

Caracterización citogenética de *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes) del río Riachuelo (Corrientes, Argentina)

Caramello, C.S.; Sánchez, S.; Jorge, L.C.

Instituto de Ictiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/fax 03783-425753. E-mail: cynsolcar@hotmail.com.

Resumen

Caramello, C.S.; Sánchez, S.; Jorge, L.C.: Caracterización citogenética de *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes) del río Riachuelo (Corrientes, Argentina). *Rev. vet.* 24: 1, 29-31, 2013. La especie *Hoplosternum littorale* es conocida vulgarmente con el nombre de “cascaarudo”. Se caracteriza por tener una amplia distribución en América del Sur. Tres ejemplares de la población del río Riachuelo (dos hembras y un macho) fueron citogenéticamente analizados y se caracterizaron por presentar un número diploide de 60 cromosomas. La fórmula cariotípica estuvo constituida por 8 cromosomas meta-submetacéntricos y 52 acrocéntricos, con un número fundamental de 68 en ambos sexos. No se observaron diferencias cromosómicas entre sexos. La impregnación con nitrato de plata identificó la ocurrencia de NOR simples, localizadas en el brazo corto del par número 5. El bandeo C reveló una gran cantidad de bloques de heterocromatina presentes en la mayoría de los cromosomas, preferentemente situados en regiones terminales e intersticiales adyacentes al centrómero. Los datos obtenidos corroboran que *H. littorale* posee una evolución cariotípica conservada, siendo necesario complementar los estudios citogenéticos con marcadores moleculares para una mejor comprensión de las relaciones evolutivas y el mantenimiento de la macroestructura cariotípica de la especie.

Palabras clave: *Hoplosternum littorale*, cariotipo, bandeo-C, NOR, Argentina.

Abstract

Caramello, C.S.; Sánchez, S.; Jorge, L.C.: Cytogenetic analysis of *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes) from Riachuelo river (Corrientes, Argentina). *Rev. vet.* 24: 1, 29-31, 2013. *Hoplosternum littorale*, commonly known as “armored catfishes”, are widely distributed in South America. Three specimens captured in Riachuelo river (two females and a male) were cytogenetically analyzed. Fishes were characterized to have 60 chromosomes. Karyotype formula was made up with 8 meta-submetacentrics and 52 acrocentric chromosomes, the fundamental number was 68 in both sexes, and there were no chromosomal differences between them. Just one pair of subtelomeric chromosomes showed NOR with silver nitrate impregnation, situated on the short arm of pair five. C-banding revealed a great amount of chromatin blocks in most of the chromosomes; they were located in subterminal and interstitial regions. These data reveal that *H. littorale* has a conserved karyotypic evolution. The cytogenetic studies should be complemented by molecular markers for further understanding of the evolutionary relationships and the maintenance of the karyotypic macrostructure of the species.

Key words: *Hoplosternum littorale*, karyotype, C-banding, NOR, Argentina.

INTRODUCCIÓN

La familia Callichthyidae es considerada monofilética según estudios basados en caracteres morfológicos y moleculares, comprendiendo dos grupos naturales *Corydoradinae* (*Aspidoras*, *Scleromystax* y *Corydoras*) y *Callichthyinae* (*Callichthys*, *Dianema*, *Hoplosternum*,

Lepthoplosternum y *Megalechis*)^{1, 16, 20}. La especie *Hoplosternum littorale* es conocida vulgarmente con el nombre de “cascaarudo”. Se caracteriza por tener una amplia distribución en América del Sur, localizándose en las cuencas de los ríos Paraguay, Paraná, Uruguay, Delta del río Paraná y Esteros del Iberá².

Los ejemplares de *H. littorale* son de mediano tamaño y se caracterizan morfológicamente por presentar dos hileras de placas óseas en el flanco. Los huesos

coracoides se observan mucho más expuestos en la región ventral. La aleta dorsal presenta una espina fuerte y ocho radios. La aleta caudal es profundamente cóncava, presenta una coloración pardo oliva homogénea. Se alimenta de cladóceros, copépodos, dípteros quironómidos y nemátodos, así como de detritus orgánicos¹⁷.

Desde el punto de vista citogenético la familia Callichthyidae se distingue por presentar una gran variabilidad, tanto numérica como morfológica; el número diploide varía de 2n=40 en *Corydoras nattereri* a 2n=132 en *Corydoras aeneus*¹². Además se observa la ocurrencia de polimorfismos cromosómicos numéricos y estructurales⁷.

Debido a los escasos datos citogenéticos existentes para *H. littorale*, el objetivo del presente trabajo fue realizar la caracterización de la estructura cariotípica de la especie, a partir del análisis de ejemplares del río Riachuelo, afluente del río Paraná en la localidad de Corrientes, Argentina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron tres ejemplares de *H. littorale* (dos hembras y un macho). Tras su captura, los peces fueron transportados en bolsas de polietileno que contenían agua y oxígeno. Durante el traslado se tomaron todos los recaudos para que los animales lleguen en óptimas condiciones al laboratorio. Antes del sacrificio los peces fueron anestesiados con metasulfonato de tricaina MS222 (Finquel®).

Para el estudio de los cromosomas se utilizó la porción anterior del riñón¹⁰. Los cromosomas mitóticos se obtuvieron a través de la disociación del órgano en cubetas que contenían 10 ml de solución de Hank, posteriormente se continuó con los procedimientos de rutina⁵. Las regiones organizadoras de nucleolos (NOR) se identificaron por tinción con nitrato de plata (Ag-NOR)⁶. La heterocromatina constitutiva se localizó por el método convencional de bandeó C²².

Las metafases fueron fotografiadas con una cámara digital *Infinity 1* acoplada a un microscopio óptico *Olympus BX41*, y posteriormente se analizaron con el programa analizador de imágenes *Image ProPlus 5.1*. En el cariotipo se distribuyeron los pares homólogos en orden decreciente de tamaño. Los cromosomas se clasificaron como metacéntricos/submetacéntricos (M-SM), y subteloacéntricos/acro-

céntricos (ST-A) de acuerdo a su morfología y relación de brazos⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación citogenética realizada a *H. littorale* permitió determinar un número diploide de 60 cromosomas. La fórmula cariotípica estuvo constituida por 8 M/SM + 52 A, con un número fundamental (FN) de 68 en ambos sexos (Figura 1A). No se observaron diferencias cromosómicas entre sexos. Este número diploide es coincidente con el obtenido en otras poblaciones originarias de distintas cuencas hidrográficas de Brasil y Venezuela. Sin embargo, algunos informes muestran leves variaciones en torno a la fórmula cariotípica, probablemente debido a diferencias en la condensación de los cromosomas^{3, 8, 11, 13-15, 18, 19, 21}.

La impregnación con nitrato de plata identificó la NOR simple, localizada en el brazo corto del par número 5, siendo coincidente con la constricción secundaria. (Figura 1A recuadro). Nuestros resultados concuerdan con lo expuesto por otros autores que describen una NOR simple en posición terminal en cromosomas ST/A^{3, 8, 11, 13, 18, 19, 21}. Por otro lado, se evidenció un hete-

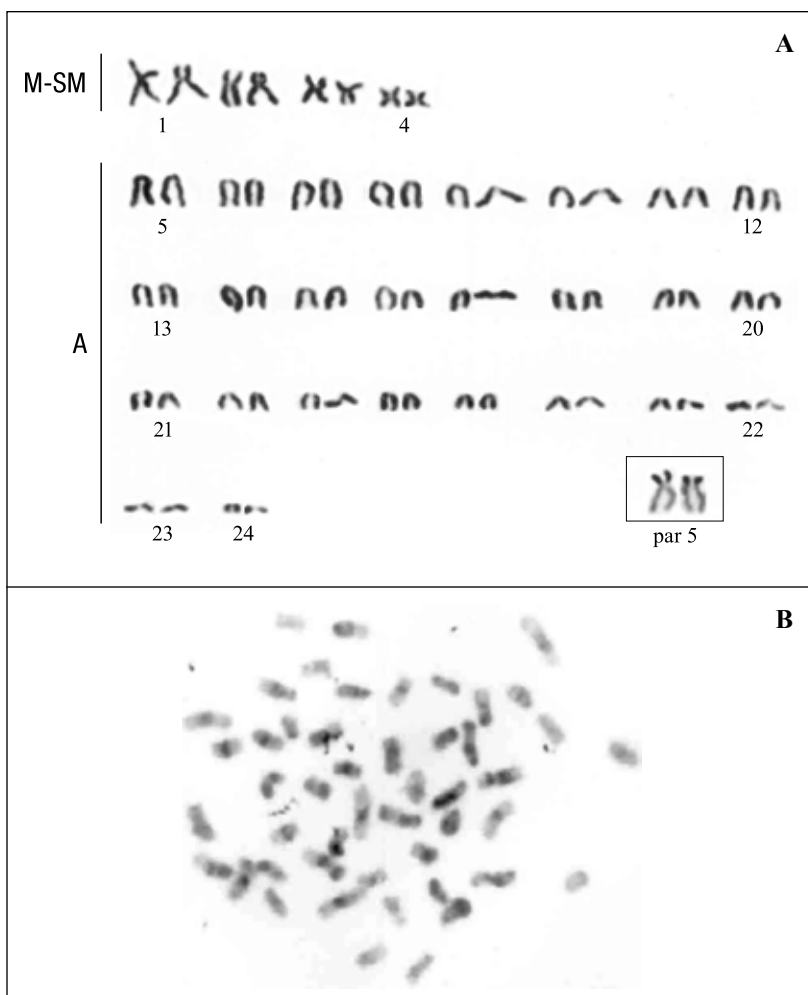


Figura 1. (A): cariotipo de *H. littorale* con coloración convencional de Giemsa; en el recuadro se destacan los cromosomas portadores de NOR (par 5). (B): bandeó C.

romorfismo en el tamaño de las regiones NOR+ con la presencia de una marcación mayor en uno de los cromosomas y otra pequeña en su homólogo. Este fenómeno posiblemente se relacione con un número diferente de copias de genes ribosómicos en los homólogos resultantes de entrecruzamiento desigual o algún otro tipo de reordenamiento cromosómico⁴.

El bandedo C reveló una gran cantidad de bloques de heterocromatina presentes en la mayoría de los cromosomas, preferentemente situados en regiones terminales e intersticiales adyacentes al centrómero (Figura 1B). Similares resultados se encontraron en las poblaciones de *H. littorale* analizadas hasta el momento^{3, 8, 11, 13, 19, 21}.

En conclusión, los datos obtenidos refuerzan la idea de que *H. littorale* posee una evolución cariotípica conservada respecto al número diploide, estructura cariotípica, número y posición de NOR y patrón de distribución de los segmentos heterocromáticos, siendo necesario complementar los estudios citogenéticos con análisis moleculares para una mejor comprensión de las relaciones evolutivas y el mantenimiento de la macroestructura cariotípica de la especie.

REFERENCIAS

1. Britto MR. 2003. Phylogeny of the subfamily Corydoradinae Hoedeman, 1952 (Siluriformes: Callichthyidae), with a definition of its genera. *Proceed Acad Nat Sci Philadelphia* 153: 119-154.
2. Casciotta J, Almirón A, Bechara J. 2003. *Los peces de la laguna Iberá*, Ed. Colección Universitaria, Buenos Aires, 131 p.
3. Coelho PN, Farías LN, Nagamachi CY, Barros RM, Pieczarka JC. 2000. Análise citogenética na espécie *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae) proveniente do rio Peixe-Boi-PA. *VIII Simp Citogenet de Peixes*, Manaus, Brasil, p.79.
4. Foresti F, Almeida LF, Toledo AS. 1981. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. *Cytogen & Cell Gen* 31: 137-144.
5. Foresti F, Oliveira C, Almeida LF. 1993. A method for chromosome preparations from large specimens of fishes using *in vitro* short treatment with colchicine. *Experientia* 49: 810-813.
6. Howell WM, Black DA. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia* 6: 1014-1015.
7. Kavalco KF, Margarido VP. 2001. Polimorfismo cromossômico em *Callichthys callichthys* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae) da bacia do rio Paraná. *47º Congresso Nacional de Genética*, Águas de Lindóia, SP, Brasil, 279.
8. Konerat JT. 2008. Relações filogenéticas em *Callichthyinae* (Siluriformes Callichthyidae). Uma contribuição citogenética aos estudos evolutivos. *Tesis de Mestrado*, Universidad Estadual de Maringá, PR, Brasil, 29 p.
9. Levan A, Fredga K, Sandberg AA. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
10. Moreira-Filho O, Bertollo LA. 1991. Extraction and use of the cephalic kidney for chromosome studies in small fish. *Brazil J Genet* 14: 1085-1090.
11. Nirchio M, Pérez J, Granado A, Ron E. 2006. Conventional karyotype, constitutive heterochromatin, and nucleolar organizer regions in *Hoplosternum littorale* (Pisces: Callichthyidae) from Caicara del Orinoco, Venezuela. *Agrobiología* 18: 113-116.
12. Oliveira C, Almeida LF, Foresti F, Britski HA, Toledo AS. 1988 Chromosome formulae of neotropical freshwater fishes. *Genet Mol Biol* 11: 577-624.
13. Pazza R, Kavalco KF, Almeida LF, Bertollo LC. 2005. *Hoplosternum littorale* (Teleostei, Callichthyidae) from a Coastal River basin in Brazil. Cytogenetic analysis and gene mapping of 5S and 18S rDNA. *Caryologia* 58: 339-344.
14. Portela AL, Natali MR, Júlio HF. 1990. Estudos meióticos na espécie *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae, Siluriformes). *III Simpósio de Citogenética Evolutiva de Peixes Neotropicais*, Botucatu, SP, Brasil, p. 28.
15. Porto JI, Feldberg E. 1992. Comparative cytogenetic study of the armored catfishes of the genus *Hoplosternum* (Siluriformes, Callichthyidae). *Braz J Genet* 15: 359-367.
16. Reis RE. 1998. Anatomy and phylogenetic analysis of the neotropical callichthyid catfishes (Ostariophysi, Siluriformes). *Zool J Linnean Soc* 124: 105-168.
17. Ringuet RA, Arámburu RH, Arámburu AA. 1967. *Los peces argentinos de agua dulce*, Public. Comisión de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, 602 p.
18. Rosa R, Kavalco KF, Margarido VP. 2002. Estudos citogenéticos comparativos em duas populações de *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae) coletadas no rio Paraná (Guaíra/PR) e no rio Corumbá (Corumbá/MS). *IX Simpósio de Citogenética de Peixes*, Maringá, PA, Brasil, p. 36.
19. Santi AP, Martins IC. 2002. Análise citogenética em *Hoplosternum littorale* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae) de ocorrência no ribeirão Maringá, Paraná. *IX Simpósio de Citogenética de Peixes*, Maringá, PA, Brasil, p. 83.
20. Shimabukuro CK, Oliveira C, Reis RE, Foresti F. 2004. Molecular phylogeny of the armored catfish family Callichthyidae (Ostariophysi, Siluriformes). *Molec Phylogen & Evol* 32: 152-163.
21. Shimabukuro CK, Oliveira C, Foresti F. 2005. Comparative cytogenetic studies in species of the subfamily Callichthyinae (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae). *Caryologia* 58: 102-111.
22. Sumner AT. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75: 304-306.