



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Mundo Novo
Curso de Ciências Biológicas



Érica Vanessa Julião do Nascimento

**Citogenética de aranhas do clado *Dionycha* (Araneae,
Entelegynae) do Parque Nacional de Ilha Grande**

Mundo Novo/MS

2011



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Mundo Novo
Curso de Ciências Biológicas



Citogenética de aranhas do clado Dionycha (Araneae, Entelegynae) do Parque Nacional de Ilha Grande

Orientanda: Érica Vanessa Julião do Nascimento

Orientador: Douglas de Araujo

Co orientador: Carlos Alexandre Fernandes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Mundo Novo/MS

2011

I. RESUMO

Salticidae (Dionycha) é a maior família de aranhas, com 5.368 espécies, dentre as quais apenas 96 espécies (menos de 2%) foram estudadas cromossomicamente. Este trabalho tem por objetivo caracterizar citogeneticamente duas espécies de Salticidae (Dionycha) encontradas no Parque Nacional de Ilha Grande, divisa entre os estados de Mato Grosso do Sul e Paraná. Os exemplares foram obtidos através de coleta manual noturna e guarda chuva entomológico. As gônadas foram submetidas a tratamento com colchicina 0,16% (em solução fisiológica para insetos), hipotonização, fixação e a técnica de coloração convencional (Giemsa). Dentre os exemplares coletados apenas um macho de *Frigga* cf. *quintensis* e um macho de *Asaracus* sp. apresentaram células em divisão que puderam ser aproveitadas para contagem e caracterização dos cromossomos. Metáfases mitóticas, visualizadas somente em *Frigga* cf. *quintensis*, apresentaram número cromossômico diplóide de $2n=28$. Nas células diplotênicas de ambas espécies verificou-se a existência de 13 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais heteropicnóticos positivos ($13II+X_1X_2$). Metáfases II, também de ambas espécies, mostraram a presença de $n=15$ ou $n=13$, sendo que nas células com $n=15$ é possível identificar os dois cromossomos sexuais devido a sua heteropicnose positiva, confirmando o sistema cromossômico sexual X_1X_2 para as duas espécies. Não há estudos sobre a posição filogenética de *Asaracus* dentro da família Salticidae. Mesmo não havendo táxons próximos filogeneticamente a *Frigga* (*Chira*, *Freya* e outros) analisados cromossomicamente, constata-se que as características cromossômicas apresentadas pelas espécies aqui estudadas coincidem o padrão para a família Salticidae, isto é, $2n=28$, X_1X_2 , encontrado em 78 espécies.

Palavras-chave: cromossomos, Arachnida, meiose, mitose, cromossomos sexuais.

II. INTRODUÇÃO

As famílias Corinnidae, Gnaphosidae, Liocranidae, Trochanteriidae, Anyphaenidae, Clubionidae, Salticidae, Philodromidae, Selenopidae, Sparassidae e Thomisidae formam o clado das Dionycha (Fig. 1), ou seja, aranhas que possuem apenas duas garras tarsais, totalizando 13.964 espécies, o que corresponde a quase 33% das 42.473 espécies de aranhas descritas (Coddington & Levi 1991; Platnick 2011).

Este clado é extremamente diverso e possui relações incertas entre muitas das famílias que o compõe, características que se refletem na heterogeneidade cromossômica do grupo, com número diplóide variando de $2n=14$ em *Menemerus illigeri* (Audouin 1826) (Salticidae), analisada por Gorlova et al. (1997) a $2n=44$ em *Micrommata* sp. (Sparassidae) (Datta & Chatterjee 1983; Sharma & Parida 1987). As famílias representantes de Gnaphosoidea e de seu grupo-irmão (Corinnidae + Liocranidae) (Fig. 1) parecem de fato apresentar uma maior proximidade, como revelado pela predominância de complementos com 22 cromossomos e Sistema Cromossômico Sexual (SCS) do tipo X_1X_2 (Araujo et al. 2011; Araujo et al. 2012, in press).

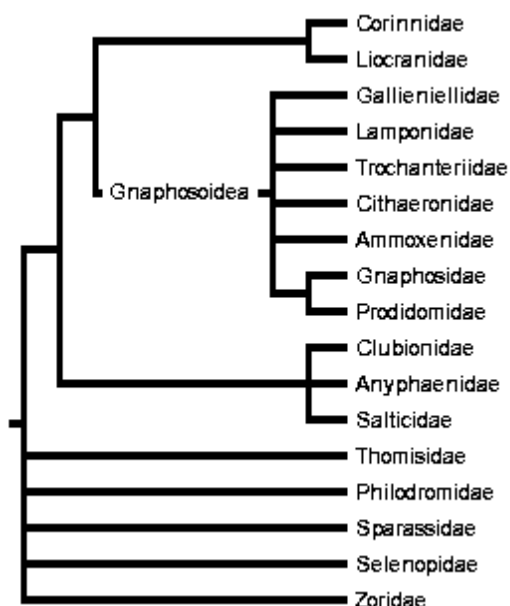


Figura 1.—Detalhe da filogenia proposta para Dionycha segundo Coddington & Levi (1991)

Salticidae, a maior família em número de espécies descritas taxonomicamente, com 5.368 espécies (cerca de 38% de todas dionychas), é 2ª família mais conhecida citogeneticamente, com 96 espécies de 37 gêneros estudadas e número diplóide oscilando entre $2n=14$ e $2n=30$. O complemento com 28 cromossomos foi o mais comumente observado, ocorrendo em 74 espécies (Araujo et al. 2011). O SCS do tipo X_1X_2 foi encontrado em 81% das espécies e os outros tipos de sistema registrados, em ordem decrescente de frequência, foram X, $X_1X_2X_3Y$ e $X_1X_2X_3$ (Araujo et al. 2012, in press). Em Salticidae, os cromossomos são quase que exclusivamente acrocêntricos, com exceção daqueles da espécie com $2n=14$, que possui autossomos exclusivamente metacêntricos, de um autossomo em exemplares de uma população de *Evarcha hoyi* (Peckham & Peckham 1883) com $2n=25$, o qual também foi descrito como metacêntrico, e do cromossomo Y, que exibiu morfologia meta/submetacêntrica (ver Araujo et al. 2011).

O gênero *Frigga* C.L. Koch, 1850, possui atualmente 10 espécies de distribuição predominantemente sul americana. Já o gênero *Asaracus* C.L. Koch, 1846 possui seis espécies de distribuição exclusivamente sul americana (Platnick 2011).

Considerando que menos de 2% de todas as Salticidae tiveram seus cariótipos analisados até o momento, o presente estudo tem como objetivo estabelecer estudar cromossomicamente duas espécies de aranhas saltadoras encontradas no Parque Nacional de Ilha Grande, com a finalidade de comparar os dados citogenéticos com aqueles de espécies já descritas na literatura e, se possível, formular hipóteses acerca da evolução cromossômica no grupo.

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1. Material e Local de Coleta

Os exemplares foram coletados às Margens da Lagoa Xambrê – Altônia - PR ($23^{\circ}52'48.64''S/54^{\circ}0'12.25''O$) (Fig. 2), Parque Nacional de Ilha Grande, no dia 20/09/2010.



Figura 2.–Detalhe da margem da Lagoa Xambrê, Altônia, PR. A seta indica o local da coleta. Fonte = Google Earth

Foram três machos de *Asaracus* sp e um macho de *Frigga* cf. *quintensis*). Após a extração das gônadas, os espécimes foram preservados em álcool 70%, e encaminhados para o Laboratório de Artrópodes, do Instituto Butantan, São Paulo, SP, e identificados pelo pesquisador Prof. Dr. Antonio Domingos Brescovit, estando no momento em processo de tombamento.

O fato do exemplar do gênero *Frigga* ter sido identificada como *Frigga* cf. *quintensis* significa que a mesma não é exatamente a espécie *Frigga quintensis* (Tullgren 1905), mas guarda semelhanças em relação a esta. Já no caso do exemplar do gênero *Asaracus*, não foi possível identificá-lo à nível de espécie.

III.2. Métodos

III.2.1. Coleta de Exemplos

A coleta foi realizada no período diurno com a utilização de guarda-chuvas entomológicos, que são aparatos com uma armação de madeira e um tecido branco (Fig. 3). No período noturno a coleta foi

realizada com o auxílio de lanternas de cabeça, de maneira a deixar as mãos livres para a coleta de exemplares de aranhas, utilizando-se de pinças para manipular o animal e de potes plásticos com pequenos orifícios na superfície para manter o animal vivo durante o transporte até o laboratório.



Figura 3.—Coleta diurna com a utilização de guarda-chuva entomológico.

III.2.2. Obtenção das Preparações Citológicas

As preparações cromossômicas e coloração foram feitas de acordo com Araujo et al. (2008).

III.2.3. Análises Cromossômicas

As células mitóticas e meióticas com melhor grau de condensação/individualização dos cromossomos foram fotografadas em um fotomicroscópio com sistema digital de captura de imagens, com objetiva de 100x de imersão, na Unidade Universitária de Dourados (UEMS). Quanto a morfologia, a caracterização dos cromossomos foi feita de acordo com a proposta de Levan et al. (1964).

IV.RESULTADOS

IV.1. *Frigga cf. quintensis*

Somente três células em metáfase mitótica foram encontradas, revelando um número cromossômico diplóide de $2n=28$ no macho de *Frigga cf. quintensis*. Todos os cromossomos são do tipo telocêntrico. Não foram encontradas características que permitissem diferenciar qualquer elemento do complemento diplóide como constrições secundárias ou regiões heteropicnóticas (Fig. 4).



Figura 4—Metáfase espermatogonial de *Frigga cf. quintensis* com $2n=28$. Escala = 10 μ m.

Células profásicas iniciais mostraram a existência de um ou dois blocos heteropicnóticos positivos, sendo que, quando dois blocos estão presentes, aparecem lado a lado (Fig. 5). Análise de núcleos em diplóteno e metáfase I também mostrou esses blocos (Fig. 6), confirmando que se tratam dos dois cromossomos sexuais, X_1 e X_2 , os quais apresentam condensação precoce.

Células diplotênicas e em metáfase I evidenciaram 13 bivalentes autossômicos e 2 univalentes que correspondem aos cromossomos sexuais X_1 e X_2 . A maioria dos bivalentes apresenta apenas um quiasma, no entanto, é nítida a presença de pelo menos um bivalente com dois quiasmas. Os

univalentes aparecem muitas vezes unidos, sendo difícil diferenciar o X_1 do X_2 , entretanto, em algumas células é possível observar que se tratam de dois cromossomos independentes que aparecem próximos um do outro. É fácil a identificação dos cromossomos sexuais porque estes são heteropicnóticos positivos em relação aos bivalentes autossômicos. Além disso, em algumas células é possível perceber que o cromossomo X_1 possui comprimento diferente em relação ao X_2 (Fig. 6).

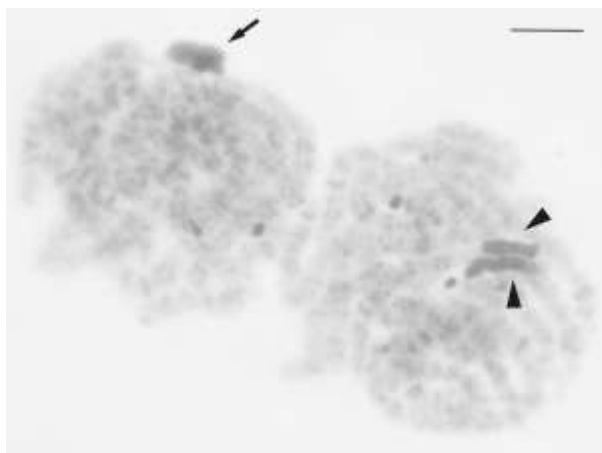


Figura 5.—Duas células profásicas iniciais de *Frigga* cf. *quintensis*. A seta indica o bloco heteropicnótico positivo que corresponde aos cromossomos sexuais. As cabeças de seta indicam os cromossomos sexuais X_1 e X_2 , paralelos um ao outro e com comprimentos diferentes. Escala = 10 μ m.

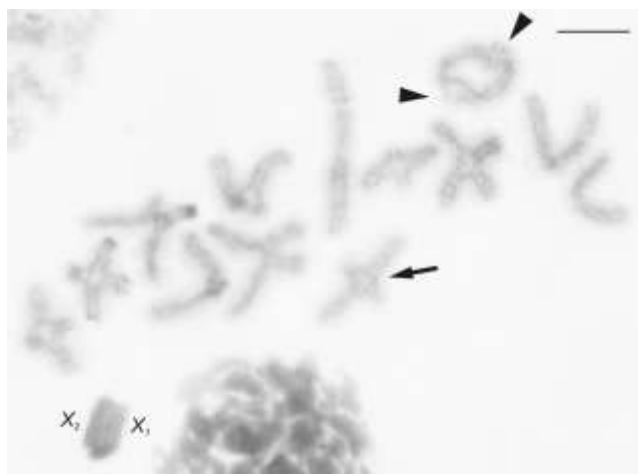


Figura 6.—Diplóteno/metáfase I de um exemplar macho de *Frigga* cf. *quintensis* mostrando 13 bivalentes autossômicos e os dois univalentes sexuais X_1 e X_2 . A seta indica um bivalente com apenas um quiasma e as cabeças de seta indicam um bivalente com dois quiasmas. Escala = 10 μ m.

Metáfases II de *Frigga cf. quintensis* revelaram a presença de $n=15$ ou $n=13$. Nas células com $n=15$ é possível identificar dois cromossomos heteropicnóticos positivos que correspondem aos sexuais X_1 e X_2 (Fig. 7), o que confirma o sistema cromossômico sexual do tipo X_1X_20 para a espécie.



Figura 7.—Metáfases II de *Frigga cf. quintensis*. No canto superior esquerdo com $n=15=13+X_1X_2$ e no canto inferior direito com $n=13$. Escala = 10 μm .

IV.2. *Asaracus* sp.

Na análise de células em diplóteno/metáfase I obtidas do exemplar de *Asaracus* sp. verificou-se a existência de 13 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais, os quais se mostram heteropicnóticos positivos (Fig. 8).

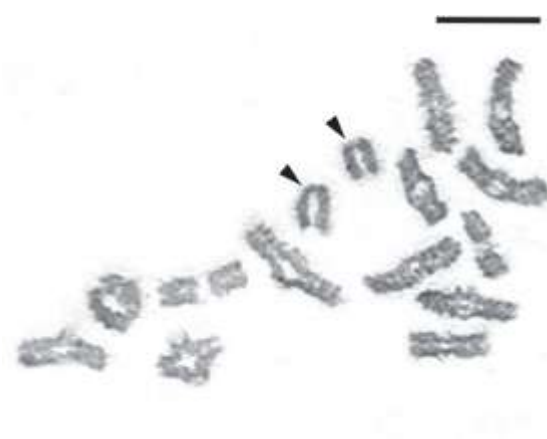


Figura 8.—Célula em diplóteno/metáfase I obtida do exemplar de *Asaracus* sp. com 13 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais heteropicnóticos positivos. As cabeças de seta indicam os cromossomos sexuais. Escala = 10 μm .

Células em metáfase II, também mostraram a presença de $n=15$ ou $n=13$, sendo que nas células com $n=15$ é possível identificar os dois cromossomos sexuais devido a sua heteropicnose positiva, confirmando o sistema cromossômico sexual X_1X_2 para a espécie (Fig. 9). Dessa maneira a fórmula meiótica de *Asaracus sp.* é $13II+X_1X_2$, o que corresponde a um número diplóide de $2n=28$ nos machos.

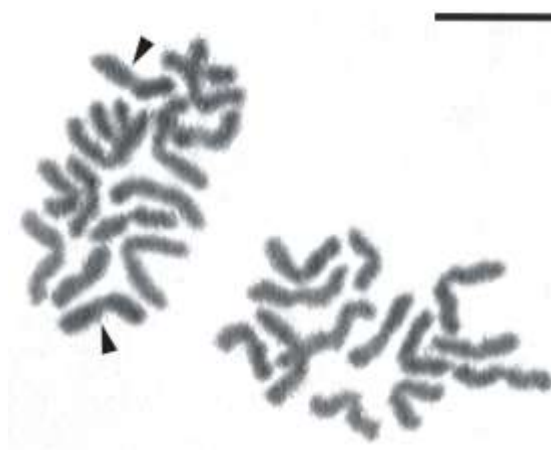


Figura 9.—Metáfases II de *Asaracus sp.* No canto superior esquerdo com $n=15=13+X_1X_2$ e no canto inferior direito com $n=13$. As cabeças de seta indicam os cromossomos sexuais. Escala = 10 μ m.

V. DISCUSSÃO

Segundo Maddison & Hedin (2003), em sua hipótese filogenética baseada em caracteres moleculares, *Frigga* faz parte de um clado juntamente com outras espécies de “freyines”, bem como com os gêneros *Paramarpissa* F.O.P.-Cambridge, 1901, *Phlegra* Simon, 1876 e *Carrhotus* Thorell, 1891 (Fig. 10).

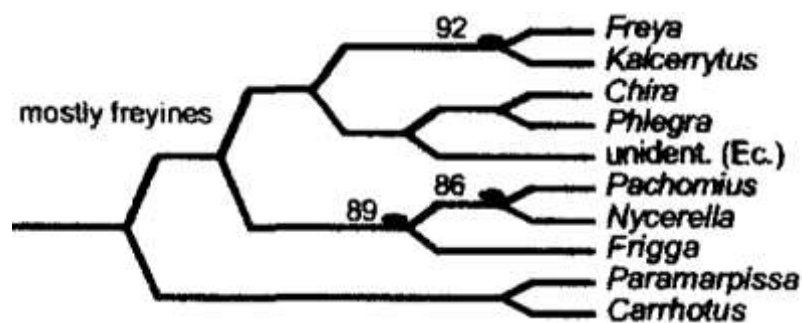


Figura 10.—Topologia do clado que inclui “fleyines”. Extraído de Maddison & Hedin (2003)

Não há como comparar os dados cromossômicos obtidos em *Frigga* cf. *quintensis* com qualquer dos gêneros que possui proximidade filogenética, conforme filogenia de Maddison & Hedin (2003) porque não existem dados cariotípicos para todos os integrantes deste clado (Araujo et al. 2001). Dessa forma, verifica-se que, apesar da família Salticidae ser a segunda mais analisada do ponto de vista citogenético, ainda há muito trabalho a se realizar, pois clados inteiros, como as “fleyines”, que incluem diversos gêneros, ainda são desconhecidos cromossomicamente. Isso fica nítido quando se percebe que menos de 2% das 5.368 espécies de Salticidae já foram cariotipadas. Assim sendo, este é o primeiro estudo cariológico não somente para o gênero *Frigga*, mas para todo o clado das “freyines” até o momento. Está falta de análises em alguns clados particularmente se dá pelo fato de que só nos últimos anos foi dada ênfase maior no estudo cromossômico de grupos neotropicais, como é o caso das “freyines”.

De qualquer forma, mesmo não havendo táxons próximos filogeneticamente a *Frigga*, constata-se que as características cromossômicas apresentadas pela espécie aqui estudada, ou seja, $2n_{\text{♂}}=28=26+X_1X_2$, com cromossomos telo/acrocêntricos são o padrão para a família Salticidae (ver Araujo et al. 2011)

Infelizmente o gênero *Asaracus* não foi incluído na análise filogenética de Maddison & Hedin (2003) e Maddison et. al. (2008), de maneira que não se sabe sua posição evolutiva dentro da família Salticidae, o que impossibilita discussões sobre a evolução cromossômica.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araujo, D., C.A. Rheims, A.D. Brescovit & D.M. Cella. 2008. 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.

Araujo, D., M.C. Schneider, E. Paula-Neto & D.M. Cella. 2011. The spider cytogenetic database. Online em: <http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase/>

Araujo, D., M.C. Schneider, E. Paula Neto & D.M. Cella. 2012. Sex chromosomes and meiosis in spiders: a review. In: Meiosis ed.Rijeka : InTech, 22p, in press.

Coddington, J.A. & H.W. Levi. 1991. Systematics and evolution of spiders (Araneae). *Annual Review of Ecology and Systematics* 22:565-592.

Datta, S.N. & K. Chatterjee. 1983. Chromosome number and sex-determining system in fifty-two species of spiders from North-East India. *Chromosome Information Service* 35:6-8.

Gorlova, O.Y.U, I.P. Gorlov, E. Nevo & D.V. Logunov. 1997. Cytogenetic studies on seventeen spider species from Israel. *Bulletin of the British Arachnological Society* 10(7):249-252.

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

Maddison, W.P. & M.C. Hedin. 2003. Jumping spiders phylogeny (Araneae: Salticidae). *Invertebrate Systematics* 17:529-549.

Maddison, W.P., M.R. Bodner & K.M. Needham. 2008. Salticid spider phylogeny revisited, with the discovery of a large Australasian clade (Araneae: Salticidae). *Zootaxa* 1893:49-64.

Platnick, N.I. 2011. The world spider catalogue version 12.0, American Museum of Natural History.

Disponível em <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>

Sharma, N. & B.B. Parida. 1987. Study of chromosomes in spiders from Orissa. *Pranikee* 8: 71-76.