

**DNA E VOLUME NUCLEAR EM ENTEROPNEUSTA,
TUNICATA CEPHALOCHORDATA E SUAS
IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS (*)**

Giorgio Schreiber

Thereza M. C. M. Cavenaghi

Instituto de Ciências Biológicas da
U.F.M.G. Belo Horizonte.

RESUMO

Foi estudado o teor em DNA per núcleo e o volume nuclear em espermátocitos de *Salpa democratica*, *Balanoglossus gigas* e *Branchiostoma caribbaeum*. Os valores de DNA encontrados expressos em picogramas colocam estas espécies ao limite inferior da variação do DNA nos Vertebrados. Embora o *Balanoglossus* esteja em uma posição filogenética inferior à dos Tunicados, o teor em DNA desta espécie é maior do das salpas. O tamanho relevante desta espécie poderia fazer supor uma situação múltipla do genoma, faltando, porém, totalmente indicações citogenéticas. A variação do valor da relação entre DNA e volume nuclear entre as espécies estudadas sugere uma possível significação taxonômica deste caráter quantitativo.

**DNA AND NUCLEAR SIZE IN ENTEROPNEUSTA, TUNICATA AND
CEPHALOCHORDATA AND ITS PHYLOGENETIC SIGNIFICANCE.**

ABSTRACT

The DNA content per nucleus and the nuclear volume have been studied in the 1st spermatocyte of *Salpa democratica*, *Balanoglossus gigas* and *Branchiostoma caribbaeum*. The values of DNA in picograms, situate these species at the lower limit of the variation of DNA content of the Vertebrates. Although *Balanoglossus* belongs to a phylogenetic position lower than the Tunicates, the DNA content of this specie is higher than the one of the Tunicates. The rather exceedingly size of *Balanoglossus gigas* may induce to suppose a multiple value of the genome of this specie, even lacking of any cytogenetic data. The variation of the ratio "DNA/volume" among the different species here studied suggest a possible taxonomic significance of this quantitative character.

(*) Trabalhos executados com auxílios do C.N.Pq. e do C.Pq./U.F.M.G.

Em dois trabalhos precedentes (SCHREIBER, 1972(a) e SCHREIBER et al., 1972(b)) foi analisada a variação do conteúdo em DNA por núcleo na série evolutiva animal, construindo um diagrama no qual nas ordenadas figuram as unidades sistemáticas e nas abcissas o conteúdo em DNA em picogramas (10^{-12} g) em escala logarítmica. Foram incluídos os valores obtidos por vários autores, recolhidos nas tabelas de BRAWERMAN e SHAPIRO (1962) e de outros autores principalmente sobre Vertebrados. Mandamos para esta bibliografia os dois trabalhos de SCHREIBER supra citados.

Na presente nota queremos salientar os valores de DNA obtidos neste Departamento para os Enteropneustas, Urocordados e Cephalochordados, comparando também os valores dos respectivos volumes nucleares.

Estes valores foram obtidos nos espermatozóitos de 1ª ordem, considerado com $4n$, pelas medidas citofotométricas com coloração de Feulgen e calculado o valor diplóide em picogramas pela comparação com os dados conhecidos por métodos de determinação química em *Bufo paracnemis*.

Controles rigorosos, descritos nos trabalhos precedentes foram tomados para corrigir a variabilidade dos banhos diferentes da coloração de Feulgen. O material foi obtido no Instituto de Biologia Marinha da U.S.P., em São Sebastião, fixados em formol 10% neutro.

Nos gráficos dos trabalhos precedentes foi verificado um aumento progressivo do conteúdo em DNA per núcleo muito evidente nas primeiras fases da filogênese. Alcançado o estágio de metazoários superiores (seja nos Protostômios como nos Deuterostômios), verifica-se uma notável variabilidade dentro de cada grupo devida a poliploidia ou polinemia, bem como excesso de DNA em alguns grupos como Dipnóicos, Urodelos e Onicóforos.

No presente trabalho consideramos somente os valores dos Cordados primitivos, que constituem um ponto crucial na filogênese.

A Tabela I e a Figura 1 mostram os valores indicados em unidades convencionais de DNA e volume no espermatozóito Iº e em picogramas de DNA calculado para o valor diplóide.

Foram estudadas as seguintes espécies:

Balanoglossus gigas F. MULLER abundante nas praias brasileiras e descoberto por FRITZ MULLER em 1863 e estudado sucessivamente por SAWAYA e colaboradores (1950).

Salpa democratica FORSKAL que aparece em enxames saltuariamente no canal de São Sebastião.

Branchiostoma caribbaeum SUNDEVALL, também freqüente nas capturas do Instituto de Biologia Marinha em São Sebastião.

Na *Salpa* foi também estudado o teor em DNA e volume nuclear nas

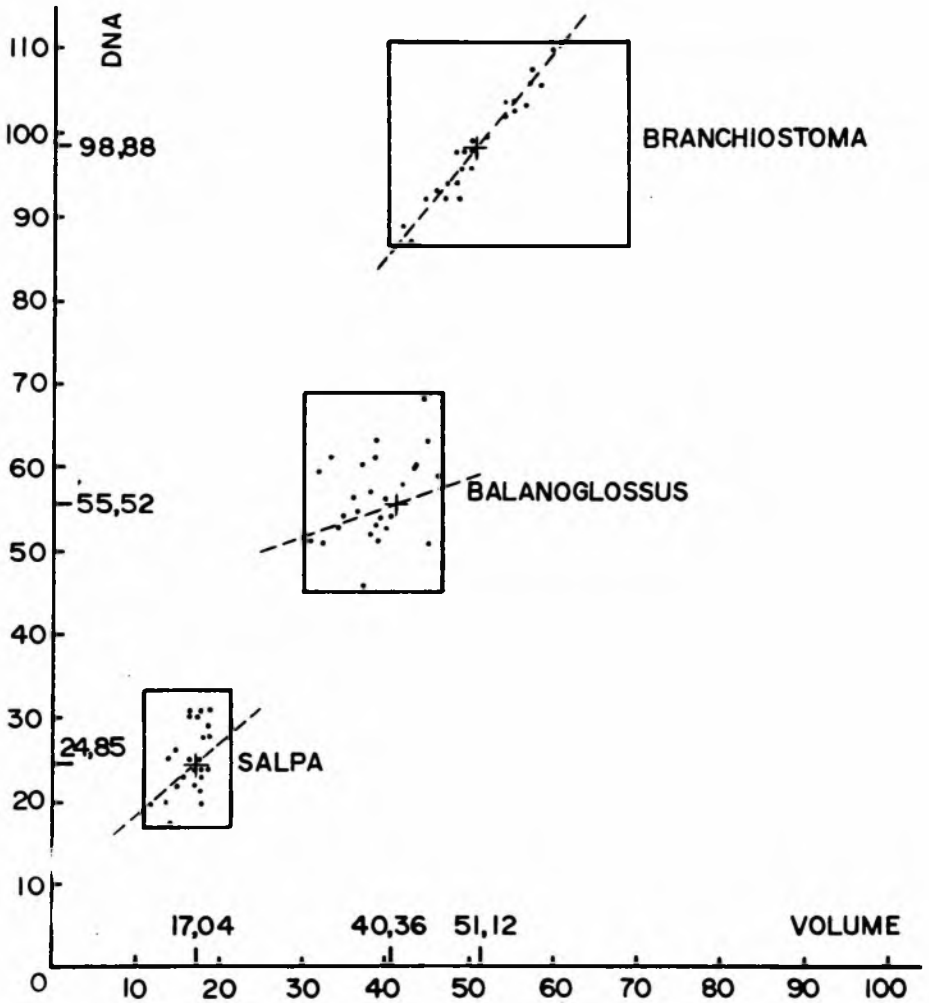


Diagrama de regressão entre os valores de DNA e volume nuclear.
Os retângulos compreendem as áreas de variação dos valores de DNA e Volume.
"b" — coeficiente de regressão.

etapas do desenvolvimento histogenético do endóstilo por CAVENAGHI, e SCHREIBER (1972).

Dos dados indicados na Tabela se depara que as Salpas têm um valor de DNA ligeiramente superior àquele indicado por MIRSKY e RIS (1951) nas Ascídias. O *Branchiostoma caribbaeum* tem um valor muito próximo àquele determinado por ATKIN e colaboradores (1967) no *B. lanceolatus*.

Todos estes valores se situam no gráfico geral (SCHREIBER, 1972 (b), bem à base dos valores dos Vertebrados.

Para o *Balanoglossus gigas* dever-se-ia esperar um valor inferior ao dos Tunicados, mas pelo contrário, o valor encontrado é bastante superior. Em falta de dados sobre outras espécies de Hemichordata (cujo tamanho varia de 3,5 a 25 cm, SAWAYA, 1953), devemos considerar este dado como discordante da série evolutiva, e pelo tamanho relevante desta espécie (até dois metros), poder-se-ia duvidar que possa se tratar de uma espécie poliplóide ou polinêmica. A ausência total de indicações citogenéticas neste grupo de animais não nos permite mais do que uma hipótese de trabalho.

Apesar desta discordância dos hemicordados, todos os dados aqui apresentados colocam estas espécies na posição certa no diagrama da evolução do conteúdo em DNA dos animais.

O progressivo aumento do conteúdo em DNA na filogênese pode ser devido a mecanismos diferentes como poliploidia, polinemia, duplicações intercalares (DNA repetitivo) etc. Mandamos os trabalhos precedentes para a discussão das causas intrínsecas do aumento do patrimônio gênico e especialmente da polinemia que revela uma discronia entre os processos duplicativos do DNA cromossômico e aquele do DNA dos centros responsáveis pela distribuição dos genomas formados na divisão celular (centrômeros e centríolos). Evidentemente o aumento do conteúdo em DNA per núcleo deve representar um fator seletivo favorável, pois sucessivas mutações entre estes gens duplicados podem aumentar o patrimônio genético da espécie, portanto uma maior plasticidade adaptativa.

O estudo dos volumes nucleares nestas três espécies mostra uma variação paralela àquela do DNA. Para relacionar os valores de DNA e volume nuclear, foi usado o método de representação gráfica usado em trabalhos anteriores (SCHREIBER et al., 1966 e SCHREIBER et al., 1969), para comparar tecidos diferentes do mesmo organismo. A Figura 1 mostra a regressão entre DNA e volume para cada espécie. Os retângulos incluem a área de variação dos valores de DNA e de volume nuclear para cada espécie.

Na Tabela são indicados os valores da relação entre as médias de DNA e volume. Estas relações são diferentes entre as espécies estudadas. Por en-

TABELA I

ESPÉCIE	DNA 4n conv.	VOLUME conv.	DNA 2n 10-12g	X DNA X Vol.	"d" regressão	T E C I D O S
<i>Balanoglossus gigas</i>	55,52	40,36	1,7	1,38	0,34	Cito I
<i>Salpa democratica</i>	24,80	17,04	0,78	1,45	0,98	Cito I
<i>Ascidia (MIRSKY)</i>	—	—	0,216	—	—	—
<i>Branchiostoma caribbaeum</i>	98,88	51,12	1,63	1,93	1,30	Cito I
<i>Branchiostoma lanceolatus (ATKIN)</i>	—	—	1,08	—	—	Epitélio branquial

quanto, deixamos este dado como uma indicação provisória a ser futuramente estendida a outros grupos de espécies, sem tentar uma interpretação em termos moleculares. De fato, a variação da relação entre DNA e volume nuclear foi em nossos trabalhos procedentes interpretada como uma característica de cada tecido diferenciado, indicando uma diferente relação quantitativa entre DNA e os demais constituintes nucleares responsáveis pelo volume (especialmente proteínas não histônicas). Estas variações, em células não especializadas somaticamente como os meiocitos, comparadas entre espécies diferentes, poderiam -induzir a supor que possam ter uma significação taxonômica.

BIBLIOGRAFIA

- ATKIN, N. B. & OHNO, S., 1967. DNA values of four primitive chordate. *Chromosoma*, 23:10-13.
- BRAWERMAN, G. & SHAPIRO, H. S., 1962. Nucleic acids. In: FLORKIN and MASON, Comparative Biochemistry. Acad. Press. N.Y.:107-182.
- CAVENAGHI, T. M. C. M. & SCHREIBER, G., 1970. Aspectos citométricos do diferenciamento histológico do endóstilo nas salpas. *Ciência e Cultura*, 24 (Suplemento):211.
- MIRSKY, A. E. & RIS, H., 1951. The desoxyribonucleic acid content in animal cells and its evolutionary significance. *J. Gen. Phys.*, 34:451-462.
- SAWAYA, P., 1950. Reencontro do *Balanoglossus gigas* no litoral brasileiro. *Bull. Inst. Oceanogr., S. P.*, 1:135-138.
- SAWAYA, P. & FORNERIS, L., 1953. Enteropneustas brasileiros. *Bol. Fac. Fil. C. e Letr. U. S. P.*, CLXV — *Zoologia* 18:5-50.
- SCHREIBER, G., 1972 (a). Evolução do conteúdo de DNA por núcleo. *Ciência e Cultura*, 24(5): 428-431.
- SCHREIBER, G. et al., 1966. Pesquisas de citologia quantitativa. XIX. DNA e volume nuclear nos tecidos somáticos dos Vertebrados. *Mem. Inst. Butantan*, 33:135-150.
- SCHREIBER, G. et al., 1969. Significance of the ratio "DNA/nuclear size" in the differentiation of tissues, *Genetics* (Suppl.), 61:161-170.
- SCHREIBER, G., 1972(b). Variações do teor em DNA durante a filogênese. II. Novos dados sobre teor em DNA na série animal. III^o Congr. Bras. de Zool., S.P., 1972 (no prelo).
- SCHREIBER, G. & CAVENAGHI, T.M.C.M., 1972. Teor em DNA por núcleo nos *Cephalocordata* e *Tunicata*. *Ciência e Cultura*, 24 (Suplemento): 146.