

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 11/07/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO  
Departamento de Biologia



---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

---

**ANÁLISE DA VARIABILIDADE CARIOTÍPICA E DO  
COMPORTAMENTO DOS CROMOSSOMOS NA MEIOSE DE  
ESCORPIÕES DO SUBGÊNERO *TITYUS* (*ARCHEOTITYUS*)  
(BUTHIDAE)**

**VIVIANE FAGUNDES DE MATTOS**



Rio Claro, São Paulo, Brasil

Junho de 2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO  
Departamento de Biologia



---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

---

**ANÁLISE DA VARIABILIDADE CARIOTÍPICA E DO  
COMPORTAMENTO DOS CROMOSSOMOS NA MEIOSE DE  
ESCORPIÕES DO SUBGÊNERO *TITYUS* (*ARCHAEOTITYUS*)  
(BUTHIDAE)**

**VIVIANE FAGUNDES DE MATTOS**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

**Orientadora:** Profa. Dra. Marielle Cristina Schneider

**Rio Claro, São Paulo, Brasil**

**Junho de 2017**

591.15      Mattos, Viviane Fagundes de  
M444a      Análise da variabilidade cariotípica e do comportamento dos  
             cromossomos na meiose de escorpiões do subgênero Tityus  
             (Archaeotityus) (Buthidae) / Viviane Fagundes de Mattos. - Rio Claro,  
             2017

133 f. : il., figs., tabs., mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de  
Biociências de Rio Claro

Orientador: Marielle Cristina Schneider

1. Genética animal. 2. Citogenética animal. 3. Cadeia cromossômica.  
4. Cromossomos holocêntricos. 5. Meiose aquiasmática. 6. Número  
diploide. 7. Rearranjo cromossômico. I. Título.



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Análise da variabilidade cariotípica e do comportamento dos cromossomos na meiose de escorpiões do subgênero Tityus (Archaeotityus) (Buthidae)

AUTORA: VIVIANE FAGUNDES DE MATTOS

ORIENTADORA: MARIELLE CRISTINA SCHNEIDER

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:

*Marielle C. Schneider*

Profa. Dra. MARIELLE CRISTINA SCHNEIDER  
Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Federal de São Paulo

*Douglas de Araujo*

Prof. Dr. DOUGLAS DE ARAUJO  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul

*Vanessa Bellini Bardella*

Profa. Dra. VANESSA BELLINI BARDELLA  
Pós Doutorado do Departamento de Biologia / Instituto de Biociências de Rio Claro

*Ana Moraes*

Profa. Dra. ANA PAULA DE MORAES  
Campus São José dos Campos / Universidade Federal de São Paulo

*Simone Lilian Gruber*

Profa. Dra. SIMONE LILIAN GRUBER  
x / x

Rio Claro, 11 de julho de 2017

*Dedico este trabalho ao sentido maior da  
minha vida, meus pais Anizia R. O.  
Fagundes, Lourenço F. Mattos e meu  
irmão Guilherme F. Mattos.*

## AGRADECIMENTOS

Talvez escrever os agradecimentos seja um dos momentos mais difíceis da tese. Primeiro porque me faltam palavras para expressar tamanha gratidão a todas as pessoas que me acompanharam nesta jornada. Segundo, porque é como se passasse um filme pela minha cabeça, me fazendo lembrar todos os momentos vividos até agora, momentos por vezes alegres e divertidos, outros não tão agradáveis, compreendidos por angústias e incertezas. Todos estes momentos foram compartilhados com pessoas especiais com as quais tive a oportunidade de conviver ao longo desses quatro anos. Quatro anos intensos e carregados de emoções. Assim, com lágrimas nos olhos gostaria de agradecer de forma especial:

A Deus!

A minha orientadora, Profa. Dra. Marielle C. Schneider, pela paciência, ah e haja paciência! É fato que tivemos nossos desentendimentos durante o percurso, mas ela com ternura e um pouco de teimosia soube cumprir o seu papel como orientadora. E em alguns momentos até mais do que isso, como amiga. Cativa a todos com sua ternura e forma de ser, porque faz o seu trabalho com amor. Não é a toa que o Lab 23 é o laboratório mais invejado do Eldorado (UNIFESP, Diadema), o qual todos os alunos querem fazer parte. Ah, peço desculpa pelas minhas falhas! Obrigada por tudo!

A Prof. Dra. Doralice M. Cella (*in memoriam*) uma das maiores inspiradoras disso tudo. Se foi tão cedo, tivemos tão pouco tempo... Entretanto, seu exemplo pessoal e profissional, seu sorriso, ficará para sempre em minha memória.

Ao Prof. Dr. Douglas de Araujo pelo auxílio com as coletas de *Tityus paraguayensis* da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Adicionalmente, agradeço por me orientar com os primeiros passos na citogenética.

A Prof. Dra. Zaira da Rosa Guterres pela generosidade e conselhos sábios.

Aos meus colaboradores, Leonardo S. Carvalho e Marcos A. Carvalho, pelo auxílio em coletas e identificação taxonômica dos exemplares estudados.

Ao corpo docente do Departamento de Biologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Rio Claro.

Ao corpo docente do Lab 23 da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, Diadema.

A dona Edite Schneider pelas conversas, passeios e cervejinhas. Saudades!

A Amália T. L. Coelho pela amizade, companheirismo, e discussão crítica a cerca dos relatórios científicos iniciais. Pelo apoio nos momentos de crise e dúvidas.

Aos amigos do Lab 23 (UNIFESP, Diadema), Adriana C. A. Murcia, Crislaine V. Ubinski, Juliana F. Lima, Marcel F. Neves e Renata C. S. Costa, pela convivência do dia-a-dia, discussões pessoais e científicas, pelos cafés, pastéis e tapiocas além das nossas festinhas e danças no laboratório. Adicionalmente agradeço, pela amizade extra universidade a qual foi muito importante para a minha adaptação à Diadema, SP.

A Beatriz Raicoski que rapidamente entrou para a família Lab 23, agradeço pela sinceridade e pelas terapias de boteco.

Aos amigos do Lab 22 (UNIFESP, Diadema), Myrcea A. S. Tilger, Raquel F. Silva e Renan B. Gaiardo, agradeço pelos almoços, conversas descontraídas, cafés e principalmente por me apresentarem aos Selvagens a Procura de Lei. Vai Selvagens!

Aos amigos do Lab 15 (UNIFESP, Diadema), Daniela H. Maggio, Dylan J. P. Pérez, Juliete O. Costa e Vítor F. Oliveira, agradeço pela amizade, discussões científicas, pelos cafés e festinhas.

Aos meus amigos do laboratório de citogenética (UNESP, Rio Claro), Allison K. Anjos, Tatiana G. Pinheiro, Rafael S. Borba e Simone L. Gruber, agradeço por todo apoio, amizade e risos.



As minhas amigas biólogas Crislaine X. Silva e Genandrea K. Cruz, por ouvirem as minhas lamentações e darem palavras de apoio, e claro, dar aquele sermão quando necessário.

Ao meu amigo Fábio H. Fernandes, por sempre dizer as palavras certas no momento certo, agradeço por me acompanhar nesta etapa dando palavras de apoio e esperança, enfim, por ser uma pessoa tão serena.

Aos meus amigos de república estudantil, Thais B. Silva, Denis A. Ribeiro e Thiago A. Martins agradeço pela amizade, companhia, discussões, pelos risos, por todo amor. A meu ver o término da república tornou a nossa amizade mais forte. Amo vocês demais!

A dona Terezinha Bernardi e seu Roberto C. Galácio por me receberem por cerca de um ano em sua pensão estudantil. Obrigada pela acolhida!

A minha amiga, *roommate*, Gislaine S. Martins, a melhor fonoaudióloga do Brasil! Hahaha! Agradeço pela amizade, pela cumplicidade, pelo seu riso e energia contagiante, por me ajudar a ser forte quando estou longe do meu porto seguro (família).

A minha amiga e professora de inglês, Elsie C. B. Cruz agradeço por todo amor, pelas palavras de amizade, de esperança, pela sua alegria e caráter inestimável. Obrigada por me acolher como parte da sua família, ah, inclui-se toda a família Cruz neste trecho. Família linda e abençoada! Amo vocês!

Ao meu terapeuta João Burnier que tem me acompanhado nesses últimos oito meses. Agradeço por ajudar a me encontrar com o meu eu interior na busca do autoconhecimento. Agradeço por me ajudar a respirar quando parecia que o ar ia acabar. Enfim, sem palavras para agradecer, afinal, sabe né, não sou de falar muito, isso ainda é um processo, hahaha. Obrigada!

A família Heleodoro, Cristina R. S. Heleodoro, Agnaldo J. H. Arruda, João R. S. Heleodoro e Agnaldo J. H. Arruja Jr, por literalmente me adotarem, muito obrigada pela amizade família!

Aos meus pais, Anizia R. de O. Fagundes, Lourenço F. Mattos, ao meu irmão, Guilherme F. Mattos e a minha tia, Maria N. Souza, agradeço todo o amor, carinho, compreensão (às vezes não tão compreensivos com minha ausência), exemplos de honestidade e união. Amo vocês mais que tudo!

A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – e a FAPESP – Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo – pelo apoio financeiro (Processo 2013/11840-0), referente à bolsa de pós-graduação.

Ao IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – e ao ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) (40014-2 40014-3, 40014-4) – pela autorização de coleta dos exemplares estudados neste trabalho.

Agradeço imensamente a todas as pessoas que estiveram comigo ao longo desses quatro anos de estrada. Se por ventura esqueci-me de mencionar alguém, não fique triste e nem pense que sou mal agradecida, mas é que neste momento a memória já não vai tão bem.

Obrigada!

*Nada é mais real  
Que aprender maneira simples de viver  
Tudo é tão normal  
Se a gente não se cansa nunca de aprender  
Sempre olhar como se fosse à primeira vez  
Se espantar como criança a perguntar por quês?  
Vamos flutuar em um balão  
Que sobrevoa o amanhecer  
Vamos navegar  
Entre os navios no horizonte a se perder  
Nos lembrar  
Que tudo tem sua razão de ser  
E afinal eu quero apenas estar com você  
Sombras no céu já vem  
O anoitecer também com seus milhões de estrelas  
Que iluminarão mais uma vez  
Com a palidez da sua luz  
A imensidão que a gente vê  
(Maneira Simples – Almir Sater)*

*Do alto da arrogância qualquer homem  
Se imagina muito mais do que consegue ser  
É que vendo lá de cima, ilusão que lhe domina*

*Diz que pode muito antes de querer  
Querer não é questão, não justifica o fim*

*Pra quê complicação, é simples assim  
Focado no seu mundo qualquer homem*

*Imagina muito menos do que pode ver  
No escuro do seu quarto ignoro o céu lá fora*

*E fica claro que ele não quer perceber*

*Viver é uma questão de início, meio e fim*

*Pra quê a solidão, é simples assim*

*É, eu ando em busca dessa tal simplicidade*

*É, não deve ser tão complicado assim*

*É, se eu acredito, é minha verdade*

*É simples assim*

*E a vida continua surpreendentemente bela*

*Mesmo quando nada nos sorri*

*E a gente ainda insiste em ter alguma confiança*

*Num futuro que ainda está por vir*

*Viver é uma paixão do início, meio ao fim*

*Pra quê complicação, é simples assim*

*Eu vivo essa paixão do início, meio ao fim*

*Pra quê a solidão, é simples assim*

*(Simples Assim – Lenine e Dudu Falcão)*

*Hello darkness, my old friend  
I've come to talk with you again  
Because a vision softly creeping  
Left its seeds while I was sleeping  
And the vision that was planted in my  
brain  
Still remains within the sound of silence  
In restless dreams I walked alone  
Narrow streets of cobblestone  
'Neath the halo of a street lamp  
I turned my collar to the cold and damp  
When my eyes were stabbed  
By the flash of a neon light  
That split the night  
And touched the sound of silence  
And in the naked light I saw  
Ten thousand people, maybe more  
People talking without speaking  
People hearing without listening*

*People writing songs  
That voices never share  
And no one dare  
Disturb the sound of silence  
Fools, said I, you do not know  
Silence like a cancer grows  
Hear my words that I might teach you  
Take my arms that I might reach to you  
But my words like silent raindrops fell  
And echoed in the wells of silence  
And the people bowed and prayed  
To the neon God they made  
And the sign flashed out it's warning  
In the words that it was forming  
And the sign said  
The words of the prophets  
Are written on the subway walls  
And tenement halls  
And whispered in the sound of silence  
(The sound of silence - Simon e Garfunkel)*

## RESUMO

O subgênero *Tityus* (*Archaeotityus*) compreende escorpiões sedentários que vivem na serapilheira. Neste trabalho, seis espécies brasileiras de *Archaeotityus* (*Tityus clathratus*, *Tityus maranhensis*, *Tityus mattogrossensis*, *Tityus paraguayensis*, *Tityus pusillus* e *Tityus silvestris*) foram caracterizadas quanto ao número diploide e haploide, comportamento dos cromossomos durante a meiose, localização das regiões organizadoras nucleolares (NORs), sequências de DNA repetitivo, tais como de heterocromatina constitutiva, rDNA 28S e telomérica (TTAGG)<sub>n</sub> e marcadores epigenéticos (H3K9ac, H4K5ac, H3S10f, H3K4m2, H3K9m2, H3K9m3). Todas as espécies analisadas apresentaram cromossomos holocêntricos, meiose sináptica e aquiasmática e presença de cadeias cromossômicas na meiose I. Variação intraespecífica de número diploide e a presença de associações multivalentes formadas por um número variável de elementos foi visualizado dentro e entre as populações das cinco espécies. Metáfases espermatogoniais mostram: 2n=16, 2n=17 e 2n=18 em *T. paraguayensis*; 2n=16 e 2n=24 em *T. silvestris*; 2n=20 em *T. maranhensis*; 2n=19 e 2n=20 em *T. clathratus*, *T. mattogrossensis* e *T. pusillus*. Núcleos pós-paquitênicos revelaram uma alta variabilidade no número de bivalentes e/ou elementos envolvidos em associações multivalentes, dando destaque para *T. clathratus*, o qual mostrou 11 configurações meióticas distintas, e *T. pusillus* que exibiu células poliploides. Metáfases II indicaram que todos os cromossomos possuem disjunção regular e segregação balanceada. Metáfases mitóticas submetidas à impregnação por íon prata exibiram regiões organizadoras nucleolares localizadas na região terminal/subterminal de um par de cromossomos em todas as espécies. A heterocromatina constitutiva foi localizada na região terminal de um par de cromossomos. O emprego da técnica de FISH com sonda de rDNA 28S em células meióticas revelou cístrons ribossomais na região terminal de um bivalente em *T. clathratus*, *T. maranhensis*, *T. mattogrossensis*, *T. paraguayensis* e

*T. pusillus* e em dois cromossomos envolvidos em uma associação multivalente em *T. silvestris*. Cromossomos submetidos à FISH com sonda (TTAGG)<sub>n</sub> exibiram sinais teloméricos típicos na maioria dos elementos e/ou pelo menos uma extremidade cromossômica. Levando-se em conta todos os dados obtidos com a investigação de células mitóticas e meióticas, foi possível determinar a variabilidade intraespecífica e intrapopulacional de número diploide das espécies pertencentes à *Archaeotityus*, a qual ocorreu como consequência de rearranjos cromossômicos do tipo fissão/fusão e translocação recíproca. Desta forma, indivíduos que apresentaram mesmo número diploide diferiram quanto à organização dos cromossomos nas associações multivalentes. As seis populações amostradas de *T. mattogrossensis* revelaram características cromossômicas semelhantes, mas mostraram diferenças quanto aos cromossomos envolvidos na associação quadrivalente, o que pode ser indício do baixo fluxo gênico entre as populações. Em escorpiões, o estudo de modificações epigenéticas nas histonas H4K5ac, H3K9ac, H3K9me2, H3K9me3 e H3S10f está sendo realizado pela primeira vez neste trabalho. Os resultados revelaram que todos os cromossomos aparecem igualmente fosforilados durante as fases da meiose e que a extremidade dos cromossomos é hipertrimelitada. Esta última modificação parece estar relacionada à segregação dos cromossomos na meiose, os quais apesar de serem holocêntricos, possuem atividade cinética apenas nas regiões terminais dos cromossomos.

**Palavras-chave:** Cadeia cromossômica. Cromossomos holocêntricos. Meiose aquiasmática. Número diploide. Rearranjo cromossômico.

## ABSTRACT

The subgenus *Tityus* (*Archaeotityus*) comprises sedentary scorpions that live in the upper layers of the leaf litter. In this work, six Brazilian *Archaeotityus* species (*Tityus clathratus*, *Tityus maranhensis*, *Tityus mattogrossensis*, *Tityus paraguayensis*, *Tityus pusillus* and *Tityus silvestris*) were examined regarding to the diploid/haploid number, chromosome behavior during meiosis, repetitive DNA sequences (constitutive heterochromatin, 28S rDNA and telomeric (TTAGG)<sub>n</sub>), and epigenetic marks (H3K9ac, H4K5ac, H3S10f, H3K4m2, H3K9m2, H3K9m3). All analyzed species showed holocentric chromosomes, synaptic and achiasmatic meiosis, and chromosome chains in meiosis I. Intraespecific variation of diploid number and the presence of multivalent associations formed by a variable number of elements were visualized within and among populations of five species. Spermatogonial metaphase cells exhibited: 2n=16, 2n=17 and 2n=18 in *T. paraguayensis*; 2n=16 and 2n=24 in *T. silvestris*; 2n=20 in *T. maranhensis*, 2n=19 and 2n=20 in *T. clathratus*, *T. mattogrossensis* and *T. pusillus*. In postpachytene nuclei, a high variability in the number of bivalents and/or chromosomes involved in multivalent associations was verified. The most extreme variability occurred in *T. clathratus*, which showed 11 distinct chromosome configurations in meiosis, and *T. pusillus*, which exhibited polyploid cells. Metaphase II cells indicated that all chromosomes possess regular disjunction and balanced segregation. In all species, mitotic metaphase cells submitted to silver impregnation revealed two nucleolar organizer regions localized on terminal/subterminal chromosome sites. The constitutive heterochromatin was localized in the terminal region of the one chromosome pair. Meiotic cells submitted to FISH with 28S rDNA probe showed ribosomal cistrons in the terminal region of one bivalent-like element in *T. clathratus*, *T. maranhensis*, *T. mattogrossensis*, *T. paraguayensis* and *T. pusillus*, and in two chromosomes involved in a multivalent association in *T. silvestris*. FISH with (TTAGG)<sub>n</sub> probe exhibited typical



telomeric signals in most chromosomes or at least in one chromosome ends. Taking into account all results obtained through the investigation of mitotic and meiotic cells, we determine the intraspecific and intrapopulation variability in species of *Archaeotityus*, which occurred due to fission/fusion and reciprocal translocation rearrangements. Thus, individuals with the same diploid number differed regarding to chromosomal structure organization, giving rise to distinct multivalent associations observed in meiotic cells. The six populations investigated of *T. mattogrossensis* revealed similar chromosome features, but showed differences related to the number of chromosomes involved in a quadrivalent association. This data may be an indicative of low gene flow among the populations. In scorpions, the study about epigenetic modifications is been accomplished for the first time here. The results revealed that all chromosomes were homogeneously phosphorylated during meiosis and with terminal regions hypertrimethylated. This later histone modification seems to be related to chromosome segregation during meiosis, and have function in anchorage of spindle microtubules.

**Keywords:** Achiasmate meiosis. Chromosome chain. Chromosomal rearrangement. Diploid number. Holocentric chromosome.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. Considerações gerais sobre a ordem Scorpiones.....	17
1.2. Estudos citogenéticos em Scorpiones.....	22
1.3. Cromossomos holocêntricos, meiose sináptica e aquiasmática e rearranjos cromossômicos.....	25
2. OBJETIVOS.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1. MATERIAL.....	31
3.2. MÉTODOS.....	33
3.2.1. Obtenção das preparações cromossômicas.....	33
3.2.2. Coloração convencional com Giemsa.....	33
3.2.3. Técnica de impregnação das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-RON).....	34
3.2.4. Técnica de obtenção das bandas C.....	34
3.2.5. Colorações associadas.....	34
3.2.6. Extração do DNA.....	35
3.2.7. Obtenção e marcação das sondas de rDNA 28S e (TTAGG) <i>n</i> .....	35
3.2.7.1. Sonda de rDNA 28S.....	35
3.2.7.2. Sonda telomérica (TTAGG) <i>n</i> .....	37
3.2.8. Hibridização <i>in situ</i> fluorescente (FISH).....	37
3.2.9. Técnica de imunocitogenética.....	39
3.2.10. Análises cromossômicas.....	40
3.2.11. Medições cromossômicas.....	40
4. RESULTADOS.....	41
<b>Capítulo I</b> .....	<b>42</b>
High variability of multivalent associations in holocentric chromosomes of <i>Tityus</i> ( <i>Archaeotityus</i> ) scorpions (Scorpiones: Buthidae)	
Introduction.....	43
Material and Methods.....	46
Results.....	49
Discussion.....	65
Acknowledgements.....	72
References.....	72
<b>Capítulo II</b> .....	<b>82</b>
Modificações epigenéticas em cromossomos holocêntricos de <i>Tityus paraguayensis</i> (Scorpiones: Buthidae)	
Introdução.....	83
Material e Métodos.....	85
Resultados.....	86
Discussão.....	91
Agradecimentos.....	94
Referências.....	95

<b>Capítulo III</b>	<b>100</b>
Citogenética populacional de <i>Tityus mattogrossensis</i> (Scorpiones: Buthidae)	
<b>Introdução.....</b>	<b>101</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>103</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>106</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>113</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>116</b>
<b>Referências.....</b>	<b>116</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>123</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>125</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Considerações gerais sobre a ordem Scorpiones

A ordem Scorpiones, pertencente à classe Arachnida, possui aproximadamente 2,329 espécies descritas taxonomicamente, agrupadas em 163 gêneros e 18 famílias, o que corresponde a menos de 2% de todos os aracnídeos conhecidos. Provavelmente, esta diversidade esteja subestimada e cerca de 2/3 do total de Scorpiones existentes ainda não foram descritos (Prendini e Wheller 2005, Brasil e Ministério da Saúde 2009, Porto e Brazil 2010a, Rein 2017).

Os escorpiões são artrópodes quelicerados que surgiram há cerca de 400 milhões de anos atrás, no período Siluriano (Candido 1999, Prendini 2006). Inicialmente, os escorpiões ocupavam o ambiente marinho, sendo que os primeiros registros destes aracnídeos no ambiente terrestre datam de 325 a 350 milhões de anos atrás, no Período Carbonífero (Porto e Brazil 2010a). Os representantes da ordem Scorpiones possuem ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todos os continentes, com exceção da Antártida. Entretanto, são mais abundantes e diversificados em regiões tropicais e subtropicais, habitando a maioria dos ecossistemas terrestres tais como, desertos, savanas e florestas (Lourenço 2002, Lourenço e Eicksted 2009, Porto e Brazil 2010a). Algumas espécies podem ocupar ambientes extremos, como cavernas com completa ausência de luz, tal como relatado para *Rhopalurus lacrau* e *Throglorhopalurus translucidus*, ambos endêmicos de cavernas da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil (Lourenço et al. 2004, Gallão e Bichuette 2016). Adicionalmente, algumas espécies também se tornaram bem adaptadas a ambientes urbanos, um exemplo disso é o escorpião partenogenético *Tityus serrulatus* que tem se tornado abundante em várias cidades brasileiras (Cruz 1994, Prendini 2006). Desta forma, os escorpiões podem ser considerados ecologicamente generalistas, uma vez que ocupam os mais diversos ambientes (Lourenço e Eicksted 2009).

A família Buthidae é a mais numerosa e amplamente distribuída da ordem Scorpiones, com aproximadamente 900 espécies e 90 gêneros (Porto et al. 2010). Embora ainda não exista uma proposta filogenética completa para as famílias de escorpiões, com base em características morfológicas, embriológicas e toxicológicas, Buthidae pode ser considerada filogeneticamente basal dentro da ordem, sendo grupo-irmão de todas as outras 17 famílias existentes (Fet et al. 2000, 2003, Prendini e Wheeler 2005). A única análise filogenética proposta para esta família é parcial e foi realizada com apenas 17 gêneros, 13 dos quais exclusivos da fauna Paleártica (Fet et al. 2003). Tal estudo subdividiu os butídeos em dois grupos monofiléticos, “Velho Mundo” e “Novo Mundo”. Este resultado foi recentemente corroborado por Sharma et al. (2015) que recuperaram o monofiletismo de Buthidae e mostraram que as espécies no Novo Mundo formam um subclado irmão das espécies do Velho Mundo.

No Brasil, há registros de 130 espécies de escorpião que ocorrem em todas as regiões e biomas, pertencentes às famílias Bothriuridae, Buthidae, Chactidae e Liochelidae, com maior riqueza no norte e no nordeste do país (Porto et al. 2010). Buthidae é a família mais especiosa na fauna brasileira, sendo representada por 82 espécies agrupadas em oito gêneros: *Ananteris*, *Isometrus*, *Microtityus*, *Physoctonus*, *Rhopalurus*, *Tityus*, *Throglorhopalurus* e *Zabius* (Porto et al. 2010). Apesar de todos os escorpiões serem considerados animais peçonhentos, Buthidae é o único grupo que apresenta grande importância médica, devido ao fato do veneno de muitas espécies apresentarem toxicidade para os mamíferos (Soleglad e Fet 2003). No Brasil, os principais relatos de acidentes envolvendo escorpiões estão relacionados às espécies do gênero *Tityus*, tais como *Tityus bahiensis*, *Tityus obscurus*, *Tityus stigmurus* e *Tityus serrulatus*, sendo esta última responsável pelos casos mais severos (Candido 1999, Porto e Brazil 2010b, Albuquerque et al. 2013, Bucarechi et al. 2014). As taxas de escorpionismo têm aumentado gradativamente nos últimos anos, o que pode ser

consequência da expansão dessas espécies para ambientes urbanos (Bucarechi et al. 2014).

O gênero *Tityus*, que possui cerca de 210 espécies descritas, é o grupo mais especioso da fauna brasileira (54 espécies), seguido do gênero *Ananteris* (17 espécies) e *Rhopalurus* (seis espécies) (Porto et al. 2010). *Tityus* é caracterizado por apresentar espécies com tamanho entre 25 mm a 110 mm de comprimento, com coloração variada, que vai desde o amarelo até o negro, podendo ter manchas negras ou granulação bem marcada. O dimorfismo sexual é evidente em muitas espécies, uma vez que, apresentam diferenças morfométricas nos pedipalpos, no metassoma e nos pentes (Almeida 2010). Adicionalmente, devido a sua ampla distribuição, grande número de espécies descritas e ausência de características morfológicas que permitam diferenciar as espécies do gênero, *Tityus* pode ser considerado um grupo bastante complexo, o que torna o seu estudo bastante interessante (Riquelme et al. 2015). *Tityus* foi agrupado em cinco subgêneros com base em caracteres morfológicos e/ou de distribuição geográfica: *Tityus (Archaeotityus)* ( $\pm 28$  spp), *Tityus (Atreus)* ( $\pm 75$  spp), *Tityus (Brazilotityus)* ( $\pm 3$  spp), *Tityus (Caribetityus)* ( $\pm 10$  spp) e *Tityus (Tityus)* ( $\pm 69$  spp). As demais espécies do gênero ( $\pm 27$  spp) e/ou as recentemente descritas não foram classificadas nestes subgêneros (Lourenço 2006, 2012, Almeida 2010, Porto et al. 2010).

O subgênero *Tityus (Archaeotityus)* compreende escorpiões com tamanho de 18 mm a 40 mm, altamente pigmentados, com moderada granulação no corpo e nos pedipalpos, sobre um fundo que varia do amarelo claro ao avermelhado. *Tityus (Archaeotityus)* inclui espécies anteriormente reunidas no grupo “*Tityus clathratus*” e “*Tityus columbianus*”, sendo reconhecido pela sua pigmentação variegada e estrutura do telson e tubérculo subaculear fortemente romboides. Este subgênero encontra-se distribuído por toda a América do Sul, Panamá e Costa Rica (Lourenço 1984, 1992, 2006, Almeida 2010). No Brasil, são registradas sete espécies de *T. (Archaeotityus)* –

*Tityus bastosi*, *Tityus clathratus*, *Tityus maranhensis*, *Tityus mattogrossensis*, *Tityus paraguayensis*, *Tityus pusillus* e *Tityus silvestris* – cada qual distribuída em localidades bem específicas das regiões centro-oeste, norte, nordeste e sudoeste (Almeida 2010). Os representantes brasileiros de *T. (Archaeotityus)* estão mostrados na **Figura 1**. Adicionalmente, *T. (Archaeotityus)* apresenta espécies morfologicamente muito semelhantes, podendo apresentar variações intraespecíficas, o que requer uma análise taxonômica muito minuciosa. Deste modo, *Archaeotityus* pode ser considerado uma “*ochlopecies*”, termo este designado a espécies polimórficas cujas variações embora parcialmente correlacionadas com a ecologia e geografia são de um padrão tão complexo que não pode ser satisfatoriamente acomodado dentro de uma classificação taxonômica formal (Cronk 1998).

Um estudo ecológico realizado com *T. (Archaeotityus) pusillus* revelou que esses animais são sedentários e que habitam preferencialmente as camadas superiores da serapilheira, podendo coexistir com outras espécies de escorpiões. Neste caso, cada espécie ocupa micro habitats específicos, o que reduz a possibilidade de contato e subsequente conflito entre os indivíduos, além de diminuir a pressão de predação e partilha de recursos espaciais (Lira et al. 2013, Lira e DeSouza 2014). Conforme experiência pessoal em atividades de campo, o mesmo comportamento pode ser observado para as demais espécies de *T. (Archaeotityus)* estudadas neste trabalho, uma vez que todos os indivíduos (**Tabela 1**) foram coletados em serapilheira e, em alguns casos, ocorrendo junto com outras espécies, geralmente pertencentes ao gênero *Ananteris*.



**Fig. 1** – Representantes de *Tityus* (*Archaeotityus*) brasileiros. **A.** *Tityus clathratus*. **B.** *Tityus maranhensis*. **C.** *Tityus mattogrossensis*. **D.** *Tityus paraguayensis*. **E.** *Tityus pusillus*. **F.** *Tityus silvestris*. Fotos: D. Loebmann (**E**), D. Araújo (**D**), L. S. Carvalho (**B**), M. Cozijn (**A**, **F**), T. J. Porto (**C**).



## 1.2. Estudos citogenéticos em Scorpiones

As espécies de Scorpiones apresentam características cromossômicas bem peculiares, tais como: 1) cromossomos monocêntricos ou holocêntricos, sendo que tal diversidade dentro de um mesmo grupo tem sido raramente registrada para outros táxons; 2) meiose sináptica e aquiasmática, constituindo um tipo particular de meiose, que suscita questionamentos sobre os mecanismos responsáveis pela variabilidade em escorpiões, uma vez que não ocorre recombinação por *crossing over*; 3) altos índices de rearranjos cromossômicos originados por translocações ou fissões/fusões, os quais estão relacionados à grande variabilidade inter/intraespecífica de número diploide e de associações multivalentes na meiose I (Schneider et al. 2009a, Mattos et al. 2013, Schneider et al. 2015).

Citogeneticamente, somente 120 espécies de escorpiões pertencentes a 11 famílias foram caracterizadas (ver Schneider et al. 2017). Este número corresponde a menos de 5% de todas as espécies conhecidas taxonomicamente. O número diploide em escorpiões é extremamente variável,  $2n=5$  a  $2n=175$  (ver Schneider et al. 2017). Adicionalmente, Buthidae é a família mais amplamente estudada sob o ponto de vista citogenético e concentra mais de 50% das informações cromossômicas já conhecidas para Scorpiones. Os estudos citogenéticos em butídeos foram realizados em 70 espécies pertencentes a 25 gêneros distintos (ver Schneider et al. 2017). Entre os 25 gêneros já investigados citogeneticamente, sete pertencem ao clado “Velho Mundo” (*Androctonus*, *Buthacus*, *Buthus*, *Compsobuthus*, *Hottentotta*, *Leiurus* e *Mesobuthus*) e três ao clado “Novo Mundo” (*Centruroides*, *Lychas* e *Rhopalurus*), os outros 15 gêneros não foram incluídos nas análises filogenéticas (Fet et al. 2003). As informações cromossômicas parecem confirmar a monofilia de Buthidae, levando-se em conta que esta é a única família dentro de Scorpiones que possui cromossomos holocêntricos. O número diploide nos butídeos varia de  $2n=5$  a  $2n=56$ , sendo o  $2n=24$  o mais

frequentemente encontrado (ver Schneider et al. 2017). Os números encontrados são considerados relativamente baixo quando comparado aos números diploides encontradoa para as demais famílias, tais como  $2n=28-50$  em Bothriuridae,  $2n=50$  em Chactidae,  $2n=\pm 84$  em Euscorpiidae,  $2n=52-120$  em Scorpionidae,  $2n=29-175$  em Urodacidae. Além disso, quando classificados, os cromossomos das espécies destas famílias foram do tipo monocêntricos (ver Schneider et al. 2017).

Cerca de 1/3 dos representantes examinados exibiram variação intraespecífica (intra e/ou interpopulacional) no número cromossômico, o que pode envolver apenas um ou dois elementos, como em *Ananteris balzanii* ( $2n=12, 14$ ), *Isometrus maculatus* ( $2n=12, 14$ ) e *Lychas marmoreus* ( $2n=12, 14, 15$ ), ou diversos elementos, como em *Tityus bahiensis* ( $2n=5, 6, 7, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19$ ), *Buthus occitanus* ( $2n=22, 44, 56$ ) e *Uroplectes carinatus* ( $2n=20, 48$ ) (Carnoy 1885, Piza 1947a, b, 1949, 1950a, b, 1955, Makino 1956, Guénin 1961, Newlands e Martindale 1980, Shanahan 1989, Shanahan e Hayman 1990, Schneider et al. 2009a, Mattos et al. 2013). Estudos realizados em escorpiões sugerem que os rearranjos cromossômicos foram originados por translocações recíprocas ou por fissões/fusões. Na maioria dos casos, esses rearranjos deram origem a complexas associações multivalentes na meiose I (Schneider et al. 2009a, Mattos et al. 2013, Almeida et al. 2017).

Três espécies do subgênero *Archaeotityus* (*T. maranhensis*, *T. mattogrossensis* e *T. paraguayensis*), três *Atreus* (*Tityus magnimanus*, *Tityus metuendus* e *Tityus ythieri*) e nove de *Tityus* (*T. bahiensis*, *Tityus confluens*, *Tityus costatus*, *Tityus fasciolatus*, *Tityus martinpaechi*, *Tityus neglectus*, *T. serrulatus*, *T. stigmurus* e *T. trivittatus*) foram examinadas sob o ponto de vista citogenético (Piza 1947a, 1952, Kovarik et al. 2009, Schneider et al. 2009a, b, Schneider e Cella 2010, Mattos et al. 2013). Apesar do pequeno número de representantes analisados, os subgêneros *Archaeotityus* e *Atreus* apresentam número cromossômico entre  $2n=15$  a  $2n=20$ , enquanto que nos escorpiões

do subgênero *Tityus* uma maior variabilidade cariotípica foi observada ( $2n=5$  a  $2n=27$ ), com predominância de números diploides mais baixos do que aqueles observados nos outros subgêneros (ver Schneider et al. 2017). Espécies de todos os subgêneros analisados apresentaram cadeias cromossômicas, as quais podem envolver até todos os elementos do cariótipo (Schneider et al. 2009a, Mattos et al. 2013). As três espécies de *Archaeotityus* investigadas exibiram cadeias cromossômicas, envolvendo de quatro a oito cromossomos (Piza 1947a, Mattos et al. 2013). Adicionalmente, *T. (Archaeotityus) paraguayensis* apresentou células poliploides na meiose I, cuja ocorrência foi comprovada através de medições cromossômicas. No entanto, essa característica particular não foi encontrada em fases posteriores do ciclo celular (Mattos et al. 2013).

Até o presente momento, a presença de cromossomos sexuais morfologicamente diferenciados não tinha sido observada em escorpiões (ver Schneider et al. 2017). Recentemente, Adilardi et al. (2016) e Lima (2017) sugeriram a presença de cromossomos sexuais em *T. confluens* e *T. serrulatus*, respectivamente. *Tityus confluens* apresentou machos heterogaméticos e fêmeas homogaméticas para o gene ribossomal 28S, e situação inversa foi observada em *T. serrulatus* sendo, portanto o sistema cromossômico sexual destas espécies determinado como XY/XX e ZW/ZZ, respectivamente (Adilardi et al. 2016, Lima 2017).

A maioria dos estudos cromossômicos em Scorpiones foi realizada apenas em microscopia de luz, com técnicas de coloração convencional dos cromossomos. Esse tipo de análise é importante para estabelecer os números diploides e haploides de cromossomos, o comportamento dos cromossomos durante a meiose, principalmente quanto à associação e segregação e verificar a ocorrência de variações cromossômicas intra/interespecíficas e/ou interindividuais. No entanto, o emprego de metodologias para identificar regiões cromossômicas específicas, como heterocromatina constitutiva, regiões organizadoras do nucléolo, cístrons ribossomais e sequências repetitivas, como

aquelas presentes nos telômeros, além de possibilitar uma melhor caracterização cromossômica das espécies, pode fornecer dados que permitam esclarecer os mecanismos responsáveis pelas variações cromossômicas. Desta forma, estudos citogenéticos moleculares tem se mostrado útil para identificar rearranjos cromossômicos não perceptíveis em células meióticas examinadas somente com técnicas de citogenética clássica. Mattos et al. (2014) verificaram que indivíduos de *T. confluens* portadores das mesmas configurações cromossômicas durante a prófase I (cinco bivalentes mais uma associação trivalente) diferiram quanto a localização dos cístrons ribossomais, ou seja, em alguns espécimes o rDNA 45S estava localizado em elementos envolvidos nas associações multivalentes, enquanto em outros, estes sítios ocorriam em elementos totalmente sinapsados semelhante a bivalentes. Adicionalmente, a análises moleculares podem revelar a presença de sistemas cromossômicos sexuais diferenciados, tal como descrito acima.

### **1.3. Cromossomos holocêntricos, meiose sináptica e aquiasmática e rearranjos cromossômicos**

Os cromossomos holocêntricos são caracterizados pela ausência de uma constrição ou região específica para a ligação das proteínas do cinetócoro, que conectam os cromossomos as fibras do fuso durante a divisão celular (Cunha e Pavan 1954, Bongiorne et al. 2004, Melters et al. 2012, Escudero et al. 2016). Esse comportamento cinético pode permitir que os microtúbulos liguem-se ao longo de todo o comprimento cromossômico durante a divisão celular. Desta forma, os cromossomos e/ou cromátides movem-se paralelamente na anáfase, formando um ângulo reto com as fibras do fuso (Bongiorne et al. 2004). Os cromossomos holocêntricos também podem ser diferenciados dos monocêntricos quanto ao tamanho da região centromérica em relação ao comprimento total do cromossomo, isto é, nos holocêntricos a porção do cromossomo que interage com os microtúbulos é grande, em contraste com os

monocêntricos, nos quais esta região é pequena (Wolf 1996). Nos cromossomos holocêntricos, podem-se destacar ainda diferenças quanto aos tipos de placas cinetocóricas, tais como: 1) aquelas que se estendem pela maioria ou totalidade do comprimento cromossômico (Albertson e Thompson 1982), 2) várias placas localizadas ao longo do comprimento cromossômico (Gama et al. 1981), 3) uma placa cinetocórica que ocupa menos da metade da extensão cromossômica (Wolf et al. 1992), 4) ausência de placa cinetocórica (Shanahan e Hayman 1990, Schneider et al. 2009a). Em alguns casos ainda, os cromossomos holocêntricos se comportam como cromossomos monocêntricos, restringindo sua atividade cinética à região terminal dos cromossomos (comportamento telocinético) como verificado em Heteroptera e Nematoda (Pimpinelli e Goday 1989, Perez et al. 2000, Viera et al. 2009).

Estudos imunocitogenéticos realizados em espécies que possuem cromossomos holocêntricos, como Heteroptera, têm mostrado que alterações epigenéticas sofridas pelos cromossomos durante a divisão celular, podem especificar domínios para a ligação dos microtúbulos do fuso de divisão. A ligação dos cromossomos aos microtúbulos do fuso de divisão tem importância fundamental para direcionar os cromossomos no momento da segregação e permitir que ocorra a divisão reducional dos cromossomos na meiose I (Viera et al. 2009). Levando isso em consideração, é curioso notar que a trimetilação da lisina 9 da histona H3 é restrita as regiões terminais dos autossomos, tal modificação epigenética faz com que a atividade cinética dos cromossomos fique limitada as extremidades, ou seja, os cromossomos holocêntricos funcionam como monocêntricos durante a meiose (Viera et al. 2009). No entanto, a característica mais peculiar é que embora ambas as extremidades dos cromossomos possam adquirir a atividade cinética devido à modificação da histona H3, apenas uma delas torna-se ativa. Isto possibilita que cada bivalente adquira pelo menos duas orientações alternativas na metáfase I. A escolha da extremidade cromossômica

que se torna ativa cineticamente está frequentemente relacionada à presença de quiasma na extremidade oposta do bivalente. Desta forma, os escorpiões constituem um grupo extremamente interessante para análise de modificações epigenéticas, uma vez que dentro de Arachnida, são os únicos animais em que todas as espécies citogeneticamente analisadas parecem ter meiose aquiasmática em pelo menos um dos sexos (Schneider et al. 2009a, b).

Adicionalmente, a análise de modificações epigenéticas em histonas de cromossomos holocêntricos pode revelar características de expressão gênica e condensação cromossômica, bem como, se as extremidades dos cromossomos estão envolvidas com a segregação durante a meiose. Este processo pode ajudar a compreender como os elementos envolvidos em associações multivalentes são orientados e segregam de modo alternado durante a meiose I, produzindo gametas balanceados.

Os mecanismos que produzem alterações no número cromossômico parecem ser semelhantes para os cromossomos monocêntricos e holocêntricos (Luceño e Guerra 1996). Porém, no caso dos cromossomos monocêntricos, determinados rearranjos podem originar segmentos cromossômicos acêntricos ou dicêntricos, os quais são usualmente perdidos durante a divisão celular. Por outro lado, os fragmentos cromossômicos gerados por rearranjos podem ter uma segregação regular em espécies que possuem cromossomos do tipo holocêntrico (Wolf 1996, Dernburg 2001). Os rearranjos cromossômicos, principalmente aqueles presentes em condição heterozigota, como verificado em escorpiões, acarretam na redução da fertilidade devido a problemas meióticos (Fossey et al. 1989, Kingswood et al. 1994). No entanto, os efeitos prejudiciais dos rearranjos heterozigotos sobre a fertilidade podem ser diminuídos, quando os gametas não balanceados são eliminados ou a frequência de recombinação cromossômica é drasticamente reduzida (Reed et al. 1992, Kingswood et al. 1994).

A ocorrência de altos índices de rearranjos cromossômicos heterozigotos em Buthidae também pode ter uma relação com a estrutura populacional e o padrão de dispersão de algumas espécies. Schneider et al. (2009a) sugeriram que a grande diversidade de número diploide e de configurações cromossômicas multivalentes observadas durante a meiose I de uma população de *T. bahiensis*, coletada em uma área urbana, pode ser resultado da alta incidência de endocruzamento entre os indivíduos. Tal endocruzamento pode ser mais frequente em espécies que ocupam ambientes modificados, as quais devido à abundância de alimento podem viver agregadas em um micro-habitat e apresentar uma dispersão reduzida. Cioffi et al. (2015) relataram que, apesar das espécies de peixes da família Channidae apresentarem uma ampla distribuição geográfica, sua baixa vagilidade facilita a manutenção de rearranjos cromossômicos em populações pequenas, o que resulta em um aumento na diversidade cariotípica.

O estudo da meiose é fundamental para determinar a influência dos rearranjos cromossômicos sobre o processo reprodutivo e, conseqüentemente, sua importância para a especiação, de modo especial, em espécies que vivem em ambientes naturais. Além disso, a comparação entre populações que habitam diferentes localidades pode fornecer dados que indiquem uma possível causa para as altas frequências de rearranjos heterozigotos presentes nas espécies.

Embora o sistema meiótico aquiasmático pareça mais simples que o quiasmático, o primeiro provavelmente evoluiu de modo secundário, uma vez que foi registrado em espécies de grupos filogeneticamente não relacionados, e pode ocorrer de três formas distintas: 1) com formação e manutenção do complexo sinaptonêmico de modo regular e semelhante às espécies que possuem meiose quiasmática; 2) o complexo sinaptonêmico é organizado, mas não persiste até o final do paquíteno; 3) o complexo sinaptonêmico está ausente (John 1990). Existem várias hipóteses para

explicar o significado evolutivo deste tipo particular de meiose, como a seleção favorecendo uma baixa frequência de recombinação, e a preservação de certas combinações alélicas que estariam coadaptadas e funcionariam como um supergenes (Altiero e Rebecchi 2003, Ituarte e Papeschi 2004). Para os escorpiões, ainda não há dados suficientes para explicar o significado da meiose aquiasmática; no entanto, este tipo particular de meiose pode estar relacionado aos altos níveis de rearranjos cromossômicos heterozigotos presentes em espécies deste táxon.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com a análise citogenética de seis espécies brasileiras pertencentes ao subgênero *Archaeotityus* permitiram constatar:

- Presença de cromossomos holocêntricos, meiose sináptica e aquiasmática e associações multivalentes na meiose I.
- Variabilidade de número diploide e de cadeias cromossômicas dentro e entre as espécies e populações.
- O número diploide descrito para as seis espécies de *Archaeotityus* variou de  $2n=16$  a  $2n=24$ .
- *Tityus clathratus* revelou até 11 configurações meióticas, sendo a espécie que apresentou maior variabilidade em células pós-paquitênicas. Adicionalmente, *Tityus pusillus* revelou células poliploides na meiose I.
- Rearranjos cromossômicos do tipo fissão/fusão e translocação recíproca foram os responsáveis pela formação das associações multivalentes e variabilidade do número diploide observados em células meióticas e mitóticas, respectivamente.
- Características cariotípicas similares com diferenças tênues em relação ao comportamento dos cromossomos em células pós-paquitênicas revelaram o baixo fluxo gênico entre as diferentes populações de *T. mattogrossensis*.
- A baixa quantidade de heterocromatina constitutiva localizada apenas na região terminal de um par de cromossomos é uma característica comum para as espécies de *Archaeotityus*.
- O número de localização de sítios de rDNA 28S na região terminal de um par de cromossomos parece ser uma característica conservada para a família Buthidae apesar dos altos índices de rearranjos.

- A presença da sequência telomérica (TTAGG)<sub>n</sub> apenas nas regiões distais dos cromossomos, sem evidência de ITS, indicam que apesar dos altos índices de rearranjos observados essa sequência é mantida.
- Padrões de modificação de histonas, tais como, acetilação, metilação e fosforilação revelaram modificações sequenciais relacionadas à transcrição, condensação, coesão e segregação dos cromossomos holocêntricos de *T. paraguayensis*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adilardi RS, Ojanguren-Affilastro AA, Mola LM (2016). Sex-linked chromosome heterozygosity in males of *Tityus confluens* (Buthidae): a clue about the presence of sex chromosomes in scorpions. **PLoS ONE** 11(10):1-18.
- Albertson DG, Thomson JN (1982). The kinetochore of *Caenorhabditis elegans*. **Chromosoma** 86:409-482.
- Albuquerque CM, Santana Neto PL, Amorim ML, Pires SC (2013). Pediatric epidemiological aspects of scorpionism and report on fatal cases from *Tityus stigmurus* stings (Scorpiones: Buthidae) in State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 46:484-489.
- Almeida BRR, Milhomem-Paixão SSR, Noronha RCR, Nagamachi CY, Costa MJR, Pardal PPO, Coelho JS, Pieczarka JC (2017). Karyotype diversity and chromosomal organization of repetitive DNA in *Tityus obscurus* (Scorpiones, Buthidae). **BMC Genetics** 18:35.
- Almeida, RB (2010). Atlas das espécies de *Tityus* C. L. Koch, 1836 (Scorpiones, Buthidae) do Brasil. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo 161pp.
- Altiero T, Rebecchi L (2003). First evidence of achiasmatic male meiosis in the water bears *Richtersius coronifer* and *Macrobius richtersi* (Eutardigrada, Macrobiotidae). **Hereditas** 139:116-120.
- Bongiorno S, Fiorenzo P, Pippoletti D, Prantera G (2004). Inverted meiosis and meiotic drive in melybugs. **Chromosoma** 112:331-341.
- Brasil e Ministério da Saúde (2009). Manual de Controle de Escorpiões. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Brasília, DF. Disponível: [ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/zoo/manu09\\_escorpioes.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/manu09_escorpioes.pdf).

- Bucarechi F, Fernandes LCR, Fernandes CB, Branco MM, Prado CC, Vieira RJ, DeCapitani EM, Hyslop S (2014). Clinical consequences of *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus* scorpion stings in the region of Campinas, southeastern Brazil. **Toxicon** 89:17-25.
- Candido DM (1999). Escorpiões, p. 22-34. In: Joly CA, Bicudo CEM. Biodiversidade do Estado de São Paulo. Invertebrados terrestres. São Paulo. **FAPESP**.
- Carnoy JB (1885). La cytogiérèse chez les arthropods. **Cellule** 1:189-440.
- Cioffi MB, Bertollo LAC, Villa MA, Oliveira EA, Tanomtong A, Yano CF, Supiwong W, Chaveerach (2015). Genomic organization of repetitive DNA elements and its implications for the chromosomal evolution of channid fishes (Actinopterygii, Perciformes). **PLoS ONE** 10(6): e0130199.
- Cronk QCB (1998). The ochlopecies concept. In: Huxley CR, Lock JM, Cutler DF. Chorology, taxonomy and ecology of the floras of Africa and Madagascar. Pp 155-170.
- Cruz EFS (1994). Biologia de escorpiões, p. 135-150. In: Barraviera B. Venenos animais – uma visão integrada. Rio de Janeiro. **Editora de Publicações Científicas Ltda**.
- Cunha AB, Pavan C (1954). Duas novas configurações cromossômicas em *Tityus bahiensis* (Scorpiones, Buthidae). **Ciência e Cultura** 6:18-20.
- Cupo P, Herling SE (2002). Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. **Toxicon** 40:823-830.
- Dernburg AF (2001). Here, there, and everywhere: kinetochore function on holocentric chromosomes. **The Journal of Cell Biology** 153(6):33-38.
- Escudero M, Márquez-Corro IM, Hipp AL (2016). The phylogenetic origins and evolutionary history of holocentric chromosomes. **Systematic Botany** 41(3):580-585.

- Fet V, Gantenbein B, Gromov AV, Lowe G, Lourenço WR (2003). The first molecular phylogeny of Buthidae. **Euscorpius**. 4:1-10.
- Fet V, Sissom WD, Lowe G, Braunwalder ME (2000). Catalog of the scorpions of the world (1758-1998). **New York Entomological Society** 690p.
- Fossey A, Liebenberg H, Jacobs DH (1989). Karyotype and meiosis studies in three south African *Pyrgomorphaspecies* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). **Genetica** 78:179-183.
- Gallão JE, Bichuette ME (2016). On the enigmatic troglobitic scorpion *Throglorhopalurus translucidus*: distribution, description of adult females, life history and comments on *Rhopalurus lacrau* (Scorpiones: Buthidae). **Zoologia** 33(6):e20150193.
- Gama V, Landim CC, Ferreira A (1981). Estudos morfológicos da estrutura dos cinetochores de *Enallagma chelifera* (Odonata). **Naturalia** 6:75-87.
- Guénin HA (1961). Contribution a la connaissance cytologique des scorpions: les chromosomes de *Buthus occitanus* Amor (I). **Vie et Milieu** 12:89-96.
- Howell WM, Black DA (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia** 36:1014-1015.
- Ituarte S, Papeschi AG (2004). Achiasmatic male meiosis in *Tenagobia (Fuscagobia) fuscata* (Stal) (Heteroptera, Corixoidea, Micronectidae). **Genetica** 122:199-206.
- John B (1990). Meiosis. Cambridge University Press, Melbourn.
- Kingswood SC, Kumamoto AT, Sudman PD, Fletcher KC, Greenbaum IF (1994). Meiosis in chromosomally heteromorphic goitered gazelle, *Gazella subgutturosa* (Artiodactyla, Bovidae). **Chromosome Research** 2:37-46.
- Kovarík F, Stahlavsky F, Korinková T, Kral J, Ende T (2009). *Tityus ythieri* Lourenço, 2007 is a synonym of *Tityus magnimanus* Pocock, 1897 (Scorpiones: Buthidae):

a combined approach using morphology, hybridization experiments, chromosomes, and mitochondrial DNA. **Euscorpium** 77:1-12.

Lima JF (2017). Análise citogenética de escorpiões da fauna brasileira com ênfase nas sequências de DNA repetitivo. Dissertação apresentada pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Universidade Federal de São Paulo 83pp.

Lira AFA, DeSouza AM (2014). Microhabitat use by scorpion species (Arachnida:Scorpiones) in the montane Atlantic Rain Forest, Brazil. **Revista Ibérica de Aracnología** 24:107-108.

Lira AFA, Souza AM, Filho AAC, Albuquerque CMR (2013). Spatio-temporal microhabitat use by to co-occurring species of scorpions in Atlantic rainforest in Brazil. **Zoology** 116(3):182-185.

Lourenço W (1984). Analyse taxonomique de scorpions du groupe *Tityus clathratus* Koch, 1845 (Scorpiones, Buthidae). **Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle** 6:439-360.

Lourenço W (1992). Biogéographie des espèces du groupe naturel *Tityus clathratus* (Chelicerata, Scorpiones, Buthidae). **Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle** 14:473-481.

Lourenço W (2012). Further considerations on *Tityus (Archaeotityus) clathratus* C. L. Koch, 1844 and description of two associated new species (Scorpiones, Buthidae). **Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa** 50:277-283.

Lourenço WR (2006). Nouvelle proposition de découpage sous-générique du genre *Tityus* C. L. Koch, 1836 (Scorpiones, Buthidae). **Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa** 39:55-67.

Lourenço WR, Baptista RLC, Giupponi APL (2004). Troglobitic scorpions: a new genus and species from Brazil. **Comptes Rendus Biologies** 327:1151-1156.

- Lourenço WR, Eickstedt VR (2009). Escorpiões de Importância Médica. In: CARDOSO, J. L. C. et al. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: **Sarvier** 198-213.
- Lourenço, WR (2002). Amazonian Arachnida and Myriapoda: Identification keys to all classes, orders, families, some genera and lists of known terrestrial species. In: J. Adis (org.). Moscow: Pensoft Publishes. **Scorpiones** 399-438.
- Luceño M, Guerra M (1996). Numerical variations in species exhibiting holocentric chromosomes: a nomenclatural proposal. **Caryologia** 49:301-309.
- Makino D (1956). A review of the chromosome number in animals. Tokyo: Hokurykan.
- Mattos VF, Carvalho LS, Cella DM, Schneider MC (2014). Location of 45S ribosomal genes in mitotic and meiotic chromosomes of buthid Scorpions. **Zoological Science** 31:603-607.
- Mattos VF, Cella DM, Carvalho LS, Schneider MC (2013). High chromosome variability and the presence of multivalent associations in buthid scorpions. **Chromosome Research** 21:121-136.
- Melters PD, Paliulius LV, Korf IF, Chan SWL (2012). Holocentric chromosomes: convergent evolution, meiotic adaptations, and genomic analysis. **Chromosome Research** 20:579-593.
- Newlands G, Martindale CB (1980). The buthid scorpion fauna of Zimbabwe Rhodesia with checklist and keys to the genera and species, distributions and medical importance (Arachnida: Scorpiones). **South African Institute for Medical Research** 67:51-77.
- Nunn GB, Theisen BF, Christensen B, Arctander P (1996). Simplicity-correlated size growth of the nuclear 28S ribosomal RNA D3 expansion segment in the crustacean order isopoda. **Journal of Molecular Evolution** 42:211-223.

- Perez R, Rufas JS, Suja JA, Page J, Panzera F (2000). Meiosis in holocentric chromosomes orientation and segregation of an autosome and sex chromosomes in *Triatoma infestans* (Heteroptera). **Chromosome Research** 8:17-25.
- Pimpinelli S, Goday C (1989). Unusual kinetochores and chromatin diminution in *Parascaris*. **Trends in Genetics** 5:310-315.
- Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986). Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America** 83:2934–2938.
- Piza ST (1947a). Notas sobre cromossômios de alguns escorpiões brasileiros. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz** 62:169-176.
- Piza ST (1947b) Interessante comportamento dos cromossômios na espermatogênese do escorpião *Isometrus maculatus* De Geer. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”** 62:177-182.
- Piza ST (1949). “Ouro Preto”, nova e interessante raça cromossômica de *Tityus bahiensis* (Scorpiones – Buthidae). **Scientia Genetica** 3:147-159.
- Piza ST (1950a). Variações cromossômicas do *Tityus bahiensis* de Ribeiro Preto. **Ciência e Cultura** 2:57-59.
- Piza ST (1950b). Observações cromossômicas em escorpiões brasileiros. **Ciência e Cultura** 2:202-206.
- Piza ST (1952). Primeiras observações sobre os cromossômios de *Tityus metuendus* Pocock. **Scientia Genetica** 4:162-167.
- Piza ST (1955). Notable geographical expansion of a peculiar type of chromosomal constitution of the cosmopolitan scorpion *Isometrus maculatus*. **Arquivos do Museu Nacional** 42:611-612.



- Porto TJ, Brazil TK (2010a). Quem são os escorpiões? p. 15-32. In: Brazil TK, Porto TJ. Os escorpiões. Bahia. **EDUFBA** 83pp.
- Porto TJ, Brazil TK (2010b). Os escorpiões de importância médica e seus venenos, p. In: Brazil TK, Porto TJ. Os escorpiões. Bahia. **EDUFBA** 83pp.
- Porto TJ, Brazil TK, Souza CAR (2010). Diversidade de escorpiões do Brasil, p. 43-63. In: Brazil TK, Porto TJ. Os escorpiões. Bahia. **EDUFBA** 83pp.
- Prendini L (2006). Why study scorpions? <http://scorpion.amnh.org/page3/page3.html>
- Prendini L, Wheeler WC (2005). Scorpion higher phylogeny and classification, taxonomy anarchy, and standards for peer review in online publishing. **Cladistics** 21:446-494.
- Reed KM, Sites JW Jr, Greenbaum IF (1992). Synapsis, recombination, and meiotic segregation in the mesquite lizard, *Sceloporus grammicus*, complex. I. Pericentric inversion heteromorphism of the F5 cytotype. *Cytogenetic and Cell Genetic* 61:40–45.
- Rein JO. (2017). The Scorpion files. Disponível em: [http:// www.ntnu.no/scorpion-files](http://www.ntnu.no/scorpion-files).
- Riquelme F, Villegas-Guzmán G, González-Santillán E, Córdova-Tavares V, Francke OF, Piedra-Jiménez D, Estrada-Ruiz E, Luna Castro B (2015). New fossil scorpion from the Chiapas Amber lagerstätte. **PLoS ONE** 10(8):e0133396.
- Schneider MC, Cella DM (2010). Karyotype conservation in 2 populations of the parthenogenetic scorpion *Tityus serrulatus* (Buthidae): rDNA and its associated heterochromatin are concentrated on only one chromosome. **Journal of Heredity** 101:491-496.
- Schneider MC, Mattos VF, Carvalho LS, Cella DM (2015). Organization and behaviour of the synaptonemal complex during achiasmatic meiosis of four buthid scorpions. **Cytogenetic and Genome Research** 144(4): 341-347.

- Schneider MC, Mattos VF, Cella DM (2017). The scorpion cytogenetic database. Disponível em: <http://www.arthropodcytogenetics.bio.br/scorpionsdatabase/index.html>
- Schneider MC, Zacaro AA, Pinto-da-Rocha R, Candido DM, Cella DM (2009a). Complex meiotic configuration of the holocentric chromosomes: the intriguing case of the scorpion *Tityus bahiensis*. **Chromosome Research** 17:883-898.
- Schneider MC, Zacaro AA, Pinto-da-Rocha, Candido DM, Cella DM (2009b). A comparative cytogenetic analysis of 2 Bothriuridae species and overview of the chromosome data of Scorpiones. **Journal of Heredity** 100:545-555.
- Shanahan CM, Hayman DL (1990). Synaptonemal complex formation in male scorpions exhibiting achiasmatic meiosis and structural heterozygosity. **Genome** 33: 914–926.
- Shanahan CM (1989). Cytogenetics of Australian scorpions. I. Interchange polymorphism in the family Buthidae. **Genone** 32:882-889.
- Sharma PP, Fernández R, Esposito LA, González-Santillán E, Monod L (2015). Phylogenomic resolution of scorpions reveals multilevel discordance with morphological phylogenetic signal. **Proceedings of the Royal Society of London** 282:20142953.
- Soleglad ME, Fet V (2003). High level systematics and phylogeny of the extant scorpions (Scorpiones:Orthosterni). **Euscorpius** 11:1-175.
- Sumner AT (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research** 75:304-306.
- Viera A, Page J, Rufas JS (2009). Inverted meiosis: the true bugs as a model to study, p. 137-156. In: Meiosis. Editores: Benavente R, Volff JN. **Karger**.

Wolf KW (1996). The structure of condensed chromosomes in mitosis and meiosis of insects. **International Journal of Insect Morphology and Embryology** 25:37–62.

Wolf KW, Nova KK, Marec F (1992). Chromosome structure in spermatogenesis of *Anabolia furcata* (Trichoptera). **Genome** 35:46-52.