

## 2.02.04 Genética / Genética Animal

ANÁLISE CITOGENÉTICA EM *Miagrammopes rubripes* MELLO-LEITÃO, 1949 (ARANEAE, ULOBORIDAE)Samella Gabriely Medeiros Souza<sup>1</sup>, Lucas Henrique Bonfim Souza<sup>2</sup>, Douglas Araujo<sup>3</sup>

1. Estudante do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (INBio-UFMS)

2. Mestrando do Programa de Pós Graduação de Biologia Animal (PPGBA-UFMS)

3. Professor do INBio-UFMS - Orientador

## Resumo

Uloboridae (Araneae) possui 286 espécies em 19 gêneros, incluindo *Miagrammopes*. O objetivo desse estudo é analisar exemplares de *Miagrammopes rubripes* coletados em Mato Grosso do Sul e aumentar o conhecimento dessa família que possui apenas nove espécies analisadas cromossomicamente. As gônadas foram retiradas e tratadas com colchicina (0,16%, 2 h) e hipotonizadas (água de torneira, 15 min) antes da fixação com Carnoy I (metanol: ácido acético: 3:1, mínimo 1h) e coloração com Giemsa (3%, 15 min). Cinco fêmeas e quatro machos dentre os 29 exemplares apresentaram células em divisão. Observou-se  $2n_{\text{♀}}=26$  em metáfases oogoniais, 10 bivalentes e 3 univalentes sexuais ( $X_1X_2X_3$ ) em diploteno e  $n=10$  e  $n=13$ ,  $X_1X_2X_3$  em metáfase II. Este é o mesmo cariótipo encontrado previamente em alguns exemplares de *Miagrammopes* sp do estado de São Paulo. Os gêneros de Uloboridae apresentam faixas de números diploides distintas: *Uloborus* (menores), *Octonoba* (intermediários) e *Miagrammopes* (maiores).

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

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

## Introdução

Há 48.088 espécies de aranhas descritas até o momento, sendo este um dos grupos de animais mais diversos que existem. Uloboridae é uma família que possui 286 espécies distribuídas em 19 gêneros, dentre os quais, *Miagrammopes* O. Pickard-Cambridge, 1870. O gênero é representado por 69 espécies no mundo e no Brasil ocorrem cinco espécies (WORLD SPIDER CATALOG, 2019).

Apenas 843 (1,8%) espécies de aranhas tiveram seus cromossomos estudados (ARAUJO et al., 2019). A citogenética fornece informações como número diploide, morfologia cromossômica, tipo de sistema cromossômico sexual, comportamento dos cromossomos na meiose, padrão de distribuição de regiões de cromatina específicas, entre outras, que podem ser usadas na comparação de espécies, auxiliando na identificação ou na discussão acerca das relações evolutivas (ARAUJO et al., 2015). Entretanto, ausência de mais artigos sobre citogenética de aranhas dificulta a discussão sobre a evolução cromossômica na maioria dos grupos dessa ordem.

Somente nove espécies de Uloboridae, pertencentes a três gêneros foram analisadas citogeneticamente. As configurações cariotípicas encontradas foram:  $2n_{\text{♂}}=10$ ,  $X_1X_2$ ,  $2n_{\text{♂}}=17$ ,  $X$ ,  $2n_{\text{♂}}=18$ ,  $X_1X_2$ ,  $2n_{\text{♂}}=19$ ,  $X_1X_2X_3$ ,  $2n_{\text{♂}}=22$ ,  $X_1X_2$ ,  $2n_{\text{♂}}=23$ ,  $X_1X_2X_3$  e  $2n_{\text{♂}}=25$ ,  $X_1X_2X_3$  (GIROTI et al., 2008; ARAUJO et al., 2019). A morfologia dos cromossomos foi acro/telocêntrica em todas espécies que tiveram essa característica descrita. Além disso, em alguns casos há variação intraespecífica no número de autossomos ou cromossomos sexuais (ARAUJO et al., 2019).

Devido a ampla gama de números diplóides e sistemas cromossômicos sexuais encontrados em apenas nove espécies de Uloboridae, além do fato de que apenas o estudo de Giroti et al. (2008) contempla a região Neotropical, torna-se interessante a análise citogenética de *M. rubripes*, para aumentar o conhecimento a respeito da família e do gênero, melhorando o entendimento da evolução cromossômica deste grupo. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo analisar cariológicamente a espécie *M. rubripes*. Descreveu-se e caracterizou o cariótipo quanto ao número diplóide, morfologia cromossômica, tipo de sistema cromossômico sexual e comportamento dos cromossomos na meiose.

## Metodologia

## 1. Coleta de exemplares

Foram coletados e analisados 29 indivíduos de *M. rubripes* (**Figura 1**), sendo 15 fêmeas e 14 machos, nas localidades do morro do Paxixi, Aquidauana (20°27'25.9"S 55°37'00.9"W), Reserva Particular do Patrimônio Natural da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande (RPPN/UFMS), Campo Grande (20°30'29.7"S 54°36'57.7"W), Fazenda Palmeiras II, Coxim (18°21'42.6"S 54°36'53.2"W), e na Estância Sossego, Campo Grande (20°29'07.4"S/54°29'58.5"W).

O método de coleta foi a busca ativa noturna, com auxílio de lanternas de cabeça. Os exemplares foram acondicionados em potes plásticos com pequenos orifícios na superfície, utilizados para manter o animal vivo até a dissecação.

Após a retirada das gônadas para a análise citogenética, o restante dos animais foram preservados em álcool 70% e enviados para identificação e tombamento no Laboratório de Coleções Especiais do Instituto Butantan, pelo curador, Dr. Antonio Domingos Brescovit.



**Figura 1.** Fêmea de *Miagrammopes rubripes*, em vista dorsal, com ooteca abaixo. Escala= 4mm.

## 2. Preparações cromossômicas

As preparações cromossômicas foram feitas de acordo com a técnica de suspensão celular: anestésiar o animal com éter, dissecar imerso em solução fisiológica para insetos (7,5 g de Cloreto de Sódio, 2,38 g de Fosfato de Sódio dibásico, 2,72 g de Fosfato de Potássio monobásico, em 1 litro de água destilada), retirar a gônada e colocar em solução de colchicina a 0,16%, preparada com solução fisiológica para insetos, durante 2 horas, para que ocorra o acúmulo de metáfases; adicionar um volume de água de torneira igual ao de colchicina, para hipotonização, deixando agir durante 15 minutos; fixar as gônadas em Carnoy I (metanol-ácido acético, na proporção de 3:1), durante 60 minutos; colocar porções em uma lâmina de vidro para microscopia sobre uma gota de solução de ácido acético a 60 % para ser macerado até formar uma suspensão celular, com o auxílio de um bastão de metal; adicionar mais algumas gotas de ácido acético a 60 % e espalhar o material sobre a lâmina, secando-a em uma placa de metal, à temperatura de 35 a 40° C.

## 3. Coloração convencional

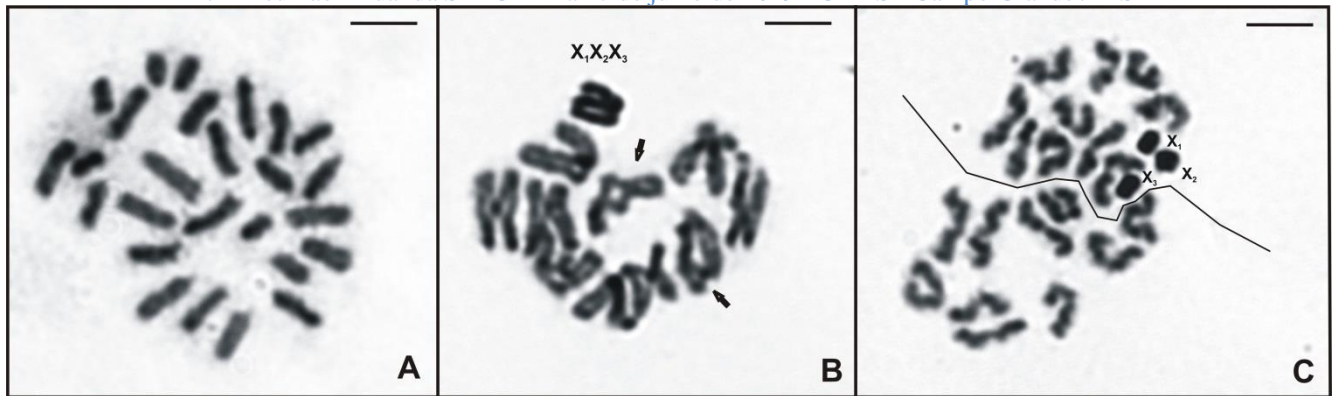
Aplicou-se a coloração com Giemsa, deixando as lâminas à temperatura ambiente por pelo menos um dia; corando-as com solução de Giemsa 3 %, contendo 47 mL de água destilada, 1,5 mL de Giemsa (Merck), e 1,5 mL de tampão fosfato pH 6,8, durante 10 minutos, a temperatura ambiente. Logo após a coloração, cada lâmina foi lavada em água de torneira e seca ao ar.

## 4. Análises cromossômicas

As células mitóticas e meióticas com melhor grau de condensação/individualização dos cromossomos foram fotografadas em um fotomicroscópio Axiolmager D2 (Zeiss) em aumento de 1000 x. Quanto a morfologia e caracterização dos cromossomos foi feita utilizando-se o plugin LEVAN (SAKAMOTO e ZACARO, 2009) do software ImageJ (RASBAND, 1997-2019), que considera os critérios propostos por Levan et. al. (1964) e Green & Sessions (1991).

## Resultados e Discussão

Dentre os 29 exemplares de *M. rubripes* analisados, apenas nove apresentaram células em divisão (cinco fêmeas e quatro machos). Metáfases oogoniais apresentaram  $2n_{\text{f}}=26$  e todos os cromossomos com morfologia acro/telocêntrica (**Figura 2A**). Apesar de não terem sido encontradas metáfases mitóticas em machos, foram observados espermatócitos I em diplóteno com 10 bivalentes autossômicos, com um ou dois quiasmas cada, e três univalentes sexuais heteropícnóticos positivos, denominados  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  (**Figura 2B**). O sistema cromossômico sexual (SCS) foi confirmado pela observação de espermatócitos II em metáfase com  $n=10$  e  $n=13=10+X_1X_2X_3$ , sendo possível distinguir os cromossomos sexuais novamente por sua heteropícnose positiva (**Figura 2C**). Dessa forma, os machos de *M. rubripes* devem possuir  $2n_{\text{m}}=23=20+X_1X_2X_3$ , ao passo que as fêmeas possuem  $2n_{\text{f}}=26=20+X_1X_1X_2X_2X_3$ .



**Figura 2.** Cromossomos de *Miagrammopes rubripes*. A. Metáfase oogonial com  $2n_{\text{♀}}=26$ . B. Espermatócito I em diplóteno com 10 bivalentes autossômicos +  $X_1X_2X_3$ . C. Espermatócitos II em metáfase com  $n=10$  (inferior) e  $n=13=10+X_1X_2X_3$  (superior). Escala = 5  $\mu\text{m}$ .

É interessante notar que dentre os três gêneros de Uloboridae cariotipados, *Uloborus* Latreille, 1806 caracteriza-se por números diplóides menores ( $2n_{\text{♂}}=10$  a  $2n_{\text{♂}}=19$ ), *Octonoba* Opell, 1979 por números diplóides intermediários ( $2n_{\text{♂}}=17$  a  $2n_{\text{♂}}=22$ ) e *Miagrammopes* por números diplóides maiores ( $2n_{\text{♂}}=22$  a  $2n_{\text{♂}}=25$ ). (ARAUJO et al., 2019). *M. rubripes* apresentou o segundo maior número diplóide da família, menor apenas que o  $2n_{\text{♂}}=25$  encontrado em *Miagrammopes* sp. (GIROTI et al., 2008). Este mesmo estudo encontrou também indivíduos de *Miagrammopes* sp. com o mesmo cariótipo encontrado no presente trabalho,  $2n_{\text{♂}}=23=20+X_1X_2X_3$ . A ocorrência de diferentes SCS no mesmo gênero ocorreu tanto para *Miagrammopes* ( $X_1X_2$  em uma espécie e  $X_1X_2X_3$  em duas espécies) quanto para *Uloborus* ( $X$  em uma espécie,  $X_1X_2$  em três espécies e  $X_1X_2X_3$  em uma espécie) e *Octonoba* ( $X$  em uma espécie e  $X_1X_2$  em duas espécies) (ARAUJO et al., 2019).

### Conclusões

O número diplóide encontrado em *M. rubripes* ( $2n_{\text{♂}}=23$ ) é o segundo maior para a família.

Os gêneros de Uloboridae apresentam faixas de números diplóides distintas: *Uloborus* (números menores), *Octonoba* (números intermediários) e *Miagrammopes* (números maiores).

### Referências bibliográficas

- ARAUJO, D.; SCHNEIDER, M.C.; PAULA-NETO, E.; CELLA, D.M. **The spider cytogenetic database**. 2019. Disponível em: <[www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase](http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase)>. Acesso em: 18 fev. 2019.
- ARAUJO, D.; PAULA-NETO, E.; BRESCOVIT, A.D.; CELLA, D.M.; SCHNEIDER, M.C. Chromosomal similarities between Nephilidae and Tetragnathidae indicate unique evolutionary traits among Araneoidea. **Italian Journal of Zoology**, 82(4): 1-8, 2015.
- GIROTI, A. M.; ARAUJO, D.; BRESCOVIT, A. D.; CELLA, D.M. Variação cariotípica intra-específica: *Deinopis* sp. e *Miagrammopes* sp. (ARANEAE, DEINOPOIDEA). Livro de resumos do **II Congresso Latinoamericano de Aracnologia**, Salta, Argentina, p. 145-146, 2008
- GREEN, D. M.; SESSIONS, S. K. **Amphibian cytogenetics and evolution**. In Appendix I, Nomenclature for chromosomes. Academic Press, Inc., USA, p. 431-432, 1991.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**. 52: 201-220, 1964.
- RASBAND, W. S. **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Online at <http://imagej.nih.gov/ij/>, 2019.
- SAKAMOTO, Y.; ZACARO, A.A. **LEVAN, an ImageJ plugin for morphological cytogenetic analysis of mitotic and meiotic chromosomes**. Initial version. An open source Java plugin distributed over the Internet from <http://rsbweb.nih.gov/ij/>, 2009.
- WORLD SPIDER CATALOG. **World Spider Catalog**. Natural History Museum Bern. Disponível em <<http://wsc.nmbe.ch>>, version 20.0. Acesso em 20 fev. 2019.