

## NÚMERO DIPLOIDE E SISTEMA CROMOSSÔMICO SEXUAL PERMITEM DISTINGUIR DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE ARANHAS DO GÊNERO *Verrucosa* MCCOOK, 1888 (ARANEIDAE)

Caroline C. Costa<sup>1</sup>, Arthur S Montanholi<sup>2</sup> Douglas Araujo<sup>3</sup>

1. Estudante de Ciências Biológicas-Licenciatura da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
2. Estudante de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
3. Professor da UFMS – Setor de Biologia, INBIO

### Resumo

Araneidae é a terceira maior família de aranhas e a terceira mais estudada citogeneticamente, com a maioria das espécies possuindo  $2n\♂=24$  cromossomos. O objetivo deste trabalho foi analisar cromossomicamente, pela primeira vez, espécies de *Verrucosa* (*Verrucosa meridionalis*, coleta no estado de Mato Grosso do Sul e *Verrucosa scapofracta*, coletada no estado de São Paulo). As gônadas foram tratadas com colchicina (0,16%, 2h) e hipotônica (água de torneira, 15 min) antes da fixação com Carnoy I (metanol:ácido acético 3:1, mínimo 1 h) e coloração com Giemsa (3%, 15 min). *Verrucosa meridionalis* e *Verrucosa scapofracta* apresentaram respectivamente  $2n\♂=47$ ,  $X_1X_2X_3$  e  $2n\♂=50$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ , distinguindo-se portanto, tanto pelo número diploide quanto pelo sistema cromossômico sexual (SCS). O  $2n\♂=50$  é o maior número cromossômico entre todas as Araneomorphae. Este é o sétimo registro do SCS do tipo  $X_1X_2X_3X_4$  entre todas 843 espécies de aranhas cariotipadas.

**Autorização legal:** Licença permanente para coleta de material zoológico do ICMBio 15382-1.

**Palavras-chave:** Meiose; mitose; Araneae.

### Introdução

As aranhas estão entre os grupos de animais mais diversos, com 48.080 espécies descritas até o momento (World Spider Catalog, 2019). Apesar disso, apenas 843 espécies (1,7%) da ordem tem algum dado cromossômico disponível na literatura (Araujo et al., 2019).

Araneidae é a terceira maior família de aranhas, com 3.127 espécies distribuídas em 175 gêneros (World spider catalog, 2019). Entretanto, apenas 73 espécies de 22 gêneros foram analisadas citogeneticamente. O gênero *Verrucosa* McCook 1888 possui 46 espécies com distribuição principalmente no continente Americano (World spider catalog, 2019). Segundo Scharff & Coddington (1997), *Verrucosa* faz parte da subfamília Araneinae, a mais especiosa dentro de Araneidae. Dentro de Araneinae, *Verrucosa* está incluída no clado das “Araneines superiores”, cujas relações internas são altamente instáveis. *Verrucosa*, por exemplo, integra um clado composto também por *Cyclosa* Menge, 1866, *Araniella* Chamberlin & Ivie, 1942 e *Eriophora* Simon, 1864, que é suportado por apenas uma sinapomorfia, o condutor do palpo do macho com lobo, característica que, segundo Scharff & Coddington (1997) originou-se em paralelo em outros dois clados de Araneidae.

Os dados citogenéticos têm sido utilizados para discussões acerca da evolução cromossômica, seja dos autossomos ou principalmente dos cromossomos sexuais, possibilitando uma análise das relações evolutivas entre os taxa a luz de outros estudos realizados anteriormente, baseados em morfologia externa e biologia molecular (Araujo et al., 2012). Além disso, os caracteres cromossômicos podem ser usados em uma abordagem citotaxonomica em alguns casos, corroborando ou não agrupamentos de taxa baseados em características morfológicas propostos na literatura (Araujo et al., 2008).

O presente estudo tem como objetivo analisar citogeneticamente pela primeira vez aranhas do gênero *Verrucosa*, discutindo a aplicabilidade destes dados para distinguir as espécies *Verrucosa meridionalis* (Keyserling, 1892) e *Verrucosa scapofracta* Lise, Kesster & Silva, 2015, bem como comparar os dados cromossômicos obtidos com aqueles já descritos na literatura para espécies relacionadas, com a finalidade de contribuir com a discussão sobre a citotaxonomia e evolução cromossômica do grupo.

### Metodologia

Sete exemplares (um macho e seis fêmeas) coletados no estado de Mato Grosso do Sul (Aquidauana - 20°27'03.93"S/55°37'17.02"W; Campo Grande - 20°30'39.5"S/54°36'52.9"W) apresentaram células em divisão. Destes, um macho e uma fêmea foram identificados como *V. meridionalis* e os demais como *Verrucosa* sp. por serem jovens. Entretanto, segundo o taxonomista do Instituto Butantan/SP, possivelmente também se tratam de *V. meridionalis*. Apenas um macho de *V. scapofracta*, coletado no estado de São Paulo (Iguape - 24°42'13.03"S/47°32'49.98"W) mostrou células em divisão. As coletas foram realizadas por busca ativa noturna com auxílio de lanternas de cabeça, entre os anos de 2015 e 2018. Os animais foram acondicionados em potes

plásticos com pequenos orifícios na superfície para manter o animal vivo durante o transporte até o laboratório.

As gônadas foram extraídas anteriormente a preservação do animal em álcool 70%, para que fossem realizadas as preparações cromossômicas. A identificação dos exemplares foi realizada pelo Dr. Antonio Domingos Brescovit, do Instituto Butantan São Paulo, SP, sendo os exemplares tombados em coleção deste Instituto.

As preparações citológicas foram obtidas conforme Araujo et. al (2008), e a coloração utilizada foi a solução de Giemsa 3%. As células mitóticas e meióticas com melhor grau de condensação/individualização dos cromossomos foram fotografadas em um fotomicroscópio Axiomager D2 Zeiss, com objetiva 100x de imersão, acoplado a uma câmera AxioCam 503.

### Resultados e Discussão

*Verrucosa meridionalis* apresentou metáfases mitóticas com  $2n♂=47$  e  $2n♀=50$ , com todos os cromossomos telocêntricos (Figura 1A-B). Espermatócitos I em diplóteno mostraram 22 bivalentes autossômicos com apenas um quiasma terminal ou intersticial cada e três univalentes sexuais ( $X_1X_2X_3$ ) heteropicnóticos positivos (Figura 1C). Espermatócitos II em metáfase exibiram  $n=22$  e  $n=25$ , sendo possível reconhecer os cromossomos sexuais  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  nas células com  $n=25$  devido à sua heteropicnose positiva (Figura 1D). Dessa forma, *V. meridionalis* apresenta um cariótipo composto por  $2n♂=47$ ,  $X_1X_2X_3$  e  $2n♀=50$ ,  $X_1X_1X_2X_2X_3X_3$ .

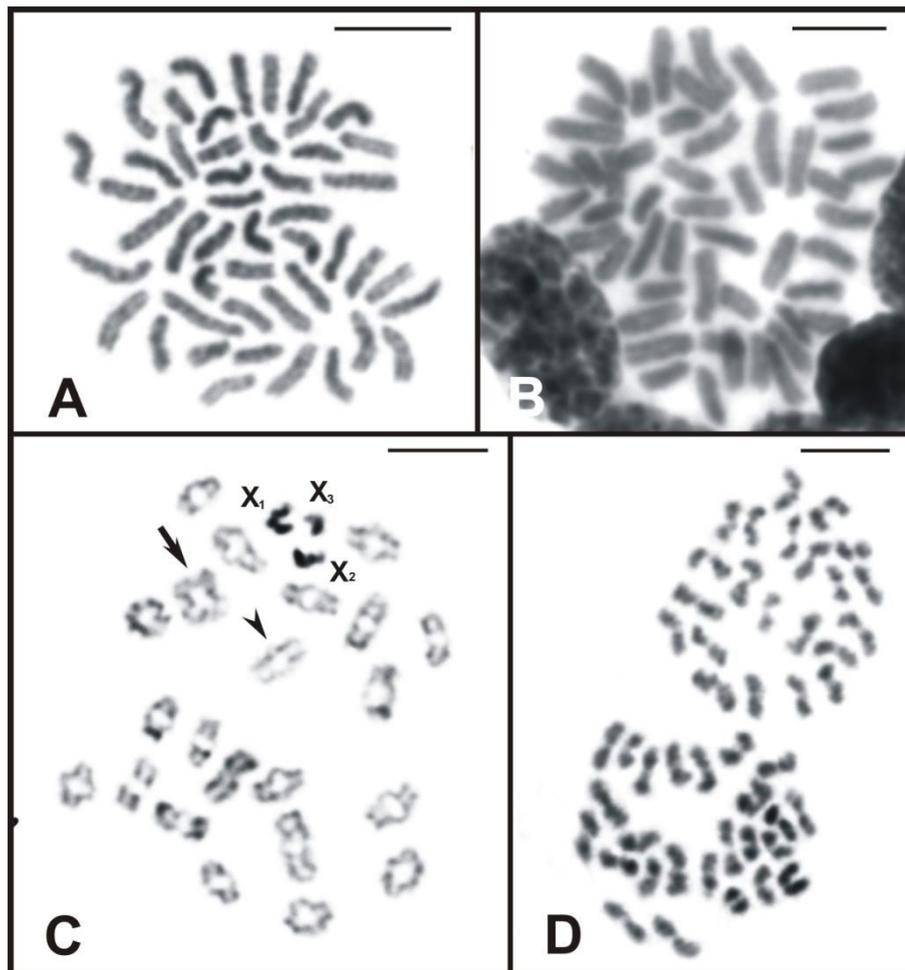


Figura 1 – Cromossomos de *Verrucosa meridionalis*. A. Espermatogônia com  $2n♂=47$ ,  $X_1X_2X_3$ . B. Ovogônia com  $2n♀=50$ ,  $X_1X_1X_2X_2X_3X_3$ . C. Diplóteno com 22 bivalentes autossômicos e três univalentes sexuais ( $X_1X_2X_3$ ). D. Metáfases II com  $n=22$  (superior) e  $n=25$ ,  $X_1X_2X_3$  (inferior). Seta = bivalente com quiasma intersticial. Cabeça de seta = bivalente com quiasma terminal. Escala = 5  $\mu$ m.

*Verrucosa scapofracta* mostrou  $2n♂=50$ , com todos cromossomos telocêntricos (Figura 2A) e diplótenos com 23 bivalentes autossômicos, com apenas um quiasma terminal ou intersticial cada e quatro univalentes sexuais ( $X_1X_2X_3X_4$ ) heteropicnóticos positivos (Figura 2B). Apenas uma metáfase II com  $n=27$  foi encontrada (Figura 2C), reforçando a existência de um sistema cromossômico sexual do tipo  $X_1X_2X_3X_4$ . Assim, *V. scapofracta* apresenta um cariótipo composto por  $2n♂=50$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ .

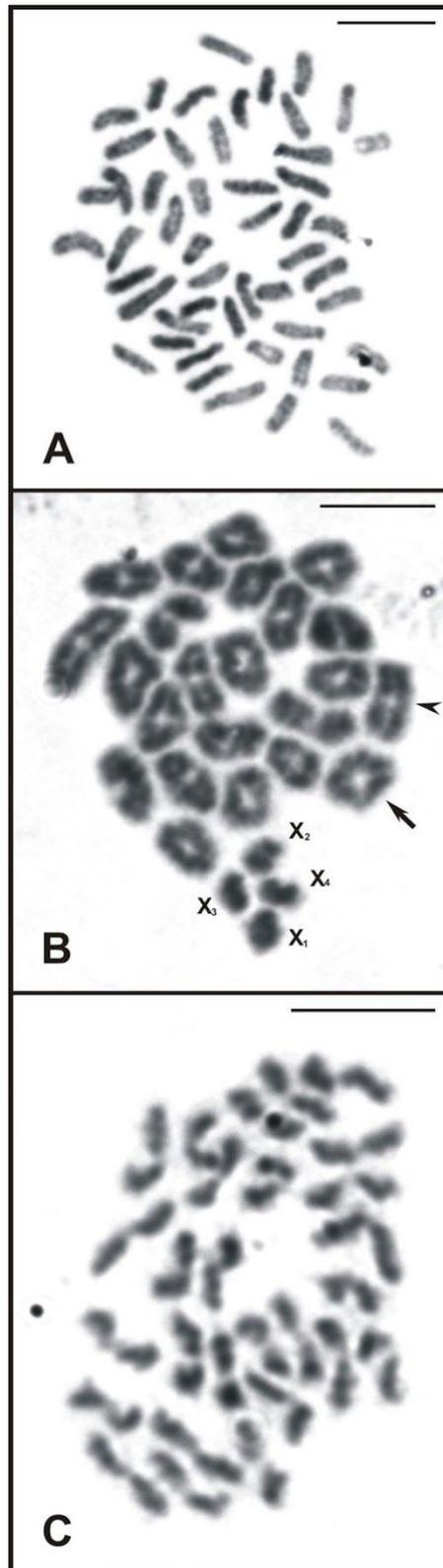


Figura 2. Cromossomos de *Verucosa scapofracta*. A. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}}=50$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ . B. Diplóteno com 23 bivalentes autossômicos e quatro univalentes sexuais ( $X_1X_2X_3X_4$ ). C. Metáfase II com  $n=27$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ . Seta = bivalente com quiasma intersticial. Cabeça de seta = bivalente com quiasma terminal. Escala = 5  $\mu\text{m}$ .

*Verucosa scapofracta* ( $2n_{\text{♂}}=50$ ), apresentou o maior número diploide já confirmado para toda a infraordem Araneomorphae (Araujo et al. 2019). O maior número cromossômico encontrado até então tinha sido descrito também para uma Araneidae, *Araneus ventricosus* (L. Koch, 1878), com  $2n_{\text{♂}}=49$  (Youju et al. 1993).

O Sistema Cromossômico Sexual do tipo  $X_1X_2X_3X_4$ , encontrado em *V. scapofracta*, foi descrito anteriormente em apenas seis das 843 espécies de aranhas que tiveram seus cariótipos estudados (Araujo et al. 2019): quatro espécies de Mygalomorphae e duas Araneomorphae da família Sparassidae (*Bhutaniella sikkimensis* (Gravely, 1931) e *Micrommata* sp. (Datta & Chatterjee 1983; Parida & Sharma 1986, 1987; Sharma & Parida 1987; Král et al. 2011, 2013; Kořínková & Král 2013).

As duas espécies, *Verrucosa meridionalis* ( $2n\sigma=47$ ,  $X_1X_2X_3$ ) e *Verrucosa scapofracta* ( $2n\sigma=50$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ ) puderam ser cromossomicamente distinguidas tanto com base no número diploide de cromossomos, sendo que *V. scapofracta* possui um par autossômico a mais do que *V. meridionalis*, quanto com base no Sistema Cromossômico Sexual, com um cromossomo X a mais em *V. scapofracta* se comparado com *V. meridionalis*. Essa diferença cromossômica notória entre as duas espécies vai de encontro com as diferenças morfológicas apontadas na revisão taxonômica de Lise et al. (2015), sugerindo que *V. meridionalis* e *V. scapofracta* não são espécies intimamente relacionadas, apesar de ainda não existir uma filogenia para o gênero que possa confirmar estes indícios.

### Conclusões

É possível distinguir cromossomicamente *Verrucosa meridionalis* de *Verrucosa scapofracta*.

O número diploide encontrado em *V. scapofracta* ( $2n\sigma=50$ ) é o maior entre todas as Aranemorphae.

O sistema cromossômico sexual encontrado em *V. scapofracta* ( $X_1X_2X_3X_4$ ) está sendo registrado apenas pela sétima vez entre todas as 843 aranhas que tiveram seus cromossomos estudados.

### Referências bibliográficas

- Araujo, D.; Rheims, C.A.; Brescovit, A.D.; Cella, D.M. Extreme degree of chromosome number variability in species of the spider genus *Scytodes* (Araneae, Haplogynae, Scytodidae). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, 46(2):89-95, 2008
- Araujo, D.; Schneider, M.C.; Paula-Neto, E.; Cella, D.M. **Sex chromosomes and meiosis in spiders: a review**. Pp. 87-108. In: SWAN, A. ed. Meiosis- molecular mechanisms and cytogenetic diversity. Intech, Rijeka, Croatia, 2012.
- Araujo, D.; Schneider, M.C.; Paula-Neto, E.; Cella, D.M. **The spider cytogenetic database**, Disponível em [www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase](http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase). 2019.
- Datta, S.N.; Chatterjee, K. Chromosome number and sex-determining system in fifty-two species of spiders from North-East India. **Chromosome Information Service**, 35:6-8, 1983.
- Kořínková, T.; Král, J. **Karyotypes, sex chromosomes, and meiotic division in spiders**. In: Spider Ecophysiology, W. Netwig (Ed.), Springer-Verlag Berlin, p. 159-171, 2013.
- Král, J.; Kořínková, T.; Forman, M.; Krkavcová, L. Insights into the meiotic behavior and evolution of multiple sex chromosome systems in spiders. **Cytogenetic and Genome Research**, 133: 43-66, 2011.
- Král, J.; Kořínková, T.; Krkavcová, L.; Musilová, J.; Forman, M.; Herrera, I.M.A.; Haddad, C.R.; Vítková, M.; Henriques, S.; Vargas, J.G.P.; Hedin, M. Evolution of karyotype, sex chromosomes, and meiosis in mygalomorph spiders (Araneae: Mygalomorphae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 109(2): 377-408, 2013.
- Lise, A.A.; Kesster, C.C.; Silva, E.L.C. Revision of the orb-weaving spider genus *Verrucosa* McCook, 1888 (Araneae, Araneidae). **Zootaxa**, 3921(1): 1-105, 2015.
- Parida, B.B.; Sharma, N.N. Karyotype and spermatogenesis in an Indian hunting spider, *Sparassus* sp. (Sparassidae: Arachnida) with multiple sex chromosomes. **Chromosome Information Service**, 40: 28-30, 1986.
- Parida, B.B.; Sharma, N.N. Chromosome number, sex mechanism and genome size in 27 species of Indian spiders. **Chromosome Information Service**, 43:11-13, 1987.
- Scharff, N.; Coddington, J.A. A Phylogenetic analysis of the orb-weaving spider family Araneidae (Arachnida, Araneae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 120:355-434, 1997.
- Sharma, N.; Parida, B.B. Study of chromosomes in spiders from Orissa. **Pranikee**, 8: 71-76, 1987.
- World Spider Catalog 2019. **World Spider Catalog. Versão 20.0**. Natural History Museum Bern. Disponível em <http://wsc.nmbe.ch>.