image-Pro Plus®. Os espécimes apresentaram $2n=60$ e a fórmula cromossômica $14m+22sm+14st+10a$, com $NF=100$. Os resultados cariotípicos e de NORs múltiplas estão dentro da variação esperada para a família, gênero e espécies.

Palavras-chave: biodiversidade, citogenética, cromossomo.

Abstract

Serrasalmideos are fish commonly known as pacus and piranhas, and include around 80 species and 15 genera. The genera are represented in the Amazon, Paraná-Paraguay and São Francisco basins. The objective of this work was to perform Karyotypical analyses and define the locations of the NOR sites in specimens of red piranhas (*Pygocentrus nattereri*). Ten individuals of *P. nattereri* were collected in the Salobo River, Araguaia basin, in Rio Maria municipality, Pará, Brazil. Kidney cells were extracted from each specimen to obtain chromosomes in mitotic metaphases, and stained with silver nitrate to observe the NORs. The recorded photograph was made using an Olympus BX60 microscope, the photos were processed in Adobe Photoshop CS2 and the metaphases were mounted in Image-Pro Plus®. The specimens presented a $2n=60$ diploid number and the chromosomal formula was $14m+22sm+14st+10a$, with $NF=100$. The results of the NOR karyotypes are within the variation expected for this family, genus and species.

Key words: biodiversity, cytogenetics, chromosomes

Introdução

A subfamília serrasalmínea representa os peixes popularmente conhecidos por pacus e piranhas, que inclui cerca de 80 espécies válidas e 15 gêneros, estritamente Neotropicais. Quase todos os gêneros estão representados na bacia Amazônica e apenas seis estão presentes na bacia do Paraná-Paraguai e três na bacia do São Francisco (Jégu, 2003).

Pygocentrus nattereri (Kner, 1858) popularmente conhecido como piranha verdadeira ou piranha vermelha (Figura 1), prefere ambientes lênticos, e assimilam bem grandes variações de qualidade de água. Possui hábito alimentar onívoro, isto é, consomem invertebrados, insetos, material vegetal, pássaros que estão na água e peixes, notadamente espécies de pequeno porte e os que estão moribundos ou feridos, até mesmo àqueles pertencentes ao seu próprio cardume (Camargo e Queiroz, 2005; Queiroz e Margurran, 2004). De acordo com os estudos de Braga (1975), o dimorfismo sexual da piranha é pouco perceptível e sua maturação sexual ocorre por volta de um ano de vida, quando atinge aproximadamente 13 cm de comprimento.



Figura 1. Exemplo de piranha-vermelha *Pygocentrus nattereri*.

A taxonomia e sistemática dos serrasalmíneos apresentam vários aspectos controversos, com discordância entre os autores quanto à sua posição sistemática. Gosline (1951) e Nelson (1961) consideram esse grupo como uma subfamília da família Characidae. Géry (1972) afirma ser uma família dividida em três subfamílias: 1) Serrasalmínea, que são as piranhas e pirambecas, com apenas um

gênero (*Serrasalmus*) e vários subgêneros (*Pygocentrus*, *Pristobrycon*, *Pygopristis* e *Taddyela*), 2) Subfamília Myleinae, os pacus, com os gêneros (*Myleus*, *Mylesinus*, *Colossoma*, *Metynnis*, *Acnodon*, *Mylossoma*, *Utiaritchthys*) e 3) Catoprioninae, representada por apenas um gênero e espécie, *Catoprion mento*.

Machado-Allison (1983, 1985) revisou todos os gêneros do grupo e, baseado em caracteres derivados (apomórficos), sugeriu o “status” de uma subfamília monofilética, Serrasalmínea, dentro da família Characidae. Entretanto, propôs a existência de duas linhagens independentes: 1) os pacus e 2) as piranhas mais o pacu *Metynnis*. Assim, esta subfamília seria constituída por 13 gêneros: *Colossoma*, *Piaractus*, *Mylossoma*, *Myleus*, *Mylesinus*, *Utiaritchthys*, *Acnodon*, *Metynnis*, *Catoprion*, *Pygopristis*, *Pygocentrus*, *Pristobrycon* e *Serrasalmus*. Orti *et al.* (1996), com base em dados de rDNA mitocondrial, propôs uma filogenia sem as duas linhagens independentes para os Serrasalmínea, onde *Colossoma* ocupa a posição mais basal e as piranhas representam o grupo mais derivado. Freman *et al.* (2007), consideraram as piranhas e pacus como uma família, Serrasalmidae, mas concordando que tanto a identificação como a posição filogenética de muitas espécies ainda são problemáticas.

Diversos estudos têm sido realizados visando à caracterização de espécies e a revisão do grupo, abrangendo análises morfológicas, cariotípicas, moleculares, do desenvolvimento e de relações parasito-hospedeiro, entre outras, contribuindo para o progresso da sistemática dos Serrasalmínea (Jégu, 2003). Sendo assim, visto a necessidade de estudos para melhor identificação filogenéticas destes grupos na família Serrasalmidae, o presente trabalho teve como objetivo realizar análises cariotípicas e definir a localização dos sítios de NORs, utilizando as metodologias de impregnação cromossômica com o Nitrato de Prata (Ag-NORs), em espécimes de piranha vermelha

Pygocentrus nattereri coletados no rio Salobo, bacia do Araguaia, no município de Rio Maria, Pará - Brasil.

Material e Métodos

No presente trabalho, foram analisados dez indivíduos de piranha vermelha coletados no Rio Salobo, bacia do Araguaia, no município de Rio Maria, Pará - Brasil. Os espécimes tombados (CP 605, CP 606, CP 607, CP, 608, CP 609, CP 610, CP 611, CP 612, CP 613, CP 614, CP 615) foram depositados na coleção científica do Laboratório de Citologia da Universidade do Estado de Mato Grosso, Tangará da Serra, MT, Brasil.

Todo os espécimes foram submetidos às técnicas de obtenção de cromossomos mitóticos metafásicos obtidos de células de rim anterior proposta por Bertollo et al. (1978) e a detecção das NORs (Região Organizadora de Nucléolo) foram obtidas pela impregnação com nitrato de prata segundo Howell e Black (1980). O registro fotográfico foi feito em microscópio ótico acoplado em sistema digital de captura de imagem e as fotos foram processadas com auxílio de software de análise de imagem. Os cromossomos foram classificados segundo Levan et al. (1964), cujo o critério é a razão entre os braços (RB: braço maior/braço menor). O número fundamental, ou número de braços cromossômicos, foi determinado considerando os cromossomos (m), (sm) e (st) apresentando dois braços e os cromossomos (a) apresentando um único braço.

Resultados

As análises das células metafásicas mitóticas dos dez indivíduos de piranha-vermelha (*Pygocentrus nattereri*) analisados, apresentaram um número diplóide de cromossomos de $2n=60$, sendo a fórmula cromossômica $14m + 22sm + 14st + 10a$ (Figura 2), com o número fundamental de $NF=110$.

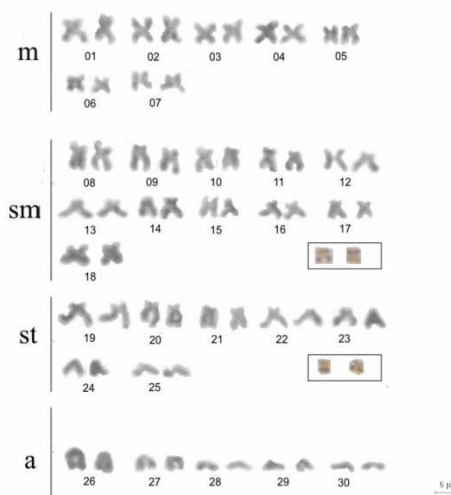


Figura 2. Cariótipo piranha-vermelha *Pygocentrus nattereri* e cromossomos destacados portadores das NORs.

A impregnação por nitrato de prata, para evidenciar as Regiões Organizadoras de Nucléolo (NORs), apresentaram quatro marcações um par de cromossomos submetacêntricos e um par de cromossomos subtelocêntricos (Figura 2).

Discussão e Conclusão

Estudos cariotípicos têm sugerido que o número diplóide ancestral das piranhas, gênero *Serrasalmus*, deve ser igual a 60 cromossomos e que outros números diplóides representariam estados derivados nesse grupo (Cestari & Galetti Jr., 1992b; Nakayama et al., 2002). Segundo Nakayama (2007) outras espécies da mesma subfamília apresentam um número diplóide variando de $2n=54$ a $2n=64$ cromossomos, tais como, *Colossoma macropomum* que possui $2n=54$ cromossomos, *Catoprion mento*, *Pristobrycon striolatus* apresentaram $2n=62$ e *Serrasalmus rhombeus* $2n=58$.

Os resultados cariotípicos obtidos em *Pygocentrus nattereri*, neste estudo, estão dentro da variação cariotípica esperada para a família, para o gênero e para espécies. Estudos citogenéticos em *Pygocentrus* ainda são escassos e incompletos quando comparados a outras espécies da subfamília Serrasalminae, mas

aparentemente obedecem a padrões semelhantes aos dos gêneros *Serrasalmus*. Atualmente existem quatro estudos para esse gênero no Brasil, um na bacia do São Francisco com *P. piraya* ($2n=60$, $48m + 12a$, $NF=108$) (Oliveira et al., 2007), na Amazônia Central com *P. nattereri* ($20m+28sm+2st+10a$, $NF=110$) (Nakayama, 2007), no Alto Araguaia com *P. nattereri* ($2n=60$, $2k=50m + 10a$) (Oliveira et al., 2007) e no médio Araguaia com *P. nattereri* ($2n=60$, $10m + 34sm + 10st+6a$, $NF=114$; $2n=60$, $6m+10sm+14st+30a$, $NF=100$; $2n=60$, $10m+10sm+20st+20a$, $NF=100$; $2n=60$, $14m + 22sm +14st+10a$, $NF=110$) (Sampaio, 2008). Ainda há um registro para *P. Cariba* ($2n=60$, $2k=18m+30sm+2st+10a$, $NF=110$) na Amazônia Venezuelana (Gaviria et al., 2005). As diferenças cariotípicas encontradas entre *P. nattereri* dentro e fora da bacia do Araguaia podem ser explicadas por rearranjos cromossômicos do tipo inversão pericêntrica, uma vez que alteram apenas a morfologia cromossômica, podendo ou não alterar o número fundamental, sem modificar o número cromossômico. A inversão pericêntrica é o principal mecanismo de evolução cariotípica em peixes neotropicais (Arefjev, 1990; Cestari e Galletti-Jr, 1992; Kavalco et al., 2005; Nakayama et al., 2008).

Os serrasalmineos são conhecidos como um grupo de peixes que apresentam sistemas simples e múltiplos de regiões organizadoras de nucléolos e de atividade variável (Falcão & Bertollo, 1985; Almeida-Toledo et al., 1996; Nakayama et al., 2001; 2002, Sampaio, 2008). Entretanto, casos com mais de um par de cromossomos com sítios organizadores de nucléolo, caracterizando um sistema de NORs múltiplas, também têm sido detectados com frequência. As piranhas e pacus, por exemplo, estão entre os grupos que apresentam NORs múltiplas (Galetti Jr. et al., 1985; Porto et al., 1992; Cestari & Galetti Jr., 1992a; b; Cestari, 1996; Garcia-Parra, 2000; Nakayama et al., 2001; 2002; Centofante et al., 2002a).

O padrão de NORs múltiplas encontrado no presente trabalho

corroborar com outros estudos para família e para espécie dentro da bacia do Araguaia (Oliveira et al., 2007; Nakayama, 2007; Sampaio, 2008). A variabilidade no padrão de NORs é mais evidente quando consideramos o número de pares cromossômicos marcados, onde há desde um único par cromossômico (Sampaio, 2008) até quatro pares de cromossomos (Nakayama, 2007).

Agradecimentos

Agradecemos ao Sampaio W.M.S e a Giongo, P. pelo esforço de coleta e processamento dos peixes. A universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAMEPAT) pelo apoio logístico.

Referências bibliográficas

- Almeida-Toledo, L. F.; Bigoni, A. P.; Bernardino, G.; Foresti, F. & Toledo-Filho, S.A. 1996. Karyotype and NOR conservatism with heterochromatin reorganization in Neotropical bryconids. *Caryologia* 49(1): 35-43.
- AREFJEV, V. A. 1990. Karyotypic diversity of characid families (Pisces, Characidae). *Caryologia*, vol.43, n. 3: 291-304
- Bertollo, L.A.C., Takahashi, C.S., & Moreira-Filho, O. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Rev. Bras. Gen.* 1: 103-120.
- Braga, R. A. 1975. Ecologia e etologia das piranhas do nordeste do Brasil (Pisces – *Serrasalmus Lacépède*, 1803). DNOCS, Fortaleza, 268 p.
- Camargo, M.; Queiroz, H. Um ensaio sobre a adaptação de *Pygocentrus nattereri* à variação sazonal das águas do Lago Mamirauá. Uakari, Tefé. v.1, n.1, p. 45-47, nov 2005.
- Centofante, L.; Porto, J. I. R. & Feldberg, E. 2002a. Chromosomal polymorphism in *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characidae, Serrasalminae) from Central Amazon basin. *Caryologia* 55(1): 37-45.
- Cestari, M.M & Galetti Jr., P.M. 1992a. Chromosome studies of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae, Serrasalminae) from the Parana-Paraguay rivers: evolutionary and cytotoxic considerations. *Copeia* 1: 108-112.

Cestari, M.M. & Galetti Jr., P. M. 1992b. Chromosome evolution in the genus *Serrasalmus* and cytotaxonomic considerations about Serrasalminae (Characidae, Pisces). Brazil. J. Genet. 15(3): 555-567.

Cestari, M.M. 1996. Estudos citogenéticos e genéticos-bioquímicos em peixes do gênero *Serrasalmus* (Characiformes). Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, SP, 232p.

Falcão, J. N. & Bertollo, L.A.C. 1985. Chromosome characterization in Acestrorhynchinae and Cynopotaminae (Pisces, Characidae). J. Fish Biol. 27: 603-610.

Freeman, B.; Nico, L.; Osentoski, M.; Jelks, H.L. & Collins, T. M. 2007. Molecular systematics of Serrasalmidae deciphering the identities of piranha species and unraveling their evolutionary histories. Zootaxa 1484: 1-38.

Galetti Jr., P.M.; Silva, E.B. & Cerminaro, R.T. 1985. Multiples NOR system in fish *Serrasalmus spilopleura* (Serrasalminae, Characidae). Brazil. J. Genet. 8(3): 479-484.

Garcia-Parra, W.J. 2000. Citogenética comparativa de peixes da subfamília Myleinae (Serrasalmidae, Characiformes) da Amazônia Central. Tese de Doutorado. INPA/FUA. Manaus, AM. 155p.

Gaviria, J.I.; Nirchio, M.; Granado, A. & Estrada, A. 2005. Karyotype and nucleolar organizer regions of *Pygocentrus cariba* (Serrasalminae) from Caicara Del Orinoco, Venezuela. InTerciencia 30(1): 44-47.

Géry, J. 1972. Poissons characoides des Guyanes. I. Généralités. II. Famille Serrasalmidae. Zool. Verhand. 122:1-250.

Gosline, W.A. 1951. Notes on the characid fishes of the subfamily Serrasalminae. Proc. Calif. Acad. Sci. 27(2): 17-64.

Howell, W. M. & Black, D. A . 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia, 36: 1014-1015.

Jégu, M. 2003. Subfamily Serrasalminae (pacus and piranhas). In: Reis, R. E.; Kullander, S. O. & Ferraris Jr., C. J. (eds) Check List of Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, Brazil, pp. 182-196.

Kavalco, K. F., Pazza, R. Bertollo, L. A. C. & Moreira-Filho, O. 2005. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). Heredity, 94: 180-186.

Levan, A., Fredga, K., e Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.

Machado-Allison, A. & Fink, W.L. 1995. Sinopsis de las Especies de la Subfamilia Serrasalminae Presentes en la Cuenca del Orinoco. Serie Peces de Venezuela. Facultad de Ciências, Instituto de Zoologia Tropical, Museu de Biología. 87p.

Machado-Allison, A. 1983. Estudios sobre la sistemática de la subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte II. Discussion sobre La condicion monofiletica de La subfamilia. Acta Biol. Venez. 11(4): 145-195.

Machado-Allison, A. 1985. Estudios sobre la subfamilia Serrasalminae. Parte III: sobre El estatus genérico y relaciones filogenéticas de los géneros *Pygopristis*, *Pygocentrus*, *Pristobrycon* y *Serrasalmus* (Teleostei Characidae, Serrasalminae). Acta Biol. Venez. 12(1): 19-42.

Nakayama, C.M.; Jégu, M.; Porto, J.I.R. & Feldberg, E. 2001. Karyological evidence for a cryptic species of piranha within *Serrasalmus rhombeus* group (Characidae, Serrasalminae) in the Amazon. Copeia 2001 (3): 866-869.

Nakayama, C.M.; Porto, J.I.R. & Feldberg, E. 2002. A comparative cytogenetic study of Five piranhas species (*Serrasalmus*, Serrasalminae) from the Amazon basin. Genetica 114: 231-236.

Nelson, E. M. 1961. The swimbladder in the Serrasalminae with notes on additional morphological features. Fieldiana (Zoology) 39(56): 603-624.

Nakayama, C.M. 2007. Citogenética molecular comparativa do DNAr 18S e 5S em piranhas (Serrasalminae, Characidae) da Amazônia central. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos – SP.

Nakayama, C. M., Feldberg, E. & Bertollo, L. A. C. 2008. Mapping of ribosomal genes and chromosomal markers in three piranha species of the genus *Serrasalmus* (Characidae, Serrasalminae) from the Amazon basin. Genetics and Molecular Biology, 868-873.

Oliveira, C. et al., 2007. Base de dados de citogenética de peixes neotropicais. Publicação on line. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/laboratorios/Freshwater%20Neotropical%20fishes.pdf>

Ortí, G.; Petry, P. Porto, J.I.R; Jégu, M. & Meyer, A. 1996. Patterns of nucleotide change in mitochondrial ribosomal RNA genes and the phylogeny of piranhas. J. Mol. Evol. 42: 169-182.

Porto, J. I. R.; Feldberg, E.; Nakayama, C. M. & Falcão, J. N. 1992. A checklist of chromosome number and karyotypes of Amazonian freshwater fish. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 25(4): 287-299.

Queiroz, H.; Magurran, A. E. Safety in number? Shoaling behavior of the Amazonian red-bellied piranha. *Biol. Lett.* 2004. Publicação on line. Disponível em:
http://www.mamiraua.org.br/arq/queiroz&magurran_2005.pdf

Sampaio, W. M. S. 2008. Microbacia do Araguaia - Bananal: ponto estratégico para o entendimento genético e evolutivo da ictiofauna neotropical. Monografia. Universidade do Estado de Mato Grosso, Tangará da Serra.