

CARACTERIZAÇÃO CROMOSSÔMICA DA SERPENTE *Boa constrictor constrictor* (Linnaeus, 1758) DA REGIÃO AMAZÔNICA CENTRAL.

Patrik Ferreira VIANA¹; Ronis Da SILVEIRA²; Eliana FELDBERG³

¹ Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Co-orientador Laboratório de Zoologia/UFAM; ³Orientadora CBIO/INPA

1.Introdução

A classe Reptília compreende animais que surgiram no período Carbonífero a partir de um ancestral anfíbio e tiveram uma melhor adaptação ao meio terrestre (Pough *et al.* 2008). A Subordem Serpentes são animais classificados em quatro grande grupos de acordo com a morfologia de sua dentição: Áglifas (Jorge e Ribeiro 1991; Puerto e França 2003); Opistóglifas (Gutiérrez e Sasa 2002; Prado-Franceschi e Hyslop 2002; Savage 2002; Puerto e França 2003); Solenóglifas (Campbell e Lamar 2004) e Proteróglifas (Roze 1996). O complexo *Boa constrictor* representa serpentes conhecidas popularmente como boa ou jibóia, tem sua distribuição registrada desde a costa norte do México, passando pela América Central até o norte da Argentina. Vivem em vários habitats, como florestas tropicais, matas virgens, campos e plantações (Ernest e Zug 1996). São serpentes de médio a grande porte, o corpo é cilíndrico, ligeiramente comprimido nas laterais, evidenciando sua forte musculatura constritora. Para essa espécie são conhecidas dez subespécies (Species 2000 e ITIS Catalogue of Life: Annual Checklist 2010) das quais apenas duas tiveram seus cariótipos descritos; *Boa constrictor amarali* ($2n = 36$; $6M+2SM+8A+20Mi$) e *Boa constrictor constrictor* ($2n = 36$ 16 Macros e 20 Micros) (Beçak *et al.* 1963; Beçak, 1966). Sendo *B. constrictor constrictor* a subespécie que tem ocorrência na região amazônica, o presente projeto pretende contribuir para o conhecimento da diversidade cariotípica da herpetofauna amazônica.

2.Material e Métodos

Foram utilizados 12 indivíduos da espécie *Boa constrictor constrictor* provenientes de apreensões e capturas realizadas pelo CETAS (Centro de Triagem de Animais Silvestres) compreendendo sete machos e cinco fêmeas. O sangue foi retirado com seringas heparinizadas, pelo veterinário responsável pelo CETAS. As amostras de sangue foram levadas ao Laboratório de Genética Animal do INPA e seguiu-se, o protocolo de cultura de linfócitos descrito por Moorhead *et al.* (1960). Neste protocolo foi utilizado meio de cultura completo para cariótipo da Cultilab®. Para determinar o padrão da região organizadora de nucléolo (RON) foi utilizado o protocolo de Howell e Black (1980); e para determinar o padrão da heterocromatina constitutiva (banda C) o de Sumner (1972). As melhores metáfases foram fotografadas e os cromossomos pareados e medidos pelo programa Image J e a classificação dos cromossomos seguiu Levan *et al.* (1964).

3.Resultados e Discussão

A preparação mitótica foi realizada em 12 exemplares da subespécie *Boa constrictor constrictor* (sete machos e cinco fêmeas). Entretanto, apenas sete indivíduos (duas fêmeas e cinco machos) apresentaram resultados satisfatórios com condições de análise. Para a determinação do número diploide analisou-se 212 células, as quais apresentaram $2n=36$ cromossomos, sendo 16 macrocromossomos e 20 microcromossomos, com fórmula cariotípica igual a $6m+2sm+4st+4a+20mi$ e $NF=48$, sem heteromorfismo de cromossomos sexuais (Figura 1). O número diploide encontrado no presente trabalho foi o mesmo descrito e mantido em várias famílias primitivas de serpentes (Gorman 1981; Oguiura *et al.* 2009), onde o complexo *B. constrictor* se encontra. Ao longo da evolução desses animais ocorreu o aumento do número diploide, provavelmente por rearranjos do tipo fissão cêntrica nos macrocromossomos uma vez que o número de microcromossomos se mantém nos grupos mais derivados (Serafim *et al.*, 2007), sugerindo que as serpentes sul-americanas tendem a aumentar seu número diploide.

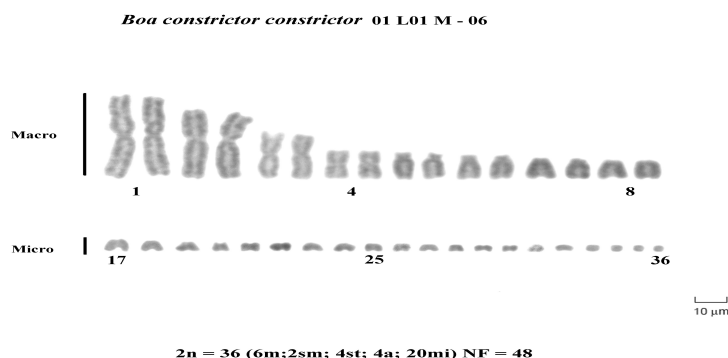


Figura 1: Cariótipo de um macho de *Boa constrictor constrictor* em coloração convencional com Giemsa, evidenciando os 16 macrocromossomos e os 20 microcromossomos.

A heterocromatina constitutiva em *Boa constrictor constrictor* mostrou-se distribuída principalmente nos macrocromossomos (pares 2, 4, 5, 7 e 8), uma vez que alguns microcromossomos apresentaram marcações difusas distribuídas nas regiões terminais, impossibilitando assim a localização exata desses blocos (Figura 2). Nos pares número 2 e 4 os blocos heterocromáticos encontram-se na região centromérica, no par 5 a heterocromatina encontra-se na região terminal do braço longo, enquanto os pares 7 e 8 apresentam marcações biteloméricas.

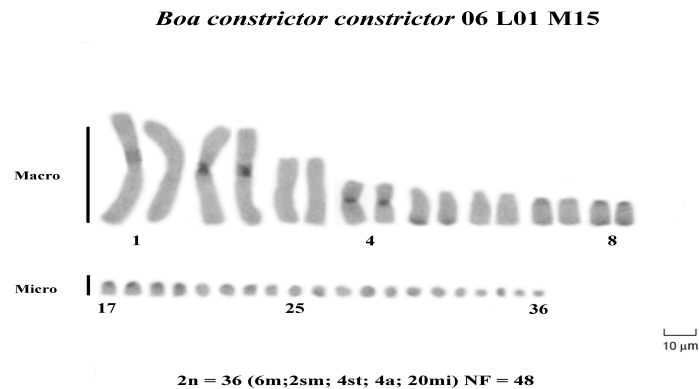


Figura 2: Cariótipo de um Macho de *Boa constrictor constrictor*, bandeamento C.

Os indivíduos machos e fêmeas não apresentaram diferenças na distribuição dos blocos heterocromáticos, descartando a presença de cromossomos sexuais diferenciados, como descrito para várias espécies de répteis que possuem sistema de determinação sexual do tipo ZZ/ZW, onde a fêmea é heterogamética (Oguiura *et al.* 2009). A impregnação com nitrato de prata (Ag-RON) evidenciou a região organizadora de nucléolo em posição terminal de um par de microcromossomos (Figura 3). Entretanto, devido à carência de dados citogenéticos sobre localização das RONS, não é possível fazer inferências a respeito dessa característica.



Figura 3: Metáfases de indivíduos de *Boa constrictor constrictor*, região organizadora de nucléolo em evidência. As setas indicam o par de microcromossomos marcados pelo íon nitrato de prata.

4. Conclusão

- 1) Os cariótipos de machos e fêmeas de *B. constrictor constrictor* não se diferem em coloração convencional e bandeamentos cromossômicos e apresentam isomorfismo quanto ao sistema de cromossomos sexuais.
- 2) Os diferentes padrões de coloração da pele de *B. constrictor constrictor* não é evidenciado a nível cromossômico.
- 3) Eventos epigenéticos não estão sendo evidenciados a nível cromossômico na espécie estudada, os rearranjos cromossômicos que possivelmente levaram ao aumento do número diploide nos grupos mais derivados de serpentes permitiu que esses animais se adaptassem e conquistassem os mais diferentes tipos de ambientes.

5.Referências Bibliográfica

- Avila-Pires, T. C. S.; Hoogmoed, M. S.; Vitt, L. J. 2007. Herpetofauna da Amazônia In: Nascimento, L. B.; Oliveira, M. E. (Org.). *Herpetologia do Brasil II*. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia. p. 13 - 43.
- Beçak, W., Beçak, M.L.; Nazareth, H.R.S. 1963. Chromosomes of Snakes in Short Term Cultures of Leucocytes. *The American Naturalist*, Vol. 97, No. 895, (Jul. - Aug., 1963), pp. 253-256.
- Beçak, W., Beçak, M. L., Nazareth, H. R. S.: Evolution and sex chromosomes in serpentes. *Mere. Inst. Butantan*, Simp. int. 33, 151-152 (1966).
- Cunha, O.R.; Nascimento, F.P. 2003. Ofídios da Amazônia – as cobras da região leste do Pará. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 31(1): 1-218.
- Cherubini A.L.; Barrella, T.H.; Da Silva, R.J. 2003. Death of *Boa constrictor amarali* (Serpentes, Boidae) after ingestion of a tree porcupine (rodentia). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 9: 117-124.
- Ernest, C.H.; Zug, G.R. 1996. *Snakes in question*. Washington: Smithsonian Institution Press. 203pp.
- Gorman, G. 1981. The chromosomes of *Laticauda* and a review of karyotypic evolution in the Elapids. *Journal of Zoology*, 15:225-233.
- Gutiérrez, J.M.; Sasa, M. 2002. Bites and envenomations by colubrid snakes in Mexico and Central America. *Journal of Toxicology Reviews*, 21: 105–115.
- Howell, W.M.; Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer region with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- Jorge, M.T.; Ribeiro, L.A. 1991. Acidentes causados por animais peçonhentos. In: Amato Neto, V.; Baldy, J.L.S. (Eds). *Doenças Transmissíveis*. Sarvier, São Paulo. p. 133-141.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Martins, M.; Oliveira, M.E.. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. *Herpetological Natural History*, 6: 78-150.
- Martins, M.; Molina, F.B. 2006. Panorama geral dos répteis ameaçados do Brasil. In: *Livro vermelho das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção*. p.327-334.
- Moorhead, P.S.; Nowell, P.C.; Mellman, W.J.; Battips, D.M.; Hungerford, D.A. 1960. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cell Research*, 20: 613-616.
- Oguiura N, Ferrarezzi H, Batistic R.F. 2010 Cytogenetics and Molecular Data in Snakes: A Phylogenetic Approach. *Cytogenet Genome Res* 2009;127:128–142
- Pough, Harvey. F; Janis. Christine. M; Heiser John. B. 2008. *A Vida dos Vertebrados*.
- Prado-Franceschi, J.; Hyslop, S. 2002. South America colubrid envenomations. *Toxin Reviews*, 21(1 e 2): 117 – 158.
- Puerto, G.; França, F.O.S. 2003. Serpentes não peçonhentas e aspectos clínicos dos acidentes. In: Cardoso, J.L.C.; França, F.O.S.; Wen, F.H; Málaque, Sant'Ana C.M.; Haddad Jr., V. (Eds). *Animais Peçonhentos no Brasil. Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. Sarvier, FAPESP, São Paulo. p. 108-114.
- Salomão, M.G.; Albolea, A.B.P.; Almeida-Santos, S.M. 2003. Colubrid snakebite: a public health problem in Brazil. *Herpetology Review*, 34(3): 307-312.
- Savage, J.M. 2002. *The Amphibians and Reptiles of Costa Rica: A Herpetofauna between Two Continents, between Two Seas*. University of Chicago Press, Chicago. 1934pp.
- Serapicos, E. O.; Merusse, J.L.B. 2006. Morfologia e histoquímica das glândulas de Duvernoy e supralabial de seis espécies de colubrídeos Opisthoglifodontes (Serpentes, Colubridae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 46(15): 187-195.
- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.