MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM ZOOLOGIA

DESCRIÇÃO CARIOTÍPICA DE PEIXES DOS GÊNEROS *Baryancistrus*, *Parancistrus, Peckoltia* e *Ancistrus* (ANCISTRINAE, LORICARIIDAE) DA BACIA AMAZÔNICA.

AUGUSTO CÉSAR PAES DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Julio César Pieczarka

BELÉM-PA

2003

AUGUSTO CÉSAR PAES DE SOUZA

DESCRIÇÃO CARIOTÍPICA DE PEIXES DOS GÊNEROS *Baryancistrus*, *Parancistrus*, *Peckoltia* e *Ancistrus* (ANCISTRINAE, LORICARIIDAE) DA BACIA AMAZÔNICA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará como requisito obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Julio César Pieczarka

BELÉM-PA

2003

AUGUSTO CÉSAR PAES DE SOUZA

DESCRIÇÃO CARIOTÍPICA DE PEIXES DOS GÊNEROS *Baryancistrus*, *Parancistrus, Peckoltia* e *Ancistrus* (ANCISTRINAE, LORICARIIDAE) DA BACIA AMAZÔNICA.

Dissertação aprovada como requisito para obtenção de grau de Mestre no curso de Pós-graduação em Zoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador:

Prof. Dr. Júlio César Peicsarka
Departamento de Genética da UFPA

Profª. Drª. Eliana Feldberg
Instituto de Pesquisa da Amazônia

Prfª. Drª. Cleusa Yoshiko Nagamachi
Departamento de Genética da UFPA

Prof. Dr. Edivaldo H. C. de Oliveira
Departamento de Genética da UFPA

Profª. Drª. Maria R. de S. Barros (Suplente)
Departamento de Genética da UFPA

Belém, 13 de junho de 2003

"Não há nada que atrapalhe mais
o desenvolvimento científico
do que o desejo de que aconteça
rápido demais"

(Georg Lichtenber)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais Manoel e Rosa Paes de Souza, aos meus irmãos Sandro, Simony e Marcelo, que sempre me apoiaram nos momentos difíceis da minha vida, a minha namorada Ana Cássia S. Ferreira, pelo seu amor carinho e compreensão.

"É muito importante que o homem
tenha ideais. Sem eles não se vai a parte alguma".
"A arte de escutar é como uma luz
que dissipa a escuridão da ignorância".
(Dalai Lama)

AGRADECIMENTOS

Expresso meus agradecimentos ao curso de Pós Graduação em Zoologia do Museu Paraense Emilio Goeldi e Universidade Federal, pelas excelentes condições oferecidas durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Júlio César Pieczarka, meu orientador, em quem sempre tentei me espelhar, por ser sempre atencioso com todos, inteligente e muito ponderado, muito lhe admiro. Agradeço pela oportunidade oferecida e confiança em mim depositada, pelas sugestões, críticas, amizade e paciência que foram importantes para a realização dessa dissertação.

À Drª. Eliana Feldberg, minha co-orientadora, por quem tenho uma grande admiração e respeito, agradeço por seus conhecimentos em citogenética de peixes que foram indispensáveis na elaboração deste trabalho.

Aos participantes da banca examinadora: **Prof. Dr. Júlio César Peicsarka** (UFPA-Belém-PA); **Profª. Drª. Eliana Feldberg** (INPA); **Profª. Drª. Cleusa Yoshiko Nagamachi** (UFPA-Belém-PA); **Prof. Dr. Edivaldo H. C. de Oliveira** (UFPA-Belém-PA) e **Profª. Drª. Maria R. de S. Barros** (UFPA-Belém-PA), pela apreciação, sugestões e críticas apresentadas.

À CAPES pela bolsa concedida.

À FUNTEC pelos financiamentos concedidos ao projeto de pesquisa da dissertação, sem os quais as coletas nos rios Jarí e Xingu não seriam realizadas.

Ao IBAMA-PA, pela permissão da licença para a coleta de peixes; e também a Carminha do IBAMA-Belém, pelo apoio e ajuda.

Aos pescadores Ziel (rio Jarí) e Abel (Rio Xingu), sem a ajuda dos quais seria impossível coletar uma quantidade de peixes satisfatória para as análises.

Às secretárias Dorotéa e Ana Cristina da Pós Graduação do museu Emilio Goeldi que sempre fizeram o possível para me ajudar quando precisei.

A Rosália Cutrim do CPNOR/IBAMA, pela sua amizade e ajuda, que foram essenciais para a liberação das coletas.

Às professoras Regina Barros e Cleusa Nagamachi pelo auxílio, amizade e sugestões que foram muito importantes durante a preparação da dissertação e ainda continua sendo durante a minha formação acadêmica.

Aos amigos do laboratório de Citogenética Animal da UFPA, Nelson, Edivaldo,

Renata, Sandra, Conceição, Marcela e Rafael, agradeço pelas brincadeiras e paciência que tiveram comigo durante esses anos.

Alguns desses amigos tornaram-se para mim uma extensão da minha família, e para eles não existiam dificuldades e nem momento para me ajudar, para essas pessoas eu tenho um grande carinho e admiração. São elas:

O casal Paulo Amaral e Liane Finotello, pela grande amizade e as inúmeras vezes que me ajudaram a levar e trazer o material de coleta.

O casal Daniela e Anderson, pela amizade, carinho e dicas que me deram no início do meu estágio no laboratório.

Jorge Rissino, que apesar de ser Pays... (sinto muito não consigo terminar este nome), nunca mediu esforços para tentar me ajudar a conseguir sempre um resultado melhor com cultura de sangue e de tecido.

O doutorando Luis Reginaldo, que me deu muitas dicas logo que cheguei no laboratório, ensinou-me a melhorar as fotos, a técnica de CMA_3 e DAPI além de quase sempre tomar uma cerveja comigo, no vadião ou em qualquer bar.

Ao trio parada dura Aline Lira, Susana Milhomem e Roberta de Castro, pela paciência, dedicação e competência graças a elas a citogenética de peixes vai de vento em polpa no laboratório.

Aos grandes amigos Jaime Carvalho e Ivan da ONG CENJA, foi graças a eles que eu pude coletar os peixes. Sem dúvida a amizade de vocês foi uma das maiores recompensas que tive nesses dois anos de coletas.

Aos grandes amigos que me acompanham desde os tempos de graduação: Sandro, Rommel, Gil, Pablo, Nelison, Leopoldo, Eleonidas, Rodolfo, Nívea, Suzana, Márcia, Tatiana, Terezinha e Adriana, pelo companheirismo e apoio nos momentos difíceis.

À minha namorada, amiga e grande amor Ana cássia Sarmento Ferreira, que sempre está ao meu lado e muito me ajudou na elaboração da dissertação.

Aos meus pais Manoel Pereira de Souza e Rosa Paes de Souza, aos meus irmãos Sandro, Simony e Marcelo, que independente de qualquer situação sempre estiveram ao meu lado.

E finalmente a Deus por ter me concedido tudo isto que foi relatado acima.

SUMÁRIO

Páginas.

LISTA DE FIGURAS ..... **vii**

LISTA DE TABELAS ..... **xii**

RESUMO ..... **xiv**

ABSTRACT ..... **xv**

1 – INTRODUÇÃO **1**

1.1 – ASPECTOS GERAIS DA FAUNA ICTIOLÓGICA DA AMAZÔNIA. 1

1.2 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS SILURIFORMES. 3

1.3 – A FAMÍLIA LORICARIIDAE. 5

1.3.1 – Considerações Sobre a Subfamília Ancistrinae (Isbrücker, 1980). 15

1.3.2 – Descrição dos Gêneros *Parancistrus, Baryancistrus, Peckoltia e Ancistrus.* 16

1.4 – ANÁLISE CITOGENÉTICA 20

1.5 - MARCADORES CITOGENÉTICOS. 20

1.5.1 - Regiões Organizadoras de Nucléolo (NOR). 20

1.5.2 - Heterocromatina Constitutiva 24

1.6 – ASPECTOS GERAIS DA CITOGENÉTICA EM PEIXES 28

1.6.1 – Análises Citogenéticas em Loricariidae. 31

2 – OBJETIVOS. **38**

2.1 – OBJETIVO GERAL. 38

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS. 38

3 – MATERIAL E MÉTODOS **39**

3.1 – AS ESPÉCIES DE LORICARIÍDEOS ANALISADAS. 39

3.2 – TÉCNICA DE INDUÇÃO DE MITOSES. 42

3.3 – OBTENÇÃO DOS CROMOSSOMOS MITÓTICOS. 42

3.4 – TÉCNICA DE COLORAÇÃO CONVENCIONAL. 43

3.5 – TÉCNICA DE BANDEAMENTO C. 44

3.6 – TÉCNICA PARA DETECÇÃO DA REGIÃO ORGANIZADORA DO NUCLÉOLO (NOR). 44

3.7 – TÉCNICA DE MARCAÇÃO COM CROMOMICINA CMA_3. 45

3.8 – ESTUDOS CARIOTÍPICOS. 46

3.9 – MEDIDAS CROMOSSÔMICAS. 47

4 – RESULTADOS.....49
4.1 – O GÊNERO *BARYANCISTRUS.*.....49
4.1.1 - Cariótipo de *Baryancistrus* aff. *niveatus* 49
4.1.2 - Cariótipo de *Baryancistrus* sp.1 54
4.1.3 – Cariótipo de *Baryancistrus* sp.2. 59
4.1.4 - Cariótipo de *Baryancistrus* sp.3. 64
4.2 – O GÊNERO *PARANCISTRUS.* 69
4.2.1 – Cariótipo de *Parancistrus* sp.1. 69
4.3 – O GÊNERO *PECKOLTIA* 74
4.3.1 – Cariótipo de *Peckoltia vittata.* 74
4.3.2 - Cariótipo de *Peckoltia* sp.1. 79
4.3.3 – Cariótipo de *Peckoltia* sp.2. 84
4.4 – O GÊNERO *ANCISTRUS.* 89
4.4.1 - Cariótipo de *Ancistrus ranunculus.* 89
5 – DISCUSSÃO.....94
5.1 – ANÁLISE DA EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DAS ESPÉCIES DOS GÊNEROS *BARYANCISTRUS, PARANCISTRUS, PECKOLTIA* E *ANCISTRUS*.....94
5.1.1 – O gênero *Baryancistrus.*.....94
5.1.2 – O gênero *Parancistrus* 100
5.1.3 – O gênero *Peckoltia.*.....102
5.1.4 – O gênero *Ancistrus*.....108
5.2 – RELAÇÕES CARIOTÍPICAS E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS ENTRE OS GÊNEROS *BARYANCISTRUS, PARANCISTRUS, PECKOLTIA* E *ANCISTRUS.* 110
6 – CONCLUSÕES 116
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....118

LISTA DE FIGURAS

Páginas.

Figura 1. Distribuição geográfica dos loricariídeos. (copilado de Armbruster, 1997) 5

Figura 2. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Schaefer (1986, 1987).9

Figura 3a. Árvore filogenética para os Loricariidae inferiores, proposta por Montoya-Burgos *et al.,* (1998), baseado em seqüências gênicas de RNAr mitocondrial 12S e 16S. 10

Figura 3b. Árvore filogenética para os Loricariidae superiores, proposta por Montoya-Burgos *et al.,* (1998), baseado em seqüências gênicas de RNAr mitocondrial 12S e 16S. 11

Figura 4a. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Armbruster (1997), baseado em características osteológicas. 12

Figura 4b. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Armbruster (1997), baseado em características osteológicas. 13

Figura 4c. Árvore filogenética para a tribo Ancistrini proposta por Armbruster (1997) baseado em características osteológicas. 14

Figura 5. *Parancistrus aurantianus*, foto retirada do livro: An Atlas of Freshwater and Marine Catfishes (Burgess, 1989) 16

Figura 6. *Baryancistrus* aff. *niveatus,* fotografado no laboratório de citogenética animal....17

Figura 7. *Peckoltia vittata*, Fotografado no laboratório de citogenética animal....18

Figura 8. *Ancistrus ranunculus,* fotografado por Maurício Camargo Zorro. 19

Figura 9. Número diplóide dos subgrupos de Ostariophysi proposto por Oliveira *et al.,* (1988)....29

Figura 10. Locais de coletas das espécies analisadas....41

Figura 11. Espécie *Baryancystrus* aff. *niveatus* capturado no rio Xingu na orla da UFPA de Altamira....50

Figura 12. Cariótipo por coloração convencional de *B.* aff. *niveatus*. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 52

Figura 13. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 52

Figura 14. Metáfases observadas em *B.* aff. *niveatus.* Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NORs indicados pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em amarelo indicando as marcações nas NORs e setas em branco indicando as regiões de heterocromatina constitutiva ricas em pares de bases G-C.....53

Figura 15. Espécie *Baryancistrus* sp.1, coletado nas cabeceiras da cachoeira S. Antônio no rio Jari em Monte Dourado. 55

Figura 16. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.1. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 µm.....57

Figura 17. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 µm. 57

Figura 18. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. 58

Figura 19. Espécie *Baryancistrus* sp.2, coletado no rio Xingu em Altamira em uma região de pedral denominada Cotovelo. 60

Figura 20. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.2. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 µm.....62

Figura 21. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 µm. 62

Figura 22. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.2. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. 63

Figura 23. Espécie *Baryancistrus* sp.3, coletado no rio Xingu em Altamira em uma região de pedral denominada Cotovelo. 65

Figura 24. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.3. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 µm.....67

Figura 25. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 67

Figura 26. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.3. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. 68

Figura 27. Espécie *Parancistrus* sp.1, coletado no rio Xingu em Altamira nas regiões de pedral denominadas Cotovelo e Gorgulho da Rita. 70

Figura 28. Cariótipo por coloração convencional de *Parancistrus* sp.1. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm..... 72

Figura 29. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 72

Figura 30. Metáfases observadas em *Parancistrus.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. 73

Figura 31. Espécie *Peckoltia vittata*, coletado no rio Xingu em Altamira na orla da UFPA. 75

Figura 32. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia vittata.* (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm..... 77

Figura 33. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 77

Figura 34. Metáfases observadas em *Peckoltia vittata.* Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. 78

Figura 35. Espécie *Peckoltia* sp.1, coletado no rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado. 80

Figura 36. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia* sp.1 com a presença do cromossomo supernumerário (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.....82

Figura 37. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 82

Figura 38. Metáfases observadas em *Peckoltia.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. Observa-se que apenas três cromossomos apresentam marcações em ambas as fotos.....83

Figura 39. Espécie *Peckoltia* sp.2, coletado no rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado. 85

Figura 40. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia* sp.2 (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 87

Figura 41. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 87

Figura 42. Metáfases observadas em *Peckoltia* sp.2. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. Observa-se que apenas três cromossomos apresentam marcações em ambas as fotos.....88

Figura 43. Espécie *Ancistrus ranunculus*, coletado no rio Xingú em Altamira nas regiões de pedral denominadas Cotovelo e Gorgulho da Rita. 90

Figura 44. Cariótipo por coloração convencional de *Ancistrus ranunculus* (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.....92

Figura 45. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm. 92

Figura 46. Metáfases observadas em *Ancistrus ranunculus.* Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados

pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em amarelo indicando as marcações nas NORs e setas brancas indicado as regiões heterocromáticas ricas em pares de bases G-C 93

Figura 47. Prováveis homeologias entre as espécies de gênero *Baryancistrus,* baseadas em coloração convencional, Banda C e NOR. 96

LISTA DE TABELAS

Páginas.

Tabela 1. Características citogenéticas encontradas em peixes da família Loricariidae. 35

Tabela 2. Local de coleta e número de indivíduos analisados por espécie..... 40

Tabela 3. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* aff. *niveatus*. 50

Tabela 4. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* aff. *niveatus*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico. 51

Tabela 5. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.1. 55

Tabela 6. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.1. RB= relação de braços; CR%= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico. 56

Tabela 7. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.2. 60

Tabela 8. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.2. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico. 61

Tabela 9. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.3. 65

Tabela 10. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.3. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico. 66

Tabela 11. Números cromossômicos diplóides em *Parancistrus* sp.1. 70

Tabela 12. Valores cromossômicos médios de *Parancistrus* sp.1. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico. 71

Tabela 13. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia vittata*..... 75

Tabela 14. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia vittata*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico. 76

Tabela 15. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia* sp.1. 80

Tabela 16. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia* sp.1. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico. 81

Tabela 17. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia* sp.2. 85

Tabela 18. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia* sp.2. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico. 86

Tabela 19 Números cromossômicos diplóides em *Ancistrus ranunculus*. 90

Tabela 20. Valores cromossômicos médios de *Ancistrus ranunculus*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico. 91

Tabela 21. Características cariotípicas das espécies da subfamília ancistrinae analisadas no presente trabalho. 2n= número cromossômico diplóide; NF= número fundamental; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico. 113

RESUMO

A subfamília Ancistrinae é uma das mais diversificadas entre os Loricariidae, incluindo cerca de 200 espécies distribuídas em 26 gêneros. Esses peixes são facilmente reconhecidos pela presença de placas ósseas dispostas em séries ao longo do corpo e pela presença de boca em posição ventral anterior. São vulgarmente conhecidos por acaris, bodós, cascudos. As espécies da subfamília Ancistrinae representam um importante recurso sócio-econômico, constituindo uma das mais importantes atividades comerciais no município de Altamira-PA. Foram analisadas, através das técnicas convencionais (Giemsa, bandeamento C e Ag-NORs) e técnica de fluorocromo (Cromomicina A_3), dez espécies de peixes da subfamília Ancistrinae pertencentes a quatro gêneros (*Baryancistrus, Parancistrus, Peckoltia* e *Ancistrus*). As espécies do gênero *Baryancistrus* revelaram um número diplóide 2n= 52 e NF=104. A NOR foi encontrada em posição intersticial no braço curto de um par cromossômico do tipo meta/submetacêntrico. A espécie *B.* aff. *niveatus* apresentou grandes blocos heterocromáticos ricos em pares de bases G-C como apomorfia, sendo esta espécie considerada como mais derivada cariotipicamente entre os *Baryancistrus*. As espécies do gênero *Parancistrus* apresentaram uma estrutura cariotípica muito similar àquela encontrada em *Baryancistrus*, apresentando as Regiões Organizadoras de Nucléolos como uma provável sinapomorfia entre os dois gêneros. Os representantes do gênero *Peckoltia* possuem número diplóide 2n=52 e NF=102. Todas as espécies analisadas apresentaram grandes blocos heterocromáticos, envolvendo quase todos os braços longos de alguns pares cromossomos do tipo submetacêntricos e subtelocêntricos, sendo esta característica uma provável sinapomorfia para este grupo. A NOR foi localizada no braço longo de um par de cromossomos submetacêntricos em *P. vittata* e em no máximo três cromossomos nas espécies *Peckoltia* sp.1 e *Peckoltia* sp.2. A espécie *Ancistrus ranunculus* foi a que apresentou o cariótipo mais derivado entre as espécies estudadas, com o número diplóide igual a 48 cromossomos e NF = 80. As análises citogenéticas feitas até agora sugerem que os principais eventos de diversificação cariotípica para os Ancistrinae foram às inversões, a exceção de *Ancistrus ranunculus* que apresentou também rearranjos Robertsonianos.

Palavras-chaves: Loricariidae, Ancistrinae, Inversões, Ag-NOR, Banda-C, Cromomicina A_3.

ABSTRACT

The subfamily Ancistrinae is one of the most diversified among Loricariidae fish, including approximately 200 species, distributed in 26 genera. These fish are easily recognized by the presence of bony plates arranged in series along the body, and by the antero-ventral position of the mouth. Their common names are acaris, bodós, cascudos and sucker-mouth. Species of the subfamily Ancistrinae comprise an important social-economic resource, constituting one of the most important commercial activities in Altamira-PA. In this study, the karyotype of nine species of fish belonging to four different genera (*Baryancystrus, Parancistrus, Peckoltia* and *Ancistrus*) of the subfamily Ancistrinae were analyzed through conventional (Giemsa, C-band and Ag-NORs) and fluorochrome (Chromomycin A_3) techniques. The species of the genus *Baryancistrus* showed a diploid number 2n= 52, and FN=104. NORs were found in an interstitial position of the short arm of a biarmed chromosome. The species *B.* aff. *niveatus* had large blocks of constitutive heterochromatin, rich in G-C. This character was considered apomorphic. Hence, the karyotype of this species was considered the most derived among the species of this genus. Genus *Parancistrus* includes species with a karyotypic structure very similar to the one found in *Baryancistrus*, and the position of NORs could be considered as a possible apomorphy shared by these two genera. The species of the genus *Peckoltia* showed a diploid number with 52 chromosomes, and FN=102, with large heterochromatic blocks in all the species. These blocks comprised almost all the long arms of some submetacentric and subtelocentric chromosome pairs, which could be considered as a possible apomorphy shared by the species of this group. NORs were found in the long arm of a submetacentric pair in *P. vittata*, and in the maximum of three chromosomes in *Peckoltia* sp1 and *Peckoltia* sp2. *Ancistrus ranunculus* showed the most derived karyotype among all the species analyzed in this study. This karyotype had 48 chromosomes and FN=80. Cytogenetic analyses so far suggest that inversions were the most important rearrangement that occurred during the chromosomal diversification of Ancistrinae, except in *Ancistrus ranunculus*, in which Robertsonian rearrangements were also observed.

Key words: Loricariidae, Ancistrinae, Inversions, Ag-NOR, C-band, Chromomycin A_3.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – ASPECTOS GERAIS DA FAUNA ICTIOLÓGICA DA AMAZÔNIA

Desde a sua formação até os dias atuais, a Amazônia passou por uma série de transformações radicais, desencadeadas pela separação dos continentes, aparecimento das plantas superiores, elevação das cordilheiras do Andes, reversão do curso do rio principal e variação de temperatura nas eras glaciais, que causaram retenção e liberação de água nas calotas polares. Cada transformação propiciou um grande aumento no número de organismos em virtude de novas oportunidades ecológicas (Goulding, 1997).

A ictiofauna amazônica apresenta-se extremamente diversa em espécies e grupos endêmicos. Conhecer a genética destes peixes pode, no futuro, assegurar informações importante para o manejo de espécies ameaçadas de extinção, assim como para o cultivo de peixes, tanto para o consumo como para fins ornamentais, com a conseqüente melhora de vida do amazônida.

Na Amazônia, peixe é a principal fonte de renda e alimento para as populações ribeirinhas e importante gerador de divisas para os Estados. No ano de 1981, a exportação de peixes para o consumo rendeu US$ 13 milhões para o estado do Pará (Revista CACEX, 1980).

As primeiras descobertas e a descrição dos peixes maiores e mais comuns vão aproximadamente da metade do século XVII até 1866. O período de 1866 a 1930 caracterizou-se pela descoberta e descrição de um grande número de espécies de todos os tamanhos (Böhlke *et al.*, 1978).

As águas interiores neotropicais comportam a mais diversa fauna de

peixes de água doce do mundo, embora os levantamentos nas grandes bacias hidrográficas brasileiras ainda sejam incompletos e não exista consenso acerca do"status" taxonômico de muitas espécies (Lowe-McConnell, 1987). Para a bacia amazônica o número de espécies já identificadas é de aproximadamente 3000 (Porto *et al.*, 1993).

Schaefer (1998) analisou as tendências históricas de descrição de espécies em Characidae e Loricariidae. A partir destas tendências, o autor estima que existam cerca de 8000 espécies de peixes de água doce neotropicais. Portanto, aproximadamente 24% de todas as espécies de peixes neotropicais, ou seja, um oitavo de toda a biodiversidade dos vertebrados, ocorrem em menos de 0,003% da água do planeta (Vari & Malabarba, 1998).

A diversidade de peixes neotropicais tem uma longa história temporal, pois alguns clados endêmicos mais superiores se reportam ao Cretáceo. Alguns taxons modernos, ao nível de gênero, diferenciaram-se durante o Paleogeneo, e a ictiofauna era essencialmente moderna no final do Mioceno. A elevação Andina forneceu novos habitats aquáticos de planaltos, enquanto sobre uma extensa região de bacias de antepaís permitiu o desenvolvimento de extensos habitats lacustres. A formação do divisor andino e de outras drenagens, mudanças de cursos de rios e repetidas incursões e regressões de águas marinhas devem ter produzido muitos eventos vicariantes. A reunião, no final do Mioceno, do moderno fluxo oeste-leste do Amazonas e Orinoco deve ter sido um dos maiores eventos de combinação e enriquecimento biótico. A emergência de novas terras no norte da América do Sul e Sul da América Central proveu oportunidades para extensão da biota aquática Neotropical. O isolamento de sistemas de drenagem periféricos do sul, oeste e norte do Paraná, Amazonas e Orinoco

deram oportunidades para divergência alopátrida, e foi acompanhada pela extinção local de várias espécies amplamente distribuídas de peixes Neotropicais (Lundberg *et al.*, 1998).

A fauna ictiológica da bacia amazônica é composta por dois grupos distintos. Um primitivo, cujos ancestrais se reportam ao tempo em que a América do Sul, África, Austrália e Ásia formavam um grande continente, a Gondwana. As espécies deste grupo são o pirarucu (*Arapaima gigas*) e o aruanã (*Osteogiossum bicirrhosum*) da família Osteoglossidae, com representantes na América do Sul, África e Ásia, o muçum (*Symbranchus marmoratus*) da família Symbranchidae, com representantes na América do Sul, África e Ásia Tropical, a pirambóia (*Lepidosiren paradoxa*), que pertence à ordem Dipnoi, com representantes na América do Sul, África, Ásia Tropical e Austrália, e o peixe-folha (*Monocirrhus polyacanthus*), família Nandidae, com representantes na América do Sul, África e Ásia Tropical. O outro grupo é formado por espécies endêmicas da América do Sul. Seus representantes são os peixes voadores de água doce (Gasteropelecidae), os sarapós (Gymnotidae, Rhamphichthyidae, Apteronotidae), o poraquê (Electrophoridae), os candirus (Trichomycteridae), os acari-bodós (Loricariidae), entre outros (Junk, 1983).

1.2 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS SILURIFORMES

Os Siluriformes formam um dos grupos de peixes neotropicais mais diversificados e amplamente distribuídos entre os Ostariophysi, com 34 famílias, aproximadamente 412 gêneros e mais de 2400 espécies, sendo que destas cerca de 1440 ocorrem no Novo Mundo (Nelson, 1994). Nas águas doces da América do Sul, os Siluriformes compreendem 14 famílias, sendo 12 na Amazônia brasileira (Ferreira *et al.*, 1998). Esta ordem possui um grande número de formas e são conhecidos como

peixes de couro, bagres, cascudos e acaris, muito comuns nas águas doces do Brasil.

A ordem Siluriformes agrupa peixes caracterizados pelo corpo sem escama, coberto por pele nua (lisa) ou por placas ósseas, apresentam barbilhões ao redor da boca, normalmente em três pares (um par maxilar e dois pares mentonianos). Os dentes são pequenos e curvos, agrupados em faixas ou placas semelhantes a uma lixa. As nadadeiras peitorais e dorsais são geralmente guarnecidas com espinhos providos de serras nas margens (Britski *et al.,* 1984; Ferreira *et al.,* 1998). Este clado inclui desde peixes com mais de 2,5 m de comprimento e 200 kg, como a piraíba, até espécies muito pequenas, cujos indivíduos adultos não passam de 3 cm de comprimento total. Algumas espécies produzem sons que podem ser ouvidos até de fora d'água. A maioria possui a capacidade de respirar ar na superfície, o que os tornam capazes de habitar ambientes pobres em oxigênio não suportados por outros grupos de peixes (Ferreira *et al.,* 1998).

Segundo Nelson (1994), a maioria das espécies de Siluriformes podem provocar graves ferimentos com seus espinhos e injetar um veneno, que é produzido por células glandulares no tecido epidérmico localizadas na base desses espinhos. Muito destes peixes apresenta o corpo achatado dorso-ventralmente, adaptados à vida bentônica. Uma grande parte das espécies é noturna ou crepuscular. Muitas são carnívoras, mas outras alimentam-se principalmente de algas (lodo), que são raspadas das folhas, pedras e galhos submersos. Devido a tais hábitos, o estudo de sua biologia se torna mais difícil (Dias, 1987). De maneira geral, são peixes mais sedentários e encontram maiores dificuldades para transpor cachoeiras ou corredeiras, que se interpõem às suas limitadas migrações (Britski. 1981).

1.3 – A FAMÍLIA LORICARIIDAE

A família Loricariidae é uma das mais diversificadas entre os Siluriformes. Inclui cerca de 600 espécies, distribuídas em 5 subfamílias: Ancistrinae (26 gêneros), Hypostominae (18 gêneros), Hypoptopomatinae (11 gêneros), Loricariinae (32 gêneros) e Neoplecostominae (1 gênero), distribuídas exclusivamente na região Neotropical desde o Panamá até o Uruguai (Isbrücker, 1980) (Figura 1).



Figura 1. Distribuição geográfica dos loricariídeos (copilado de Armbruster, 1997).

Habitam diversos tipos de ambientes aquáticos, incluindo pequenos lagos hipóxicos, riachos e trechos profundos de grandes rios (Burgess, 1989; Zuanon, 1999). Esses peixes possuem a parte anterior do corpo coberta por três ou mais séries de placas ósseas. A boca é sempre inferior com lábios grandes. Os dentes são alongados e geralmente bífidos, sendo utilizados para raspar o substrato duro dos fundos dos rios onde vivem. Muitos gêneros da família Loricariidae possuem respiração acessória e são também resistentes a baixas concentrações de oxigênio na água. Alimentam-se de algas e microrganismos aderidos ao substrato duro ou à lama do fundo de rios. Geralmente fazem ninhos para desovar no fundo ou nos barrancos dos rios. (Silvano *et al.*, 2001; Burgess, 1989).

Os loricariídeos representam um importante recurso sócio-econômico na região amazônica. Segundo Zuanon (1999) a pesca de loricariídeos como peixes ornamentais constitui uma das mais importantes atividades comerciais no município de Altamira, envolvendo muitas famílias de ribeirinhos e empresas especializadas em exportação sediadas na cidade. Estima-se que pelo menos mil pessoas dependem desta atividade na região. Como recurso alimentar, algumas espécies de hábitos detritívoros são comuns e muito abundantes em áreas de várzea da Amazônia central, representando uma significante parcela dos desembarques da pesca artesanal e comercial (Petrere Jr., 1978; Goulding, 1980). Silvano *et al.* (2001) constataram que algumas espécies de loricariídeos são preferidas por 65% da população do Alto Juruá.

Zuanon (1999) observou que algumas espécies de loricariídeos apresentam preferências quanto ao tipo de micro-habitat (formato das pedras ou das fendas entre elas) nas corredeiras, sendo essas preferências diretamente relacionadas com a forma do corpo. Segundo Futuyma (1992) as espécies variam, geograficamente,

em relação a muitas características as quais podem bloquear a troca gênica entre espécies simpátridas. Essa peculiaridade entre os loricariídeos em preferir certos tipos de micro-habitat pode ter sido uma das principais causas para explicar a grande diversidade de espécies na família.

Como grupo, os loricariídeos são considerados conservados quanto à morfologia geral, embora apresentem especializações tróficas e diversidade morfológica suficiente para a definição de subfamílias e grupos de espécies (Pinna, 1998)

De acordo com a filogenia proposta para os Loricariodea (Pinna, 1992; *apud* Zuanon, 1999), pode-se supor que os loricariídeos tenham evoluído a partir de um estoque ancestral de bagres habitantes de áreas de águas correntosas (Zuanon, 1999). Contudo, a filogenia desta família ainda permanece confusa.

Os loricariídeos foram primeiramente divididos em dois grupos: Loricariinae e Hypostominae (Kner, 1853a, 1853b, *apud* Montoya-Burgos *et al.,* 1998). Bleeker (1862, *apud* Montoya-Burgos *et al.,* 1998) identificou duas subfamilias: Plecostominae e Loncarinae. Eigenmam & Eigenmam (1890, *apud* Montoya-Burgos *et al.,* 1998) propôs três subfamílias: Loricariinae, Hypoptopomatinae e Plecostominae. Regan (1904, *apud* Montoya-Burgos *et al.,* 1998) reconheceu 5 subfamílias: Plecostominae, Hypoptopomatinae, Loricariinae, Neoplecostominae e Argiinae.

Gosline (1945, 1947, *apud* Montoya-Burgos *et al.,* 1998) fez a principal revisão para os loricariídeos substituindo Argiinae por Astroblepinae e descreveu uma nova subfamília: os Lithogeninae (= Lithogeneinae), colocando a Astroblepinae como o primeiro grupo divergindo, seguido por Lithogeneinae, Neoplecostominae e Plecostominae. Este autor propôs que Loricariinae e Hypoptopomatinae formam dois grupos distintos derivados de Neoplecostominae.

A visão de Gosline sobre Neoplecostominae diferiu de outros trabalhos, não só pelo fat de incluir *Neoplecostomus* nesta subfamília, mas também 11 outros gêneros (*Upsilodus, Hemipsilichthys, Pareiorhaphis* (=*Isbrueckerichthys*), *Pareiorhina, Kronichthys*, *Corymbophanes, Delturus, Rhinelepis, Canthopomus* (=*Pseudorinelepis*), *Pogonopoma*, e *Pogonopomoides*) que antes pertenciam a Hypostominae. Isbrücker (1980) reconheceu os Astroblepidae como uma família separada e diferenciou duas subfamílias entre a forma Plecostominae: Hypostominae e Ancistrinae. Howes (1983), baseado no estudo de miologia cranial e osteologia, não encontrou nas espécies de Ancistrinae e Hypostominae características que os apoiassem como um grupo natural.

Schaefer (1986, 1987) fez a mais completa filogenia morfológica para a família Loricariidae (Figura 2). O autor encontrou caracteres osteológicos exclusivos que apóiam a monofilia de Ancistrinae, Hypoptopomatinae e Loricariinae, mas suas evidências sugeriram que Hypostominae não formaria um grupo monofilético. Montoya-Burgos *et al.* (1998) baseado em seqüências gênicas de RNAr mitocondrial 12S e 16S classificou a família em dois grupos, os loricariídeos superiores e os inferiores (Figura 3**a** e **b**). Este autor confirmou a monofilia para a subfamília Loricariinae, porém não encontrou evidências que apóiem a monofilia das outras subfamílias (Hypostominae, Hypoptopomatinae, Neoplecostominae e Ancistrinae).

Armbruster (1997) usando principalmente características osteológicas, analisou as cinco subfamílias mais Lithogeneinae, a qual o autor considera como uma subfamília de Loricariidae. Foram criadas duas novas subfamílias (Hemipsilichthiinae e Upsilodinae), Ancistrinae passou a ser uma tribo pertencente a Hypostominae, a qual por sua vez foi então dividida em cinco tribos (Ancistrini, Delturini, Llypostomini, Pterygoplichthini e Rhinelepini) (Figura 4**a**, **b** e **c**).

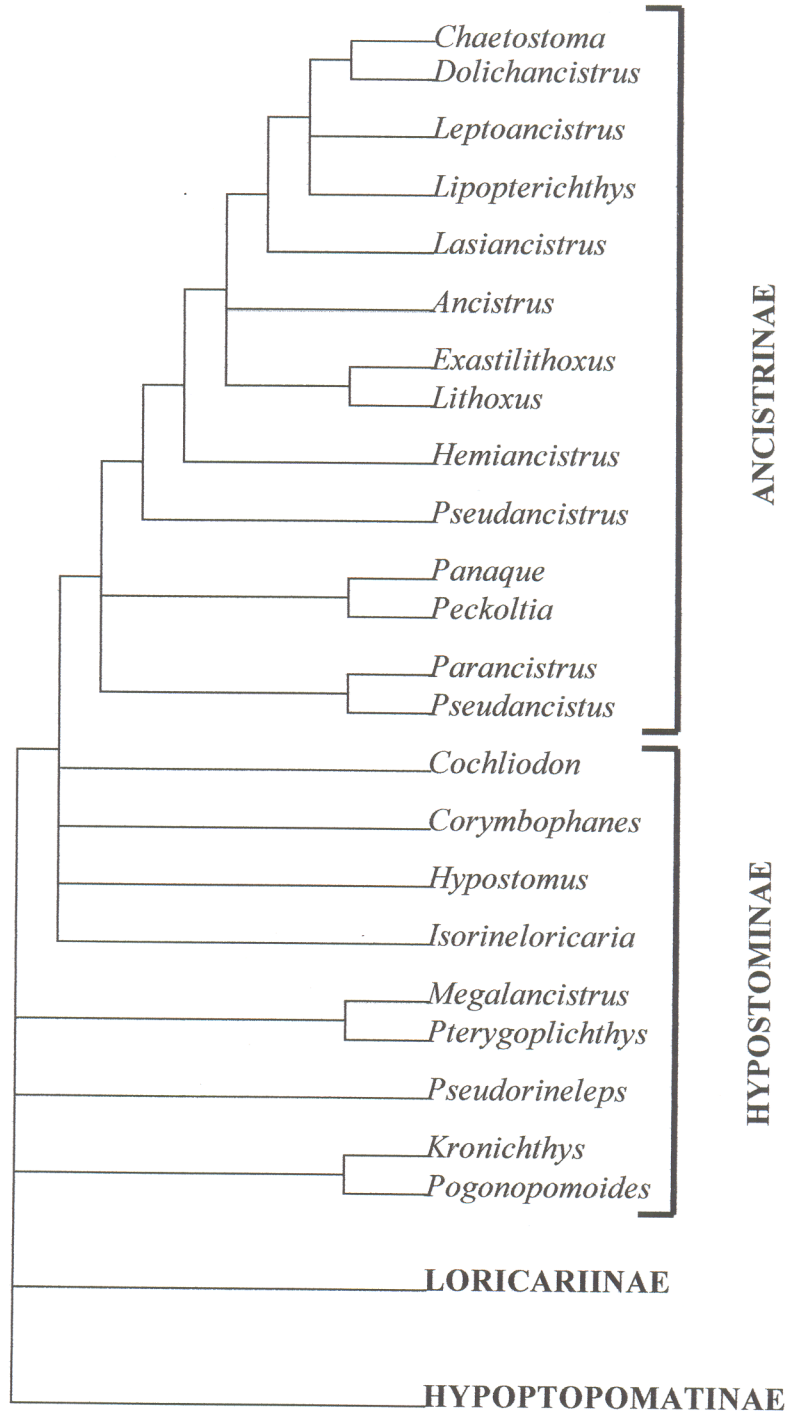

Figura 2. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Schaefer (1986, 1987).

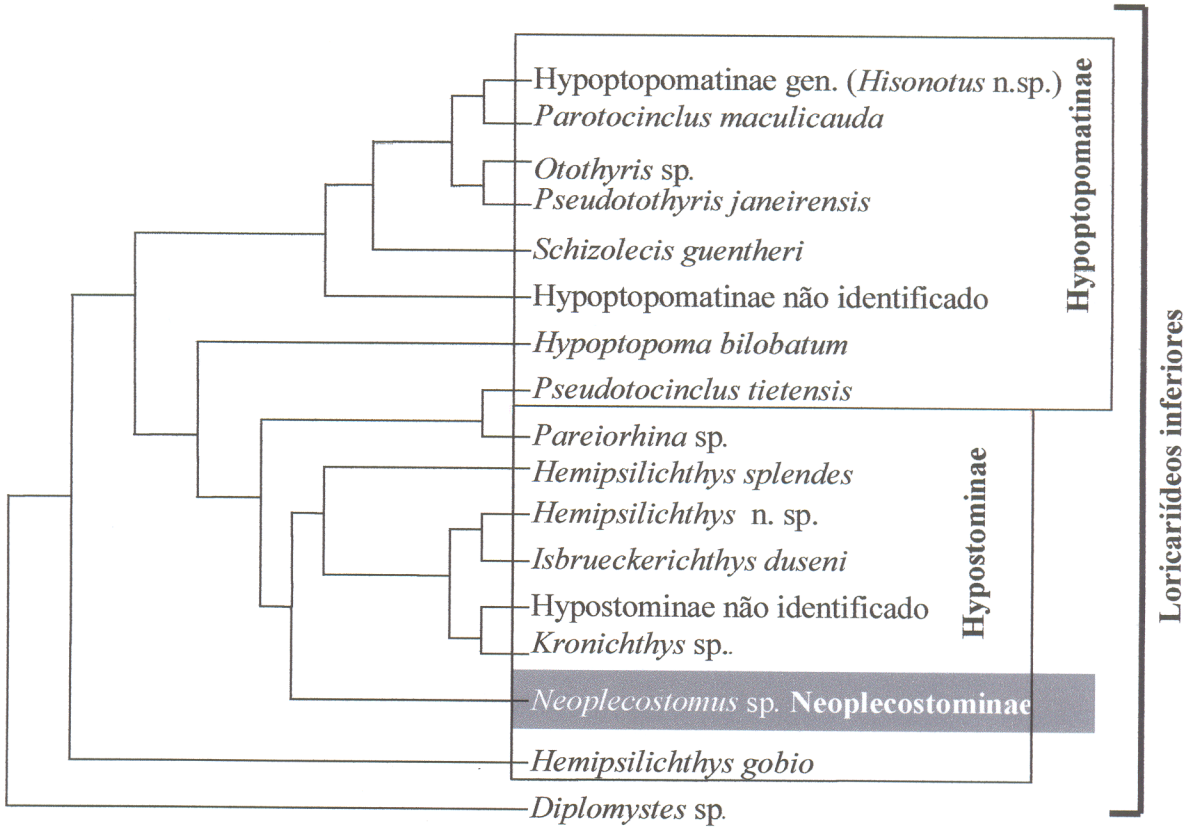

Figura 3a. Árvore filogenética para os Loricariidae inferiores, proposta por Montoya-Burgos *et al.,* (1998), baseado em seqüências gênicas de RNAr mitocondrial 12S e 16S.

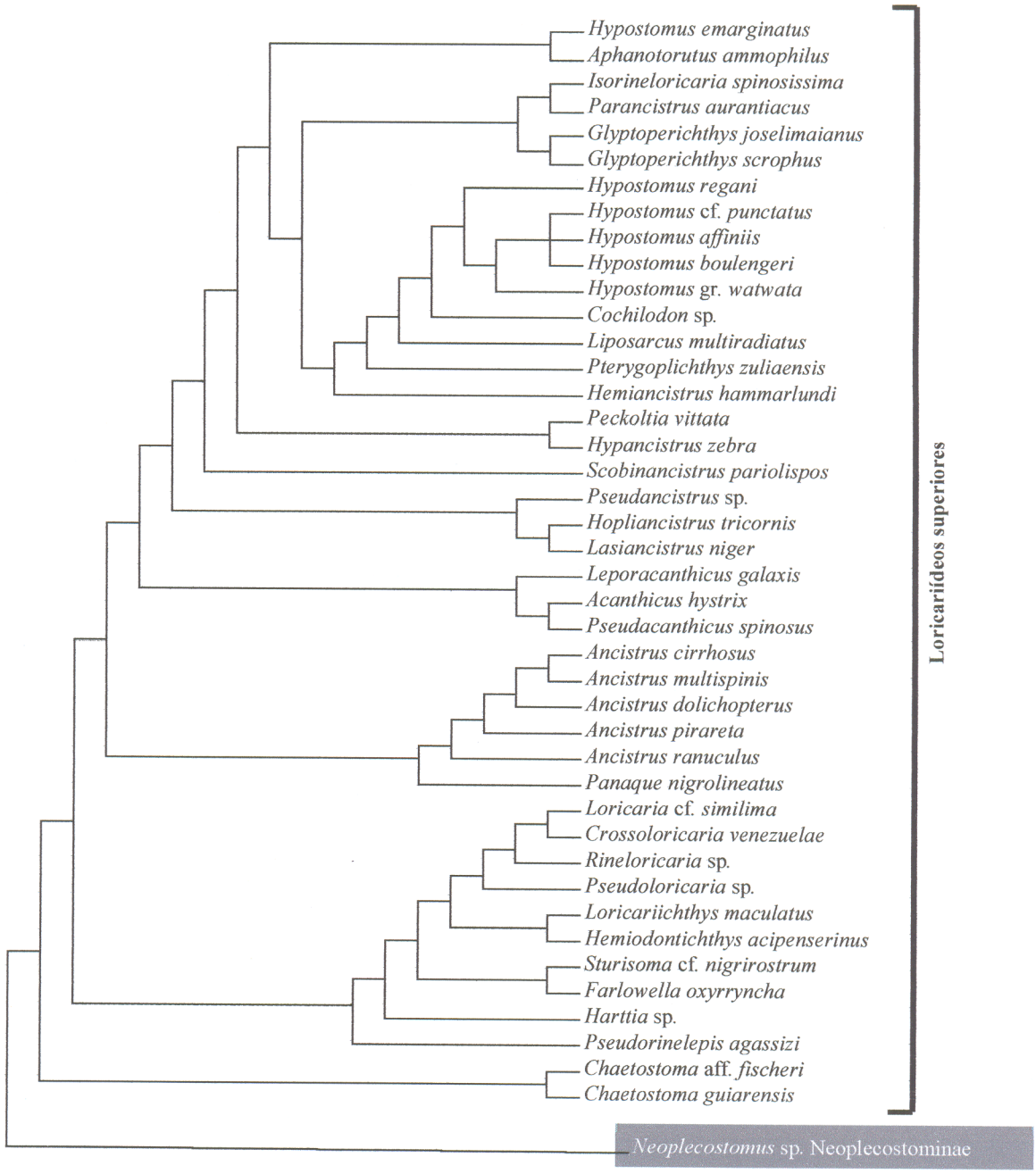

Figura 3b. Árvore filogenética para os Loricariidae superiores, proposta por Montoya-Burgos *et al.*, (1998), baseado em seqüências gênicas de RNAr mitocondrial 12S e 16S.

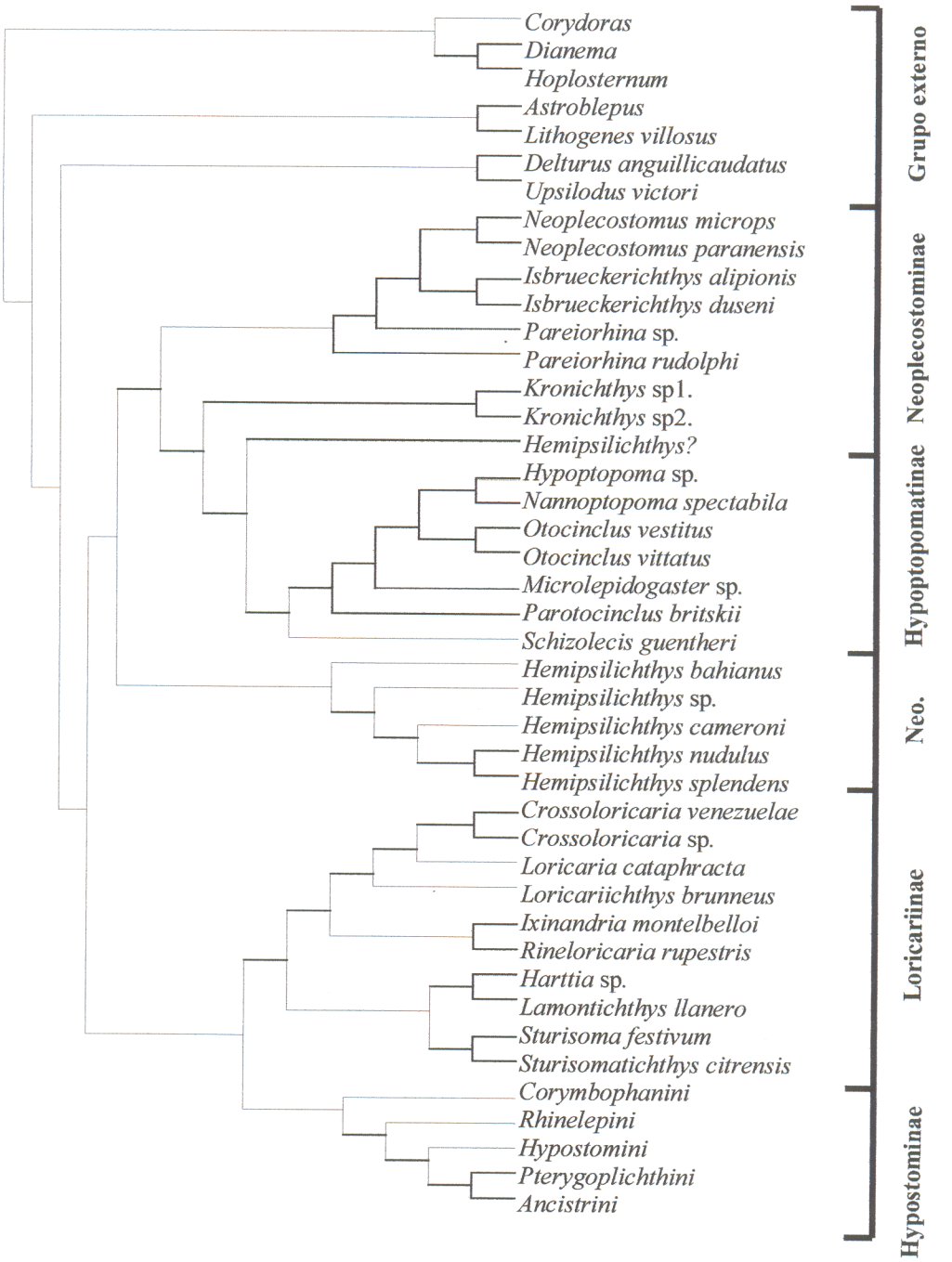

Figura 4a. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Armbruster (1997), baseado em características osteológicas.

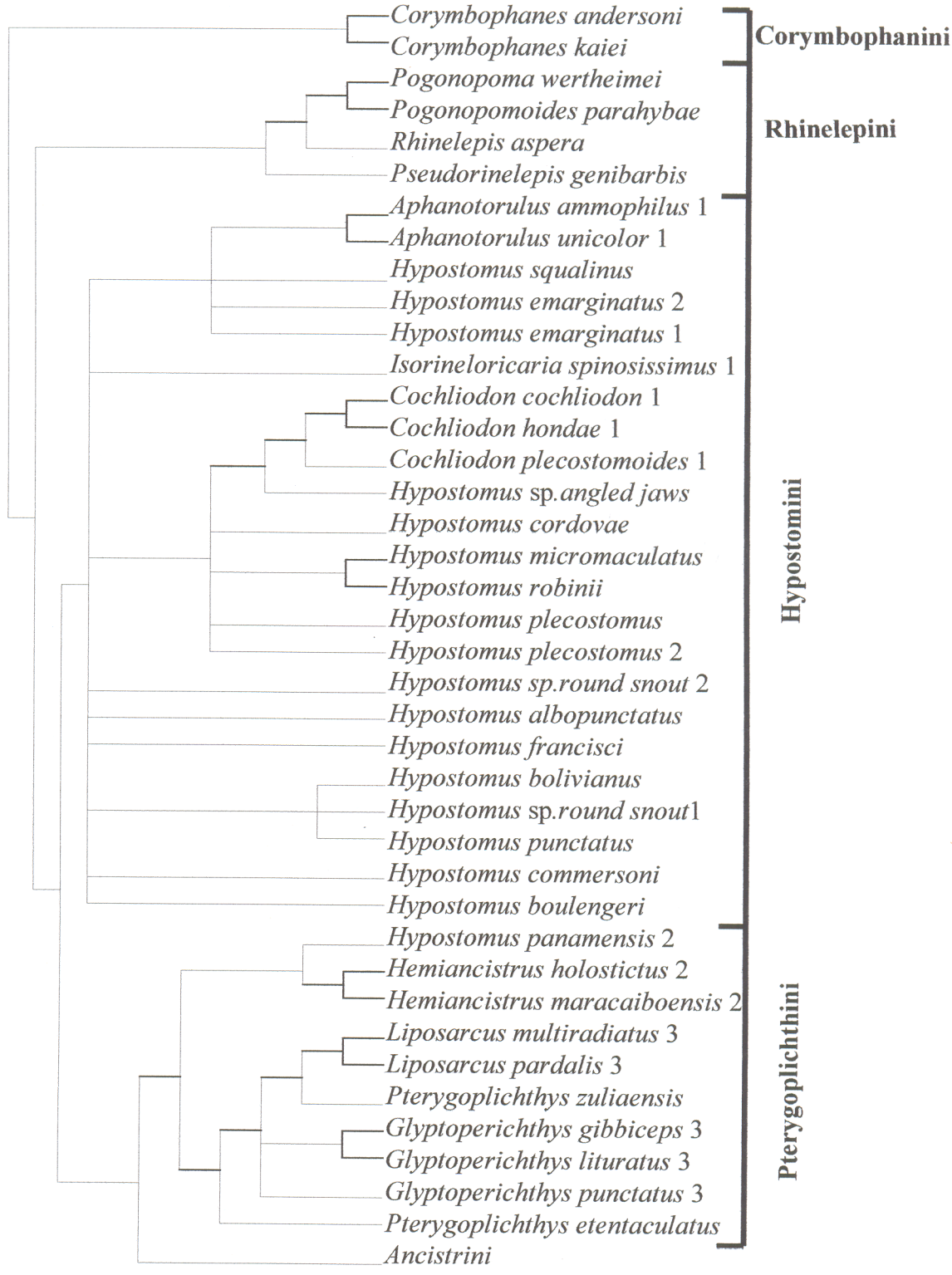

Figura 4b. Árvore filogenética para os Loricariidae proposta por Armbruster (1997), baseado em características osteológicas.

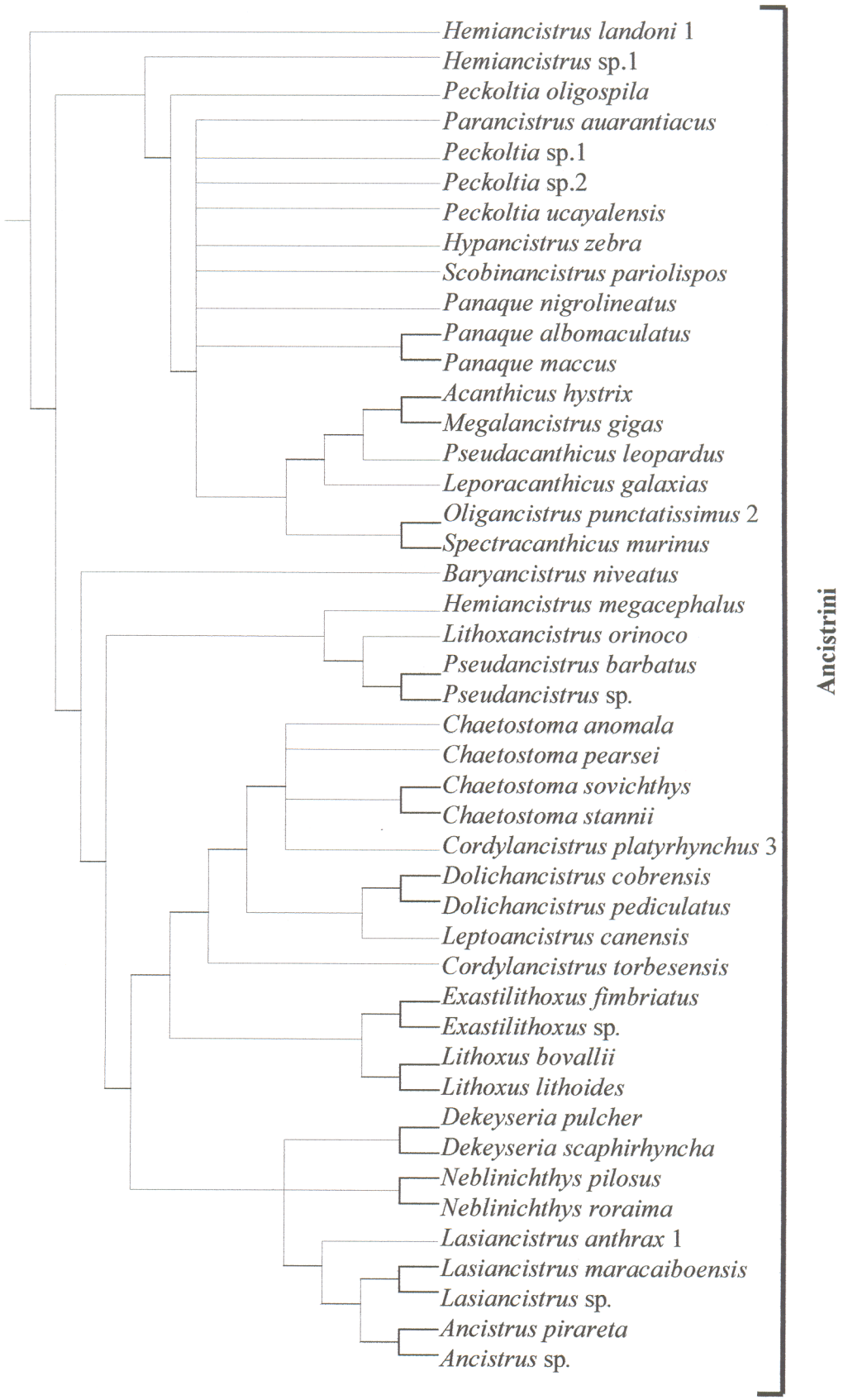

Figura 4c. Árvore filogenética para a tribo Ancistrini proposta por Armbruster (1997) baseado em características osteológicas.

1.3.1 – Considerações Sobre a Subfamília Ancistrinae (Isbrücker, 1980)

A subfamília Ancistrinae pertence à família Loricariidae, que atualmente inclui cerca de 26 gêneros e 200 espécies, sendo popularmente conhecidos como acaris, cascudos ou bodós (Isbrücker, 1980).

Schaefer (1987) foi o primeiro a sugerir que, reconhecendo Ancistrinae como subfamília, tornaria Hypostominae um grupo parafilético. Ambruster (l997) sugere que para evitar o problema com a parafilia de Hypostominae, Ancistrinae deveria tornar-se uma tribo da mesma. Os representantes de Ancistrinae (Isbrücker, 1980) são de pequeno, médio e grande porte distinguindo-se das demais subfamílias por possuírem os odontes da face móveis e hipertrofiados e são muito apreciados como peixes ornamentais.

De acordo com as listas de exportadores, o rio Xingu é o local de maior importância no Brasil para a captura de acaris, da família Loricariidae, comercializados como peixes de aquário (Torres & Carvalho Jr., 1995).

No Xingu a pesca de peixes ornamentais concentra-se sobre algumas espécies de loricariídeos da subfamília Ancistrinae: *Hypancistrus* sp. "marrom", *Hypancistrus zebra, Baryancistrus* spp, *Hypancistrus* sp. "pão", *Panaque nigrolineatus, Peckoltia vittata, Ancistrus* spp., *Scobiancistrus* spp., *Scobiancistrus auratus, Pseudacanthicus leopardus, Pseudancistrus* aff *barbatus* e *Oligancistrus* spp. Estas espécies representam aproximadamente 90% do número total dos peixes ornamentais capturados na região do município de Altamira, sendo consideradas as mais valiosas (Torres & Carvalho Jr.,1995; Carvalho Jr., *et al.,* 2002). Contudo, o desconhecimento biológico que dispomos desta fauna é quase total e são poucos os trabalhos de levantamentos ictiofaunísticos realizados na região até o momento (Zuanon, 1999).

1.3.2 – Descrição dos Gêneros *Parancistrus, Baryancistrus, Peckoltia e Ancistrus*

Parancistrus: inclui aproximadamente seis espécies distribuídas na região amazônica. Os olhos são pequenos, possui de 22 a 24 placas ósseas na série longitudinal, de cinco a seis placas ósseas entre a nadadeira dorsal e a nadadeira adiposa e de nove a treze placas ósseas entre a nadadeira anal e a nadadeira caudal. A nadadeira dorsal tem um espinho e sete raios, sendo que o último raio ligado à nadadeira adiposa. Possui um espinho robusto na nadadeira peitoral, estendendo-se até a base da nadadeira ventral (em juvenis) e até a metade da nadadeira ventral (em adultos). Apresenta um rostro coberto com placas ósseas ásperas, sem cerdas; interopérculo com longos e numerosos ganchos (ou espinhos). O abdomem é parcialmente ou completamente coberto por placas ósseas (dependendo da idade). A Boca apresenta papilas ao seu redor; o pré-maxilar e ossos dentários são quase do mesmo tamanho suportando poucos dentes, quase todos do mesmo tamanho. Os ossos do pré-maxilar estão em uma disposição paralela em relação aos ossos dentários. A abertura branquial é muito longa; todas as nadadeiras exceto, a anal, são bem desenvolvidas, (Rapp Py-Daniel, 1989; Burgess, 1989) (Figura 5).



Figura 5. *Parancistrus aurantianus*, foto retirada do livro: An Atlas of Freshwater and Marine Catfishes (Burgess, 1989)

Baryancistrus: apresenta rostro redondo e coberto com placas ósseas ásperas, sem cerdas e o interopérculo com numerosos ganchos (ou espinhos). O corpo é longo e mais ou menos achatado. A abertura opercular é pequena, e boca grande, com pré-maxilas longas, com muitos dentes (mais de 80) em disposição paralela. A nadadeira dorsal não apresenta-se unida com a adiposa, mas com uma membrana posterior bem desenvolvida; o abdomem é sempre parcialmente coberto por escudos ósseos em adultos. A coloração apresenta pontos claros (Rapp Py-Daniel, 1989) (Figura 6).

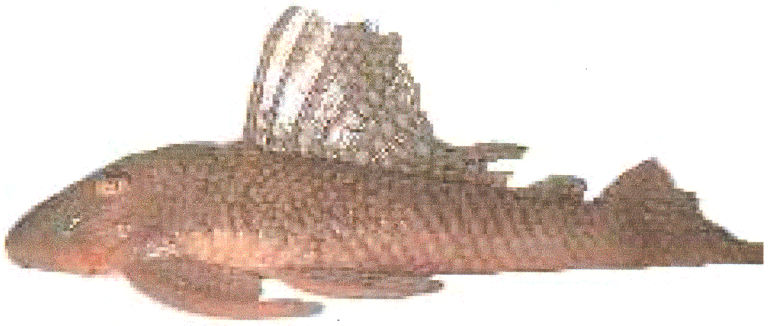

Figura 6. *Baryancistrus* aff. *niveatus,* fotografado no laboratório de citogenética animal.

Peckoltia: Contém aproximadamente 19 espécies distribuídas no Brasil, Venezuela, Colômbia e Peru. São geralmente de pequeno porte e possuem uma grande variedade de cores. O corpo é curto e forte e a cabeça é curta e alta, os dentes são pequenos, finos, bífidos e numerosos. As placas ósseas da região posterior lateral do corpo são rugosas. Tem entre 25 a 27 placas ósseas na série lateral, de sete a oito placas ósseas entre a nadadeira dorsal e a nadadeira adiposa e de doze a treze placas ósseas entre a nadadeira anal e caudal. A região ventral da cabeça e abdomem são completamente cobertas por pequenas placas ósseas, podendo ser despidas em juvenis. A nadadeira dorsal apresenta um espinho e sete raios, sendo o último raio não fixado na costa por uma membrana. Possui a nadadeira adiposa bem desenvolvida, a nadadeira anal apresenta um espinho e quatro raios. O espinho da nadadeira peitoral é longo alcançando a metade da nadadeira ventral. A nadadeira caudal é truncada e em forma semilunar (Burgess, 1989) (Figura 7).

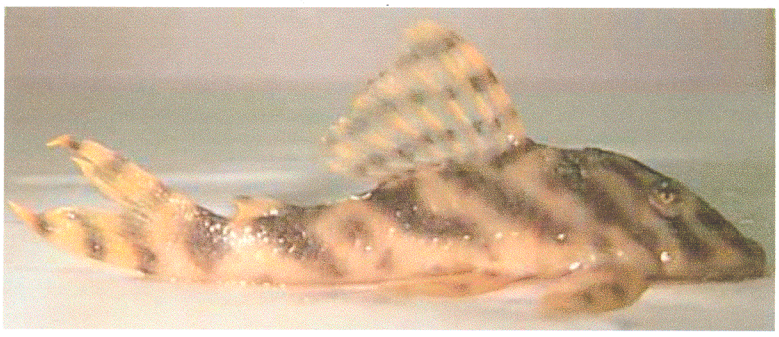

Figura 7. *Peckoltia vittata*, Fotografado no laboratório de citogenética animal.

Ancistrus: É um gênero com mais de 50 espécies distribuídas na América do Sul e Panamá. As espécies são geralmente de pequeno porte, atingido cerca de 15cm de comprimento. Algumas espécies são encontradas em águas salobras, sendo que a maioria das espécies é de água doce. O corpo é largo e achatado, possui a cabeça grande, comprimida e larga. O focinho possui a extremidade sem placas ósseas, é estreito na fêmea e largo no macho, podendo ser provido de tentáculos cutâneos e bifurcados, sendo mais numerosos nos machos. Os dentes são pequenos, finos e bífidos. Possuem 23 a 26 placas ósseas na série lateral do corpo, de cinco a sete (placas ósseas) entre as nadadeiras dorsais e a adiposa e de dez a treze (placas ósseas) entre as nadadeiras anais e a caudal. As regiões dorsais da cabeça e abdomem são despidas de placas ósseas. A nadadeira dorsal apresenta um espinho e sete a nove raios. A nadadeira anal possui um espinho e três a quatro raios. O espinho da nadadeira peitoral é relativamente curto, atingindo a base da nadadeira ventral. A nadadeira caudal é truncada(Burgess, 1989) (Figura 8).



Figura 8. *Ancistrus ranunculus,* fotografado por Maurício Camargo Zorro.

1.4 – ANÁLISE CITOGENÉTICA.

A citogenética como ciência, compreende todo e qualquer estudo relativo aos cromossomos, isolados ou em conjunto, condensados ou distendidos, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, variação e evolução. A citogenética pode atuar em conjunto com outros campos da Biologia como taxonomia, bioquímica, medicina clínica e o melhoramento animal. Através da descrição das características do conjunto cromossômico de uma espécie é possível, detectar variações interespecíficas e intraespecíficas (polimorfismo). Portanto, o estudo do cariótipo é extremamente importante do ponto de vista genético-evolutivo (Guerra, 1988).

Hoje se sabe que a diversidade cromossômica pode ter implicações filogenéticas, do mesmo modo como outras características morfológicas; dessa forma, informações cariotípicas como associações e seqüências gênicas, posições do centrômero e distribuição da eucromatina e da heterocromatina dentro do genoma, dentre outras, podem ser utilizadas para auxiliar a elucidação de problemas taxonômicos e, conseqüentemente, fazer inferências filogenéticas (Benazzi, 1973; Pieczarka, 1995).

1.5 - MARCADORES CITOGENÉTICOS.

1.5.1 - Regiões Organizadoras de Nucléolo (NOR).

As NORs são regiões cromossômicas onde é encontrado o DNA ribossômico, o qual transcreve o RNA ribossômico, componente fundamental dos ribossomos. Os genes do RNA ribossômico dos vertebrados existem em múltiplas cópias, arranjados em tandem e cada uma dessas unidades repetidas constitui uma região transcrita, que codifica os RNAs 18S, 5,8S e 28S. A seqüência transcrita é altamente conservada interespecificamente, enquanto que a região não transcrita

apresenta considerável variação interespecífica que pode ser resultado de mutações ou permutas desiguais (Popodi *et al.*, 1985).

Howell (1977) demonstrou que em oócitos do grilo *Acheta domesticus*, que a prata marcava proteínas preferencialmente ácidas, associadas ao RNAr recentemente transcrito, evidenciando as NORs que tinham estado em atividade na intérfase anterior. Segundo Derenzini *et al.* (1987) essas proteínas que possuem afinidade pela prata teriam uma função estrutural, impedindo a ligação de histona à cromatina distendida e com isso, promoveria o primeiro estágio para a ativação do DNA ribossômico.

Jimenez *et al.* (1988) observou que em células de mamíferos com a constrição secundária e NORs conhecidas, a marcação pela prata ocorria nas constrições secundárias, mas não em todas e, em metáfases onde a constrição secundária não era observada, ou seja, a cromatina permanecia condensada, não havia marcação pela prata. Os autores concluíram que a impregnação pela prata depende de pelo menos dois fatores: 1) a cromatina que compõe as NORs deve estar descondensada e, 2) essas NORs devem ter estado ativas na intérfase precedente.

As NORs têm mostrado uma grande variabilidade, que permite diferenciar não só espécies, mas também linhagens e, às vezes, indivíduos de mesma linhagem (Almeida-Toledo *et al.*, 1985).

Em muitas espécies de peixes ocorrem variações no tamanho das NORs em cromossomos homólogos. Esse heteromorfismo é provavelmente devido à duplicação em tandem em uma das NORs (Almeida-Toledo *et al.*, 1985).

Porto *et al.* (1992) organizaram uma lista com as espécies de peixes da bacia amazônica com o cariótipo já descrito. Para esses peixes o autores encontraram

três grupos em relação ao padrão de localização específica de sítios de NORs. O primeiro grupo possui NORs simples, encontradas nas seguintes famílias: Osteoglossidae, Anostomidae, Curimatidae, Prochilodidae, Hemiodidae, Pimelodidae, Apteronotidae, Sternopygidae e Cichidae; o segundo grupo apresentam NORs múltiplas, tendo como representantes as famílias Serrasalmidae e Lebiasinidae, e o terceiro grupo com NOR simples e múltiplas nas famílias Erhythrinidae, Characidae e Callichthyidae.

Guimarães *et al.* (1995), estudaram três espécies pertencentes à subfamília Glandulocaudinae, e apesar do número cromossômico permanecer constante com 2n=52, a fórmula cariotípica variou. Essas variações foram melhor percebidas quando analisadas as Regiões Organizadoras de Nucleólos em nível populacional. Estes autores sugerem que vários rearranjos cromossômicos ocorreram durante o processo evolutivo do grupo.

Feldberg *et al.* (1999), ao analisarem populações de *Plagioscion squamosissimus* do rio Tefé, lago Catalão, rio Pitinga e *Plagioscion* sp. do lago Catalão, encontraram diferenças inter e intra específicas, tanto na fórmula cariotípica quanto no tamanho e localização das NORs. Em *P. Squamosissimus,* as NORs estão localizadas na posição proximal dos braços longos do último par do complemento sendo heteromórficas em relação ao tamanho das marcações; esse heteromorfismo provavelmente está associado com diferenças populacionais. Em *Plagioscion* sp. foram encontrados dois citótipos **a** e **b:** em ambos, as NORs estão localizadas em posição proximal nos braços longos do primeiro par do complemento. No entanto, no citótipo **a** essas marcações localizam-se em um par de cromossomos metacêntricos e no citótipo **b** em um acrocêntrico.

Born & Bertollo (2000), analisando espécimes de *Hoplias malabaricus,* observaram um polimorfismo nos cromossomos sexuais de fêmeas, que estaria relacionado com as NORs associadas à heterocromatina constitutiva, as quais estão localizadas na posição distal do braço longo. Segundo estes autores, a presença de NORs ativas em ambos os cromossomos sexuais das fêmeas mostrou que os genes RNAr não estão sujeitos ao mecanismo de inativação do X.

Feldberg & Bertollo (1985), ao analisarem 10 espécies de ciclídeos, verificaram que em quase todas, as NORs marcavam o primeiro par do complemento na mesma posição onde encontrava-se uma constrição secundária, sugerindo que provavelmente esta seja uma característica primitiva para este grupo de peixes, visto que em outras espécies de ciclídeos as NORs encontram-se em outros cromossomos, indicando a ocorrência de rearranjos envolvendo esta região.

Venere & Galetti Jr. (1989) estudando 10 espécies de curimatídeos, observaram que apesar da grande similaridade na macroestrutura cariotípica neste grupo de peixes, há modificações internas nos cromossomos, evidenciadas pelo deslocamento das NORs. Isso caracteriza um tipo de evolução cromossômica que mantém os cariótipos quase idênticos porém não totalmente conservados. Nesse caso, as NORs podem ser usadas como um caráter citotaxonômico para algumas espécies.

Os estudos citogenéticos realizados em Siluriformes por Dias (1987), Hochberg & Erdtmann (1988), Andreata (1991), Fenocchio & Bertollo (l992),Martins-Santos *et al.* (1996), Dias & Foresti (1993), Andreata *et al.* (l993), Scavone & Júlio Jr. (1995), Artoni & Bertollo (1999), Artoni *et al.* (1999) e vários outros autores (citados por Porto *et al.*;1992), demonstraram que as espécies possuem apenas um par de NOR. Esta característica parece ser bastante conservada nesse grupo de peixes, pois em todas

as espécies cariotipadas até o momento, apenas quatro espécies da família Callichthyidae (Oliveira, 1987; Porto & Feldberg, 1988; Porto & Feldberg, 1992) e sete espécies de Loricariidae (Artoni & Bertollo, 1996) apresentaram mais de dois cromossomos marcados pelo nitrato de prata.

1.5.2 - Heterocromatina Constitutiva

A heterocromatina constitutiva presente na maioria das espécies de eucariotos pode ser considerada um tipo especial de cromatina, que é formada por DNA constituído de seqüências curtas e repetidas de nucleotídeos, o DNA altamente repetitivo. Esse DNA não é codificador em termos de transcrição, portanto, representa um estado reprimido ou inativo de cromatina (Bianchi, 1978, *apud* Andreata, 1991). Outra característica muito marcante da heterocromatina constitutiva é a replicação tardia do DNA, que se inicia no final da fase S (Guerra, 1988).

Lozano *et al.* (1991) analisaram, através de métodos convencionais de banda-C, fluorocromos e enzimas de restrição, o complemento cromossômico de *Oncorhynchus kisutch.* Estes autores demonstraram a existência de dois tipos de heterocromatina constitutiva. O primeiro tipo está associado às NORs, ricas em seqüências G-C, que cora fortemente por CMA_3, e são sensíveis quando tratadas pelas enzimas de restrições Dde I, Hae III e Hinf I, que clivam nas regiões (C/TNAG), (GG/CC) e (G/ANTC) respectivamente. O outro grupo de heterocromatina constitutiva está localizado em algumas regiões teloméricas e centroméricas que por sua vez, são sensíveis quando tratadas por enzimas de restrições Alu 1 e Mob a1 que clivam nas regiões (AG/CT) e (/GATC). Essas diferenças demonstram que as características naturais, organização e/ou estrutural da cromatina nestas regiões, diferem nas suas seqüências de base.

Andreata (1991) ao analisar oito espécies de loricariídeos pertencentes a cinco gêneros da subfamília Hypoptopomatinae, encontrou em dois gêneros diferenças nos padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva. As populações de *Ontocinclus affinis* do rio Bonito (Niterói-RJ) e rio Biguá (Miracatu-SP) evidenciaram grandes blocos C-positivos aparentemente comum às duas populações; no entanto, os espécimes de Miracatu apresentaram, além desses blocos, um padrão de bandas centroméricas e teloméricas. Nas populações de *Microlepidogaster leucrofenatus* de Ribeirão de Poço Grande (Juquiá-SP) e de Rio Marumbi (Morretes-PR), foram evidenciadas diferenças entre os padrões de heterocromatina constitutiva. Na população de Morretes, grandes blocos de heterocromatina constitutiva estão presentes nos cromossomos subtelocêntricos, já na população de Juquiá estes blocos não aparecem no cariótipo. Segundo o autor a alteração dos padrões de heterocromatina constitutiva parece constituir-se num fator de diferenciação entre as duas populações, podendo configurar um processo incipiente de especiação.

Moreira-Filho & Galetti Jr. (1996) identificaram, através de diferentes técnicas de bandeamentos, três tipos de heterocromatina constitutiva em *Astyanax scabripinnis*: a primeira com pequenas marcações centroméricas e pericentroméricas na maioria dos cromossomos do complemento; o segundo são bandas no braço curto do par 18, coincidindo com os locais de NORs e que evidenciam sinais quando corados com cromomicina A3 e mitramicina; o terceiro tipo são regiões heterocromáticas fortemente coradas com Giemsa após o bandeamento C, e que mostram-se sem nenhuma marcação pela NOR, CMA_3, MM ou DA/DAPI ssugerindo que não seriam ricas nem em G-C (MM^-) nem em AT ($DA/DAPI^-$). Porém, quando a DAPI é corada sem o contracorante essas heterocromatina são marcadas mostrando serem ricas em A-T. Os autores sugerem

que ocorra competição e/ou transferência de energia de excitação entre o DAPI e o contra corante.

Nakayama (1997), ao analisar dez espécies pertencentes a três gêneros de piranhas, encontrou em quase todos os indivíduos, cromossomos marcados nas regiões centroméricas e pericentroméricas pelo bandeamento C, mas apenas as espécies do gênero *Serrasalmus* apresentaram um par de cromossomos M-SM médio com um bloco de heterocromatina proximal no braço longo. Esta característica foi sugerida pela autora como um marcador cromossômico, provavelmente uma sinapomorfia do gênero *Serrasalmus.*

Margarido & Galetti Jr. (1999) analisaram os cromossomos de duas espécies de peixes do gênero *Brycon (B. lundii* e *B. microlepis)* e de *Salminus hilarii.* Ao comparar o padrão de banda C das espécies *B. lundii* e *B. microlepis* com aquelas já descritas na literatura, os autores sugeriram uma origem monofilética para o gênero *Brycon,* com pelo menos duas sinapomorfias cromossômicas, que seria a presença de um grande par de cromossomos submetacêntricos marcados por blocos conspícuos de heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas e teloméricas, e ainda, um grande par metacêntrico com uma heterocromatina constitutiva equilocal foi observada nas espécies de *Brycon* e *S. hilarii* e em outros caracídeos, sugerindo uma sinapomorfia para a subfamília, podendo formar uma unidade monofilética entre os Characidae.

Artoni *et al.* (1999), ao estudarem duas espécies de peixes neotropicais, *Leporinus elongatus* (Characiformes) e *Liposarcus anisitisi* (Siluriformes), evidenciaram após tratamento com fluorocromos, solução salina aquecida (HSS) e bandeamento C, que a heterocromatina constitutiva possuía um caráter heterogêneo no seu complemento cariotípico. Demonstraram que em ambas as espécies, a coloração dos

cromossomos com mitramicina (MM) produziram marcações em alguns segmentos heterocromáticos, que são positivos ao bandeamento C, sugerindo que esses segmentos cromossômicos sejam ricos em G-C. Entretanto, em *L. Elongatus*, segmentos que foram positivos ao bandeamento C, foram negativos à coloração com MM e coloração com Giemsa após tratamento com HSS.

Margarido & Galetti Jr. (2000), analisando a heterocromatina constitutiva de *Leporinus desmotes,* classificaram estas em duas categorias: a primeira localizava-se em regiões centroméricas e não apresentava sinais brilhantes quando coradas com mitramicina; a segunda categoria, está associada à NOR e também apresenta-se em regiões intersticiais e teloméricas, possuindo fortes marcações quando coradas com mitramicina, indicando estas regiões como ricas em seqüências G-C. A diferença composicional na maior parte da heterocromatina constitutiva em *L. desmotes* sugere que esses segmentos cromossômicos adicionais podem ter se originado através de uma amplificação intensa. Portanto, é possível que uma heterocromatina primordial rica em seqüências G-C, mais provavelmente aquela associada à NOR, espalhou-se ao longo de alguns cromossomos por processo de amplificação.

Galetti Jr. & Foresti (1986) ao estudarem 4 espécies de *Leporinus* observaram, através do bandeamento C, um sistema do tipo ZZ/ZW. Estes autores sugerem que um processo de heterocromatinização, o qual provavelmente envolveu cromossomos indistinguíveis entre si e que posteriormente, a acumulação dessa heterocromatina resultou na diferenciação do cromossomo W, originando um sistema sexual do tipo ZZ/ZW em *Leporinus.*

A heterocromatina constitutiva representa um importante mecanismo na evolução dos cromossomos sexuais dos peixes neotropicais. Em alguns casos a

diferença dos cromossomos sexuais parece ser limitada a um pequeno segmento de heterocromatina constitutiva exclusivo no cromossomo Y ou W, não sendo verificado diferenças de tamanho ou morfologia. Em outros casos a heterocromatinização primária parece ter sido seguida por um processo de acúmulo do segmento heterocromático e conseqüente alongamento do cromossomo heterológo W ou Y em relação ao homólogo original Z ou X (Moreira-Filho *et al.,* 1993).

1.6 – ASPECTOS GERAIS DA CITOGENÉTICA EM PEIXES

Segundo Almeida-Toledo *et al.* (1993), os estudos citogenéticos em peixes têm fornecido importantes subsídios para o melhor entendimento das relações evolutivas entre espécies e populações e, em colaboração com áreas afins, têm contribuído na caracterização de espécies crípticas, de híbridos e de poliplóides.

Com relação aos estudos citogenéticos já realizados com os teleósteos, uma quantidade diversa de números cromossômicos foi encontrada, distribuindo-se de 14 até 140. O cariótipo desse grupo apresenta também uma imensa variedade de fórmulas cromossômicas, com diferentes quantidades de cromossomos metacêntricos, submetacêntricos, telocêntricos e acrocêntricos, havendo no entanto uma concentração em torno de 2n=48, com muitos acrocêntricos e poucos metacêntricos (Brum, 1995).

Quando se compara o cariótipo dos peixes marinhos com o dos dulcícolas, nota-se uma diferença significativa entre eles. Os teleósteos marinhos apresentam em geral, uma pequena variabilidade no número de cromossomos, o que poderia ser devido à ausência de barreiras, à maior vagilidade de seus representantes e à ocorrência de populações formadas por muitos indivíduos, mantendo assim a estabilidade e a ampla distribuição do cariótipo de 48 cromossomos e NF=48 (Brum, 1995).

Por outro lado, as investigações com os peixes de água doce mostram que estes possuem, em geral, números diplóides maiores que 48 e uma maior variabilidade de composição cromossômica, incluindo quantidades diferentes de metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos (Oliveira *et al.*, 1988; Porto *et al.*, 1992). Isto talvez seja devido ao fato de que os peixes de água doce possuem populações menores e mais isoladas (Brum, 1995).

Segundo Oliveira *et al.* (1988), os subgrupos de Ostariophysi demonstram uma tendência em aumentar o número cromossômico e o número fundamental (NF) ao longo de sua evolução (Figura 9), indicando uma prevalência por cariótipos com dois braços nos subgrupos.

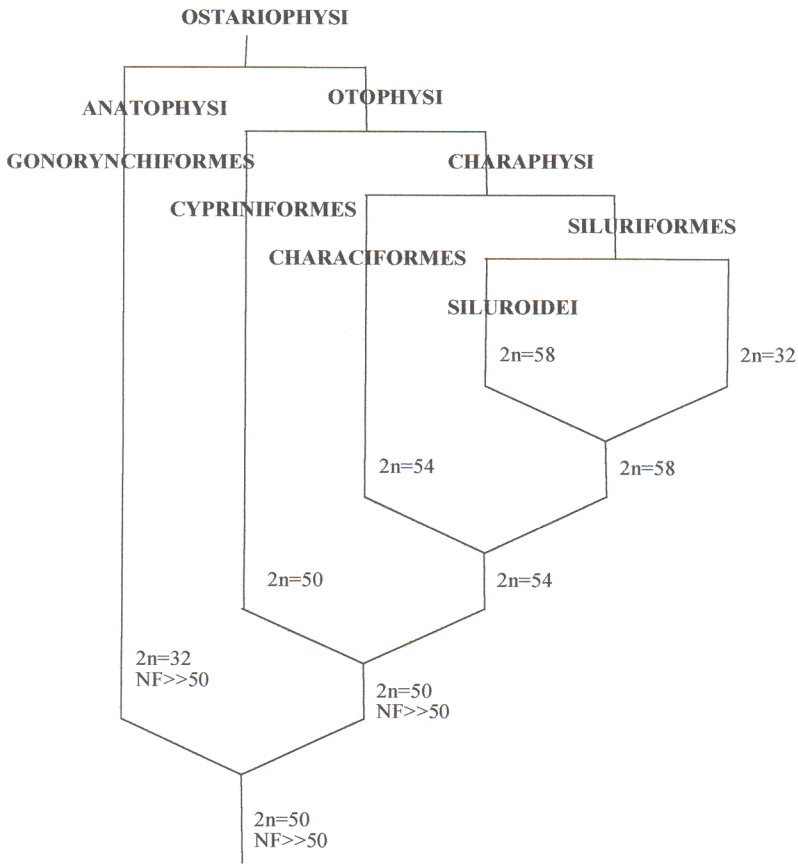

Figura 9. Número diplóide dos subgrupos de Ostariophysi proposto por Oliveira *et al.*, (1988).

Acerca dos Ostariophysi de água doce, a ordem Characiformes é o grupo melhor estudado, com o número diplóide variando de 2n=22 a 2n= 102 (Oliveira *et al.*, 1988; Porto *et al.*, 1993). Entretanto, as famílias Anostomidae, Curimatidae, Chilodontidae, Parodontidae e Prochilodontidae exibem uma grande estabilidade na macro-estrutura cariotípica, com 2n=54 cromossomos de dois braços e um sistema de NOR simples. Feldberg *et al.* (1992) sugeriram que o cariótipo ancestral da família Curimatidae provavelmente consista de 2n=54. Segundo Vari (1983) com exceção a Parodontidae, estas famílias têm sido consideradas como grupos irmãos. Poucas variações têm sido notadas neste padrão cariotípico (Feldberg *et al.*, 1992). Portanto, a similaridade cariotípica observada entre esses grupos pode ser uma sinapomorfia, sendo 2n= 54 o cariótipo ancestral para o grupo (Venere & Galetti, 1989).

Enquanto outras famílias como Erythrinidae, Characidae e Lebiasinidae são caracterizadas por números cromossômicos menores que 2n=54, há grupos com números diplóides maiores que 2n=54, tais como Serrasalmidae (Oliveira *et al.*, 1988; Porto *et al.*, 1992). Essas famílias mostram, além disso, uma ampla variação na sua morfologia cariotípica, número diplóide e múltiplas NORs, como o caso de *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae) que possui até cinco citótipos distintos. Dois deles exibem 2n=40, mas com diferenças na morfologia cromossômica e sem diferenciação dos cromossomos sexuais (Bertollo, *et al.* 1986). Outros dois citótipos foram caracterizados pela presença de um sistema sexual múltiplo. Em um citótipo, os machos apresentam 2n=39 e as fêmeas 2n=40; no outro, as fêmeas têm 2n=40 e os machos 2n=42 (Bertollo *et al.*, 1983; 1997). O quinto citótipo possui 2n=42, mostrando algumas diferenças entre populações distintas, bem como um possível sistema sexual XX/XY (Bertollo *et al.*, 1979).

Um outro grupo de peixes, os Cypriniformes, mostram uma prevalência em 2n=50, sendo que, nesta ordem é comum encontrar cariótipos com 2n=100, possívelmente indicando um caso de tetraploidização (Oliveira *et al.*, 1988; Brum, 1995).

Entre os Siluriformes o número modal é 2n= 58. A ampla dispersão do número diplóide em diversas modas entre seus membros sugere que rearranjos cromossômicos foram freqüentemente associados com os processos de especiação neste grupo. Além disso, a alta freqüência de números diplóides maiores que 2n=58 (24% das espécies cariotipadas) sugere que eventos de especiação entre os Siluriformes foram relacionados a um aumento no número cromossômico. Algumas famílias, tais como Callichthyidae e Loricariidae, além do incremento no número de cromossomos, também tiveram um aumento no conteúdo de DNA, sugerindo que eventos de poliploidia podem ter estado presentes na história evolutiva destas famílias (Oliveira *et al.*, 1988). De acordo com LeGrande (1981) o ancestral dos bagres provavelmente tinha 2n=58 cromossomos.

1.6.1 – Análises Citogenéticas em Loricariidae

As análises citogenéticas em loricariídeos tiveram seu início na década de setenta, onde Michele *et al.* (1977) descreveram pela primeira vez o cariótipo de cinco espécies, *Plecostomus paulinus* com 2n=74, *P. ancistroides* com 2n=68, *P. strigaticeps* com 2n=74, *P. macrops* com 2n=68 e *Loricaria macrodon* com 2n=58. Estes autores sugeriram que os exemplares do gênero *Plecostomus* tiveram uma origem tetraplóide e *Loricaria* uma origem triplóide. Para as espécies de *P. ancistroides* e *P. macrops* foi encontrado um par heteromórfico, possivelmente de natureza sexual.

Loricaria prolixa tem um número modal 2n=62 e NF= 84; as NORs

marcaram apenas um par e a heterocromatina constitutiva está presente nas regiões centroméricas e no braço longo de um par cromossômico acrocêntrico, o mesmo padrão foi descrito para *Loricaria* sp (Scavone & Júlio Jr., 1993/94). Estes autores encontraram de zero a cinco cromossomos supernumerários em fêmeas de *Loricaria prolixa* e *Loricaria* sp. provenientes do rio Paraná.

Andreata (1991) comparou, citogenéticamente, oito espécies da subfamília Hypoptopomatinae *Otocinclus affinis* apresentou 2n=54, enquanto *Microlepdogaster leucofrenatus* teve um 2n variando entre 54, 55 e 56. Nesta última espécie foi identificada a presença de um sistema de diferenciação sexual do tipo ZZ/ZW e zero a dois cromossomos supernumerários. Outras espécies analisadas foram *M. depressicauda* com 2n=54, *Microlepdogaster* sp. com 2n=54, *Pseudotocinclus tietensis* com 2n=54, *Pseudotithyris obtusa* com 2n=54 e *Parotocinclus maculicauda* com 2n=54 e *Otocinclus* aff *vetitus,* com 2n=72. As espécies com 2n=54 apresentaram variabilidade na constituição cariotípica, localização das NORs e padrões de heterocromatina constitutiva. Todas as espécies apresentaram um único par de NORs. Segundo o autor, a variabilidade cariotípica encontrada nas espécies e populações com 2n=54 deve estar relacionada com a ocorrência de rearranjos do tipo inversões pericêntricas. Já os rearranjos do tipo fissão/fusão cromossômica parecem estar envolvidos nas relações cariotípicas entre *O.* aff *vestitus* e as demais espécies.

Scavone & Júlio Jr. (1995), analisando 26 espécimes de *Loricariichthys platymetopon*, encontraram um número diplóide de 54 cromossomos e NF=84 em machos e fêmeas, com um heteromorfismo sexual de tipo ZZ/ZW. A heterocromatina constitutiva marcou apenas as regiões centroméricas dos cromossomos sexuais, como ocorre no restante dos cromossomos do cariótipo, além de todo o braço menor de um

par submetacêntrico, onde é coincidente com a NOR.

Artoni & Bertollo (1996) analisaram o cariótipo de 10 espécies da subfamília Hypostominae: *Hypostomus ancistroides* com 2n=68, *Hypostomus* sp.A com 2n=70, *Hypostomus* sp.B com 2n=72, *Hypostomus regani* com 2n=72, *Hypostomus* sp.C com 2n=72, *Hypostomus* sp.$D_{(1)}$ com 2n=72, *Hypostomus* sp.$D_{(2)}$ com 2n=72 *Hypostomus albopunctatus* com 2n=74, *Hypostomus* aff *auroguttatus* com 2n= 76 e *Hypostomus* sp.E com 2n=80. Diferenças marcantes no número de cromossomos metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos foram observadas. Algumas espécies apresentaram apenas um par marcado pela NOR, com diferenças de tamanho entre os homólogos, enquanto em outras espécies foram encontradas até seis marcações. Quanto ao padrão da heterocromatina constitutiva, em geral, foi detectada nas regiões centroméricas e/ou teloméricas em discretos blocos. Em algumas espécies, pequenos blocos intersticiais foram detectados, enquanto que alguns blocos mais conspícuos estavam associados à NOR.

Artoni & Bertollo (1999) analisaram o aspecto e a estrutura da heterocromatina constitutiva de 30 espécies do gênero *Hypostomus*. O número diplóide variou de 2n=68 até 2n=80. Foi observada uma grande variação na fórmula cariotípica, a qual é evidente neste grupo. Dois tipos de heterocromatina ricas em G-C e A-T foram identificadas com o uso de fluorocromos CMA_3 e DAPI. Em algumas espécies as bandas-C marcaram principalmente regiões teloméricas e centroméricas dos cromossomos, em outras espécies foram observadas marcações intersticiais.

Apesar da grande importância que os loricariídeos representam para a região amazônica, poucos têm sido os trabalhos científicos referentes a eles. As análises citogenéticas feitas até agora sugerem que os principais eventos de diversificação

cariotípica foram os rearranjos Robertsonianos (fissões e fusões), inversões pericêntricas e poliploidia (Michele *et al.,* 1977; Andreata, 1991; Andreata *et al.,* 1993; Artoni & Bertollo, 1996). A grande variação tanto na fórmula cariotípica, quanto no número diplóide indica que este grupo está em processo de especiação. Apesar da importância que estudos citogenéticos têm demostrado para compreender a evolução das espécies através de seus marcadores, nenhum trabalho utilizando essa linha de pesquisa foi proposto para as espécies dos gêneros *Parancistrus, Baryancistrus Peckoltia* e *Ancistrus.* Na Tabela 1 estão sumarizados os dados citogenéticos encontrados em artigos e resumos de congressos científicos para os peixes da família Loricariidae.

Tabela 1. Características citogenéticas encontradas em peixes da família Loricariidae.

Espécies	2n	Fórmula cariotípica			Cromo.	NOR		Cromoss.	Referências
		M	SM	ST/A	Sexuais	Número	Posição	B	
Subfamília Plecostominae									
Plecostomus ancistroides	68	10	28	30		?	?		Michele *et al.*(1977)
Plecostomus macrops	68	10	14	44		?	?		Michele *et al.*(1977)
Plecostomus strigaticeps	74	8	4	62		?	?		Michele *et al.*(1977)
Plecostomus paulinus	74	10	20	44		?	?		Michele *et al.*(1977)
Subfamília Hypostominae									
Hypostomus aff. *Auroguttatus*	76	8	30	38		2	q/A		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus albopunctatus	74	10	20	44		4	q/A-p/M		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus ancistroides	68	16	18	34		6	p/2SM; ST		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus emarginatus	52	16	30	6		2	q/M		Artoni (1996)
Hypostomus plecostomus	54	36 (M/SM)		18		?	?		Muramoto *et al.*(1968)
Hypostomus regani	72	10	20	42		4	q/A-p/ST		Artoni (1996)
Hypostomus regani	72	14	12	46		2	p/ST		Lara-Kamei & Júlio Jr. (2000)
Hypostomus sp.	74	14	16	44		2	q/A		Lara-Kamei & Júlio Jr. (2000)
Hypostomus sp. A	70	18	14	38		4	q/A-p/M		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp. B	72	12	18	42		2	q/ST-A		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp. B	72	13	18	41		?	?		Artoni & Bertollo (1999)
Hypostomus sp. C	72	10	18	44		3	q/A		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp. D1	72	10	26	36		2	q/ST		Artoni & Bertollo (1996)

Cont.

Hypostomus sp. D2	72	14	20	38		2	q/A		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp. E	80	8	16	56		2	p/ST-A		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp. F	76	10	16	50		?	?		Artoni & Bertollo (1999)
Hypostomus sp. F	75	10	17	48		?	?		Artoni & Bertollo (1999)
Hypostomus sp. G	64	14	24	26		?	?		Artoni & Bertollo (1996)
Hypostomus sp.1	64	14	24	24	ZZ/ZW	?	?		Oliveira & Venere (2000)
Hypostomus sp.2 (citotipo A)	72	38(M/SM)		34		?	?		Oliveira & Venere (2000)
Hypostomus sp.2 (citotipo B)	72	26(M/SM)		48		?	?		Oliveira & Venere (2000)
Hypostomus tietensis	68	14	12	42					Oliveira & Foresti (1993)
Liposarcus sp.	52	16	24	12		2	q/SM		Artoni (1996)
Pogonopoma sp.	54	?	?	?		4	q/SM		Artoni *et al.* (1993)
Pogonopoma wertheimeri	54	20	30	4		5	2q/SM-q/M		Artoni (1996)
Rhineleps asperas	54	20	26	8		2	q/M		Artoni (1996)
Rhinelepsis sp.	54	?	?	?		4	q/SM		Artoni *et al.* (1993)
Pterygoplichthys multiradiatus	52	?	?	?		?	?		Della-Rosa *et al.* (1980)
Subfamília Loricariinae									
Loricaria macrodon	58	18	2	38		?	?		Michele *et al.*(1977)
Loricaria prolixa	62	20	4	38		2	p/SM	0-5	Scavone & Júlio Jr. (1993/94)
Loricaria sp.	64	10	6	48		1	q/ST	0-5	Scavone & Júlio Jr. (1993/94)
Loricaria sp.	62	?	?	?		?	?		Della-Rosa *et al.* (1980)
Loricariichthys platimetopon	52	30(M/SM)		22	ZZ/ZW	2			Scavone & Júlio Jr. (1993/94)

Cont.

Sturisoma cf. *nigrirostrum*	74	20	18	36		?	?		Artoni (1996)
Subfamília Hypoptopomatinae									
Microlepidogaster leucrofenatus	54	22	26	4	ZZ/ZW	2	p/M	0-2	Andreata (1991)
Microlepidogaster leucrofenatus	54	22	24	6	ZZ/ZW	2	q/M	0-2	Andreata (1991)
Microlepidogaster sp.1	54	30	20	2		2	1q/ST-1p/ST		Andreata (1991)
Microlepidogaster sp.2	54	22	28	4		2	p/M		Andreata (1991)
Otocinclus aff. *vestitus*	72	22	12	38		2	q/A		Andreata (1991)
Otocinclus affinis	54	46	8			2	q/M		Andreata (1991)
Otocinclus affinis	54	40	12	2		2	q/M		Andreata (1991)
Parotocinclus maculicauda	54	20	32	2		2	q/SM		Andreata (1991)
Pseudotocinclus tietensis	54	26	20	6	XX/XY	2	q/M		Andreata (1991)
Pseudotothyris obtusa	54	26	18	10		2	q/ST		Andreata (1991)
Subfamília Ancistrinae									
Hemiancistrus sp.	52	20	20	12		2	q/SM		Artoni (1996)
Panaque cf. *nigrolineatus*	52	26	20	6		?	?		Artoni (1996)

2 – OBJETIVOS

2.1 – OBJETIVO GERAL

Caracterizar, cariotipicamente, espécies dos gêneros *Baryancistrus, Parancistrus, Peckoltia* e *Ancistrus* pertencentes à subfamília Ancistrinae da bacia amazônica.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar o cariótipo das espécies através da coloração convencional (Giemsa), da identificação das regiões organizadoras de nucléolos (NORs), heterocromatina constitutiva (Banda-C) e Cromomicina A_3.

Inferir sobre os possíveis mecanismos da evolução cariotípica nos gêneros, com base nas análises dos dados cromossômicos.

Fornecer dados adicionais para uma identificação taxonômica das espécies.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – AS ESPÉCIES DE LORICARIÍDEOS ANALISADAS

No presente trabalho foram analisadas as características cariotípicas de nove espécies de peixes da subfamília Ancistrinae, família Loricariidae, quatro pertencendo ao gênero *Baryancistrus,* uma ao gênero *Parancistrus*, três ao gênero *Peckoltia* e uma ao gênero *Ancistrus*.

Foram coletados no rio Xingu, município de Altamira-PA, espécimes de *Baryancistrus* aff. *niveatus* e *Peckoltia vittata*; na orla do Campus da Universidade Federal do Pará de Altamira. Os espécimes de *Baryancistrus* sp.2, *Baryancistrus* sp.3, *Parancistrus* sp.1 e *Ancistrus ranunculus* foram coletados em uma região de pedral denominada de Cotovelo e Gorgulho da Rita. (Figura 10).

No rio Jari município de Monte Dourado os espécimes de *Baryancistrus* sp.1 foram coletados na cachoeira Santo Antônio e o espécime de *Peckoltia* sp.1 e *Peckoltia* sp.2 foram coletados próximo ao porto de Monte Dourado (Figura 10).

Os exemplares foram identificados por Jaime Ribeiro Carvalho Junior Presidente da ONG CENJA (Centro Jovem de Aquarismo).

Tabela 2. Local de coleta e número de indivíduos analisados por espécie.

Espécies	N° total de indiv.	♂	♀	Local de coleta
B. aff. *niveatus*	03	01	02	Rio Xingu na orla da UFPA em Altamira
Baryancistrus sp.1	08	0	08	Rio Jari na Cachoeira S. Antônio em Monte Dourado
Baryancistrus sp.2	12	03	09	Rio Xingu no Cotovelo em Altamira
Baryancistrus sp.3	01	01	0	Rio Xingu no Cotovelo em Altamira
Parancistus sp. 1	10	03	07	Rio Xingu no Cotovelo e G. da Rita em Altamira
Peckoltia vittata	07	04	03	Rio Xingu na orla da UFPA em Altamira
Peckoltia sp.1	01	0	01	Rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado
Peckoltia sp. 2	01	0	01	Rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado
Ancistrus ranunculus	05	04	01	Rio Xingu no Cotovelo e Gorgulho da Rita em Altamira

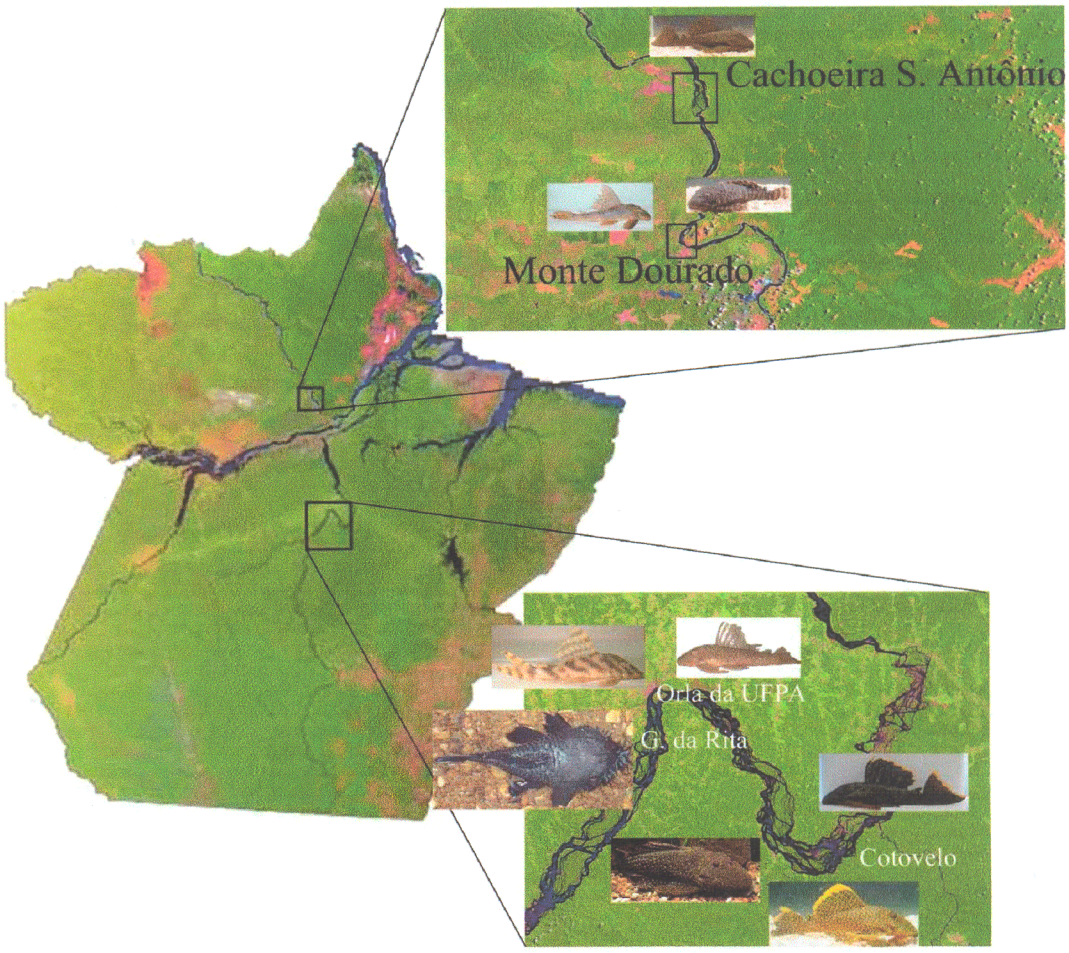

Figura 10. Locais de coletas das espécies analisadas.

Monte Dourado/PA – Rio Jari (Cachoeira Santo Antonio S=03°18'14,9", W=52°03'29,3")

Altamira/PA – Rio Xingu (Gorgulho da Rita S=03°19'58,6", W= 52°10'42.8"; Cotovelo S=03°50'46.6", W=52°29'22,3" e Orla da UFPA em Altamira S=03°12'48", W=52°12'41.7")

3.2 – TÉCNICA DE INDUÇÃO DE MITOSES

Visando obter um melhor resultado no índice mitótico, foi aplicada a técnica de indução de mitoses por fermento descrita por Cole & Leavens (1971) para anfíbios e répteis, modificada por Bertollo (1986), para peixes, com o seguinte procedimento:

1. Preparar uma solução de fermento biológico (Fleischmann) na seguinte proporção: 0,5g de fermento, 0,5g de açúcar e 7mL de água destilada;
2. Incubar a solução em estufa (37° C) por cerca de 20 minutos;
3. Injetar a solução intramuscularmente na região dorso-lateral do peixe, na proporção de 1 mL para l00g de peso do animal;
4. Deixar o peixe em aquário com sistema de aeração por 48h, antes de ser sacrificado.

3.3 – OBTENÇÃO DOS CROMOSSOMOS MITÓTICOS

No estudo dos cromossomos mitóticos foi utilizado o rim cefálico, que é o órgão hematopoiético nos peixes, preparado segundo a técnica de "air drying" modificada, para peixes, por Bertollo *et al.* (1978) que consiste em:

1. Injetar, intraperitonialmente, uma solução aqüosa de cochicina 0,025% na proporção de lmL/100g de peso do animal;
2. Manter o peixe em tanque aerado por um período de 45 minutos. Em seguida sacrificar o animal e retirar o rim;
3. Colocar o rim em pequenas cubas de vidro contendo 10mL de solução hipotônica de cloreto de potássio, 0,075M;
4. Dissociar bem o material. Para melhor separação dos blocos celulares, utilizar

uma seringa de vidro desprovida de agulha, aspirando e expirando suavemente o material;

5. Levar a suspensão obtida para estufa a 37°C por 30 minutos;
6. Ressuspender, cuidadosamente, o material com auxilio de uma pipeta Pasteur, em seguida transferi-lo para um tubo de centrífuga e adicionar 4 gotas de fixador Carnoy (álcool metílico: ácido acético 3:1), recém preparado e gelado a uma temperatura de 4°C;
7. Centrifugar durante 10 minutos à 900 rpm, descartando o sobrenadante;
8. Adicionar, com cuidado, 5mL do fixador Carnoy, deixando escorrer através da parede do tubo;
9. Ressuspender cuidadosamente o material com auxilio de uma pipeta Pasteur;
10. Repetir os itens 7 a 9 por mais duas vezes. Após a última centrifugação e eliminação do sobrenadante, adicionar fixador em quantidade suficiente para obter uma suspensão celular de boa concentração (cerca de lmL de fixador para cada 0,5mL de sedimento). Ressuspender com cuidado e guardar em tubos de Ependorff no freezer (-18°C) ou trabalhar.

3.4 – TÉCNICA DE COLORAÇÃO CONVENCIONAL

1. Gotejar a suspensão sobre diferentes regiões de uma lâmina limpa e previamente AQUECIDA em água a 60^0C, aproximadamente ou sobre um banho Maria 60°C, aproximadamente;
2. Secar diretamente em ar;
3. Corar com Giemsa, diluído a 10% em tampão fosfato, pH 6,8 a 0,06M por l0 minutos e lavar em água destilada;
4. Secar ao ar e observar ao microscópio.

3.5 – TÉCNICA DE BANDEAMENTO C

A técnica para a caracterização da heterocromatina constitutiva (banda C), foi basicamente aquela descrita por Sumner (1972), com algumas alterações.

1. Pingar 2 gotas da suspensão celular em uma lâmina e deixar secar;
2. Imergir a lâmina, com pelo menos 2 dias de envelhecimento, numa cubeta contendo HCl 0,2N, temperatura ambiente, por 15 minutos;
3. Lavar em água destilada e deixar secar ao ar;
4. Incubar a lâmina em solução salina de 2xSSC, aquecida previamente a 60°C, por 15 minutos;
5. Lavar em água destilada e deixar secar;
6. Imegir a lâmina em solução de hidróxido de bário a 5%, recém preparada e filtrada, a 46°C por 1 minuto e 20 segundos;
7. Lavar em HC1 0,2N, a 46°C para interromper a ação do bário;
8. Incubar a lâmina em uma solução de 2XSSC a 60°C por 30minutos;
9. Lavar em água destilada e deixar secar;
10. Corar com Giemsa a 10% por 20 minutos, lavar com água destilada e deixar secar;
11. Observar ao microscópio e fotografar as metáfases.

3.6 – TÉCNICA PARA DETECÇÃO DA REGIÃO ORGANIZADORA DO NUCLÉOLO (NOR)

A técnica para a caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolo (RON), foi aquela descrita por Howell & Black (1980).

1. adicionar sobre uma lâmina já com material, 1 gota de gelatina aquosa a 2% (acrescida de ácido fórmico na proporção de lmL para cada l00mL de solução);

2. Adicionar sobre a gota anterior, 2 gotas de solução aqüosa de nitrato de prata a 50%. Misturar levemente e cobrir com a lamínula;
3. Incubar numa câmara úmida em banho-maria a 60^0C, por 5 minutos, ou dependendo do monitoramento da coloração da lâmina;
4. Após o tempo apropriado, lavar em água destilada, possibilitando que a lamínula seja retirada pela própria água. Corar com Giemsa 2%, diluído em tampão fosfato pH 6,8, durante 30 segundos, lavar em água corrente e deixar secar ao ar;
5. Levar ao fotomicroscópio e fotografar as melhores metáfases.

3.7 – TÉCNICA DE MARCAÇÃO COM CROMOMICINA CMA_3

Para a marcação das regiões ricas em pares de bases G-C, foi utilizada a técnica descrita por Schweizer (1980), com algumas modificações que incidem, principalmente, no pH do tampão McIlvaine (Lima, 1986) e na substituição do contracorante inicialmente indicado por Schweizer (Distamicina A) por verde metil (Donlon & Magenis, 1983).

1. Colocar 100μmL de CMA_3 sobre a lâmina (preparada e envelhecida por dois dias) e cobrir com uma lamínula plástica ;
2. Incubar numa câmara escura mantida à temperatura ambiente, por 30 minutos;
3. Após o tempo apropriado, retirar a lamínula e lavar a lâmina com tampão MacIlvaine, pH=5,6 e deixar secar ao ar;
4. Em seguida mergulhar a lâmina em uma solução de verde metil por 15 minutos;
5. Lavar novamente a lâmina com tampão MacIlvaine, pH=5,6 e deixar secar ao ar;
6. Colocar uma solução composta por 50% de glicerol e 50% de tampão MacIlvaine sobre a lâmina, e cobrir com uma lamínula de vidro, deixando armazenada em uma câmara escura por cerca de 15 dias em uma temperatura de

4°C para a estabilização do fluorocromo.

7. Decorrido esse tempo, a lâmina foi analisada em microscópio de Fluorescência Zeiss Axioplan 2. Para a observação da marcação com CMA_3 foi usados os filtros da Zeiss conjunto 05: BP 395-440, FT 460 e LP 470;
8. As melhores metáfases foram filmadas e capturadas através de uma câmera Axiocam MRM acoplada ao microscópio;
9. Para digitalização das imagens foi utilizado o software Axiovision instalado em um computador PC Pentium IV.

3.8 – ESTUDOS CARIOTÍPICOS

Para a caracterização cromossômica foram analisados, dentro do possível, exemplares machos e fêmeas de cada espécie. O número modal das espécies analisadas foi estabelecido após a contagem de 30 metáfases por indivíduo.

Para estabelecer o número modal de NORs, foram analisadas 15 metáfases completas (com número de cromossomos igual à moda para o espécime).

As melhores metáfases em coloração convencional e as submetidas ao bandeamento C e coloração Ag-NORs foram fotografados em um microscópio Zeiss Axioskop 2, em campo claro e com objetiva de imersão, utilizando-se filme Imagelink Kodak HQ 33 mm perfurado. O filme foi revelado com D-76 e fixado com fixador Kodak. As metáfases foram copiadas em papel F3 da Kodak e reveladas em Dektol Kodak

3.9 – MEDIDAS CROMOSSÔMICAS

As melhores metáfases fotografadas em coloração convencional foram recortadas, e os cariótipos montados e organizados aos pares e em ordem decrescente de tamanho em uma folha de papel. A seguir os cromossomos foram medidos utilizando um compasso da seguinte forma:

1. Colocar uma folha de papel carbono entre o cariótipo montado e uma folha de papel branca;
2. Com a ponta de uma agulha perfurar o centrômero, após isso, fazer perfurações sempre em linha reta até atingir as extremidades das cromátides. Essas perfurações ficarão impressas na folha branca;
3. Com o paquímetro mede-se as distancias entre as perfurações até as extremidades das cromátides, determinado-se o comprimento do braço maior (q), do braço menor (p) e o comprimento total (Ct) de cada cromossomo. A partir destas será determinado o comprimento relativo (Cr %) de cada par cromossômico em relação ao comprimento total do lote haplóide.

A relação de braços (RB) foi calculada pelo valor obtido da razão entre o comprimento do braço maior (q) e comprimento do braço menor (p) [RB q/p]. O comprimento relativo (Cr %) de cada par cromossômico foi obtido em relação ao comprimento total do lote haplóide, dividindo o comprimento total de cada cromossomo multiplicado por 100 pelo comprimento total de todos os cromossomos do lote haplóide (CLH), e posteriormente expressado em porcentagem [Cr= (Ct x l00)/CLH] (Giannoni, *et al.,* 1986; Guerra, 1988). Para determinar o número de braços (número fundamental-NF), foram considerados os cromossomos Metacêntricos, Submetacêntricos e Subtelocêntricos como tendo dois braços e os Acrocêntricos como tendo um.

Os cromossomos foram classificados de acordo com a relação de braços proposta por Levan *et al.* (1964), classificados em: Metacêntricos (RB de 1,00 a 1,70), Submetacêntricos (RB de 1,71 a 3,00), Subtelocêntricos (RB de 3,01 a 7,00) e Acrocêntricos (RB maior que 7,00).

4 – RESULTADOS

4.1 – O GÊNERO *BARYANCISTRUS*

4.1.1 - Cariótipo de *Baryancistrus* aff. *niveatus* (Figura 11)

A análise de um total de 104 células mostra que ambos os sexos apresentam 2n=52 e NF=104 (Tabela 3), sendo 16 cromossomos metacêntricos, 32 submetacêntricos e 4 subtelocêntricos (Tabela 4, Figura 12). Não foram encontradas diferenças cariotípicas entre os indivíduos e nem heteromorfismo cromossômico sexual mitótico.

A heterocromatina constitutiva apresentou-se na forma de blocos bastante conspícuos em posição pericentromérica no par 6, na região intersticial do braço curto do par 3, sendo coincidente com a constrição secundária; ocupando quase todo o braço longo dos pares 1 e 10; nas porções distais do braço curto do par 11 e braço longo do par 22, sendo mais evidente em um dos homólogos. Alguns dos cromossomos restantes do complemento apresentaram marcações centroméricas menos evidentes e outros não apresentaram marcações (Figura 13).

As NORs foram localizadas em posição intersticial no braço curto do 3º par metacêntrico (Figura 14A), sendo coincidente com a banda C positiva.

. A cromomicina A_3 (CMA3) marcou a região do par 3 correspondente à NOR, e a heterocromatina constitutiva dos pares 11 e 22 indicando serem essas regiões ricas em pares de bases G-C (Figura 14B).

As marcações pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos.

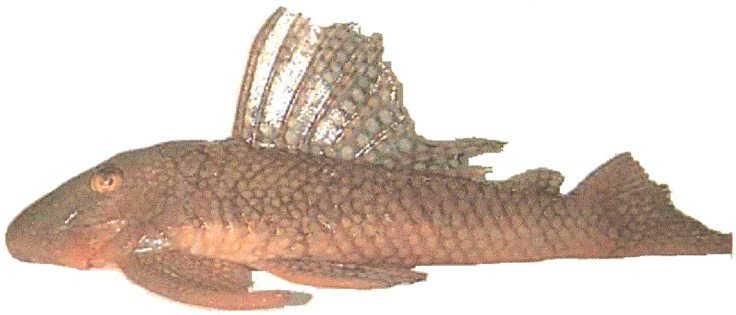

Figura 11. Espécie *Baryancystrus* aff. *niveatus* capturado no rio Xingu na orla da UFPA de Altamira.

Tabela 3. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* aff. *niveatus*.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
406	F	0	2	32	34	52
407	F	0	7	29	36	52
525	M	0	7	27	34	52

Tabela 4. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* aff. *niveatus*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico.

Número do Par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,03	7,19	M
2	1,63	5,71	M
3	1,33	4,32	M
4	1,59	4,41	M
5	1,27	3,42	M
6	1,20	3,42	M
7	1,21	3,11	M
8	1,22	2,96	M
9	2,38	2,91	SM
10	1,72	2,73	SM
11	1,85	7,29	SM
12	2,12	6,48	SM
13	2,15	4,64	SM
14	2,04	4,21	SM
15	2,74	4,2	SM
16	2,17	4,09	SM
17	2,63	3,64	SM
18	1,97	3,59	SM
19	1,76	3,5	SM
20	2,28	3,08	SM
21	1,95	2,92	SM
22	2,07	2,87	SM
23	2,16	1,9	SM
24	2,18	1,88	SM
25	3,48	2,82	ST
26	3,55	2,72	ST

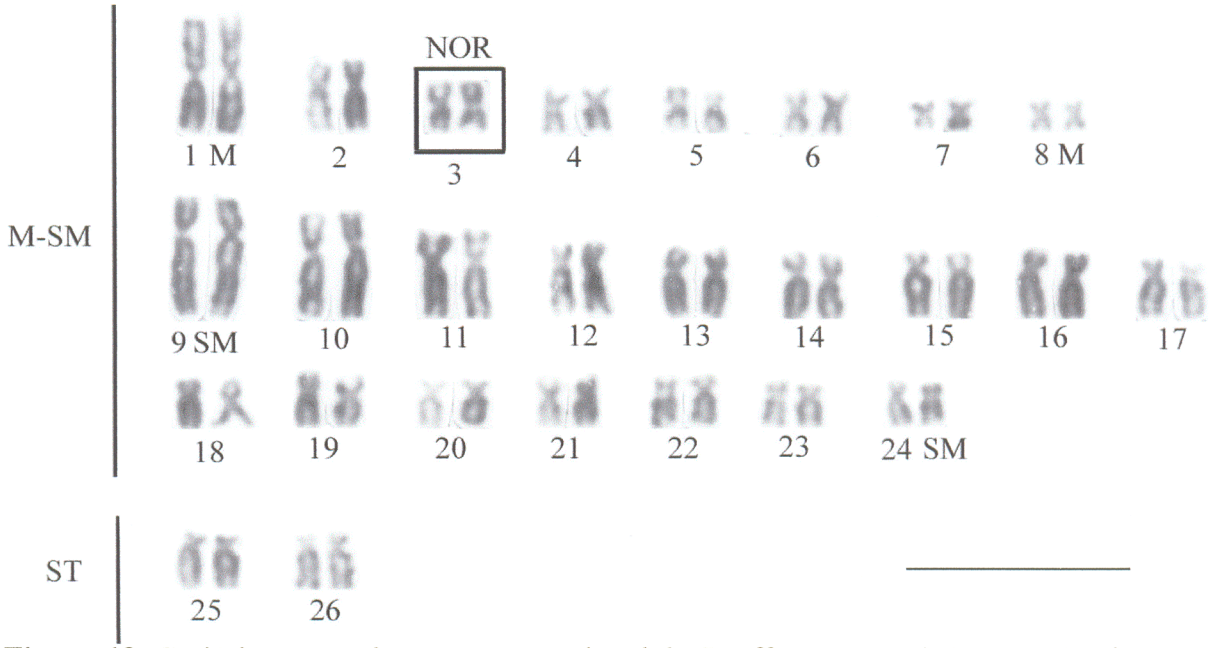

Figura 12. Cariótipo por coloração convencional de *B.* aff. *niveatus*. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

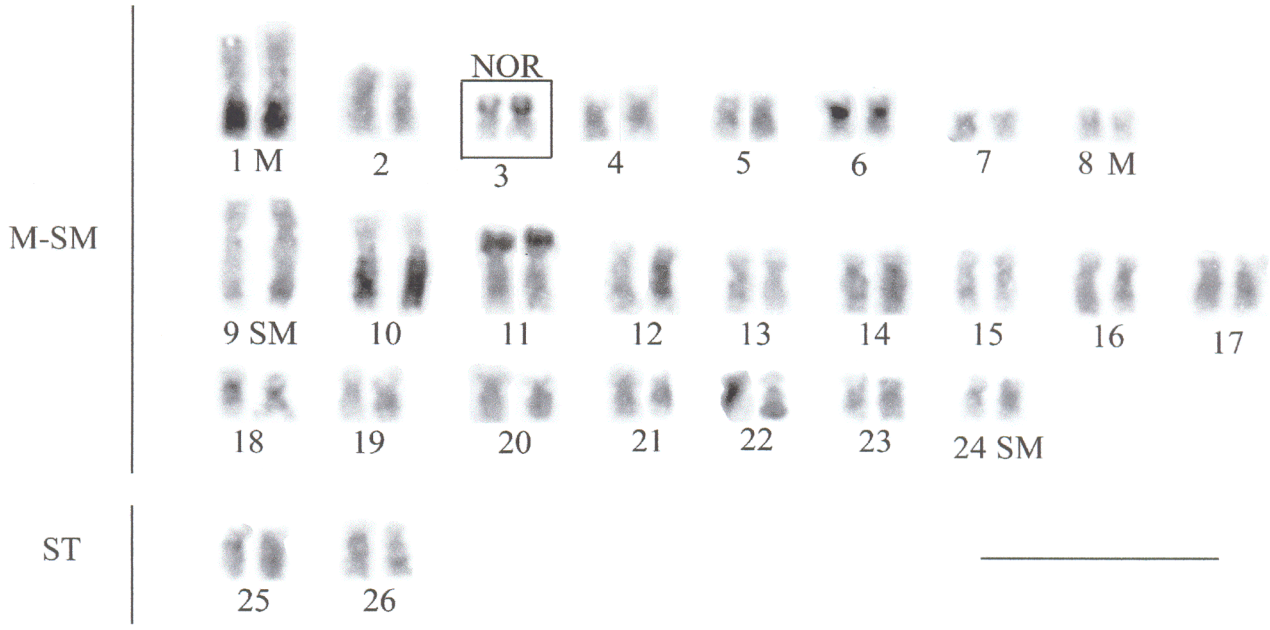

Figura 13. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

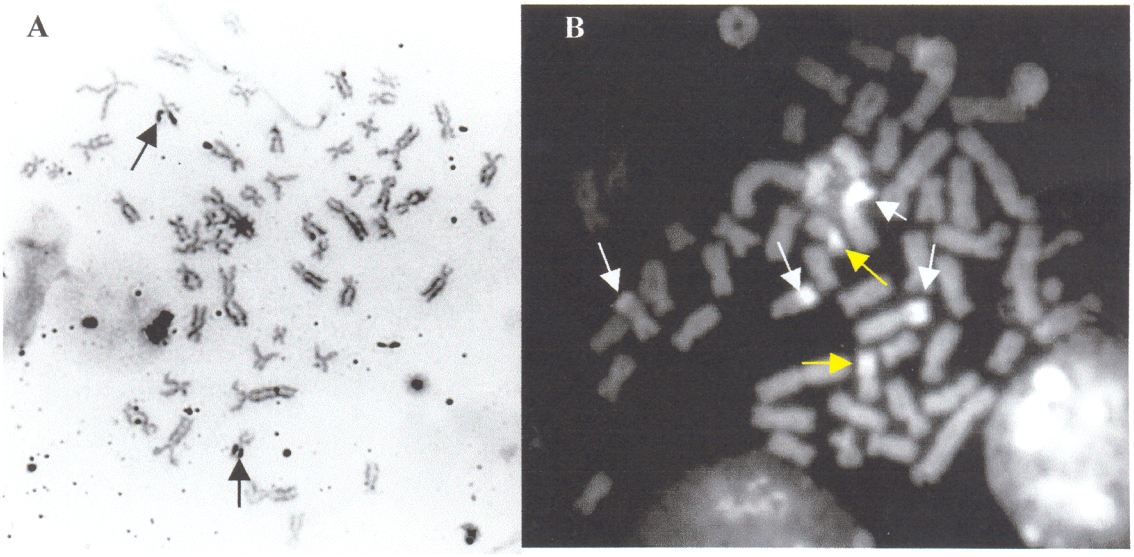

Figura 14. Metáfases observadas em *B.* aff. *niveatus.* Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NORs indicados pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em amarelo indicando as marcações nas NORs e setas em branco indicando as regiões de heterocromatina constitutiva ricas em pares de bases G-C.

4.1.2 – Cariótipo de *Baryancistrus* sp.1 (Figura 15)

A análise de um total de 200 células mostra que ambos os sexos apresentam 2n=52 e NF=104 (Tabela 5), sendo 8 cromossomos metacêntricos, 34 submetacêntricos e 10 subtelocêntricos (Tabela 6, Figura 16). Não foram encontradas diferenças cariotípicas entre os indivíduos e nem heteromorfismo cromossômico sexual mitótico.

A heterocromatina constitutiva foi mais evidente nos pares cromossômicos 12, 13, 17, 20 e 21, na forma de pequenos blocos em posição centromérica, na região intersticial do braço curto do par 18, sendo coincidente com a constrição secundária e no par 19 em posição centromérica e distal no braço curto. Alguns dos cromossomos restantes do complemento apresentaram marcações centroméricas menos evidentes e outros não apresentara marcação (Figura 17).

As NORs foram localizadas em posição intersticial no braço curto do par 18, um submetacêntrico de tamanho médio coincidente com a banda C positiva (Figura 18A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de apenas um par de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs (Figura 18B).

As marcações pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região NOR entre os cromossomos homólogos.



Figura 15. Espécie *Baryancistrus* sp.1, coletado nas cabeceiras da cachoeira S. Antônio no rio Jari em Monte Dourado.

Tabela 5. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.1.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
445	F	0	3	26	29	52
446	F	3	3	32	38	52
448	F	1	1	17	19	52
452	F	1	3	26	30	52
453	F	1	1	28	30	52
455	F	2	6	25	33	52
456	F	1	3	32	36	52
457	F	0	2	28	30	52

Tabela 6. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.1. RB= relação de braços; CR%= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico.

Número do Par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,07	6,60	M
2	1,51	3,14	M
3	1,64	3,08	M
4	1,10	1,76	M
5	2,20	7,46	SM
6	1,74	6,04	SM
7	2,19	5,03	SM
8	1,76	4,86	SM
9	1,90	4,70	SM
10	1,83	4,64	SM
11	2,04	4,50	SM
12	2,26	3,66	SM
13	2,08	3,20	SM
14	1,89	3,09	SM
15	1,99	3,01	SM
16	2,27	3,01	SM
17	2,14	2,95	SM
18	2,00	2,64	SM
19	1,85	2,59	SM
20	2,29	2,23	SM
21	1,98	2,20	SM
22	3,44	4,61	ST
23	4,46	4,46	ST
24	3,40	3,70	ST
25	3,11	3,49	ST
26	3,06	3,41	ST

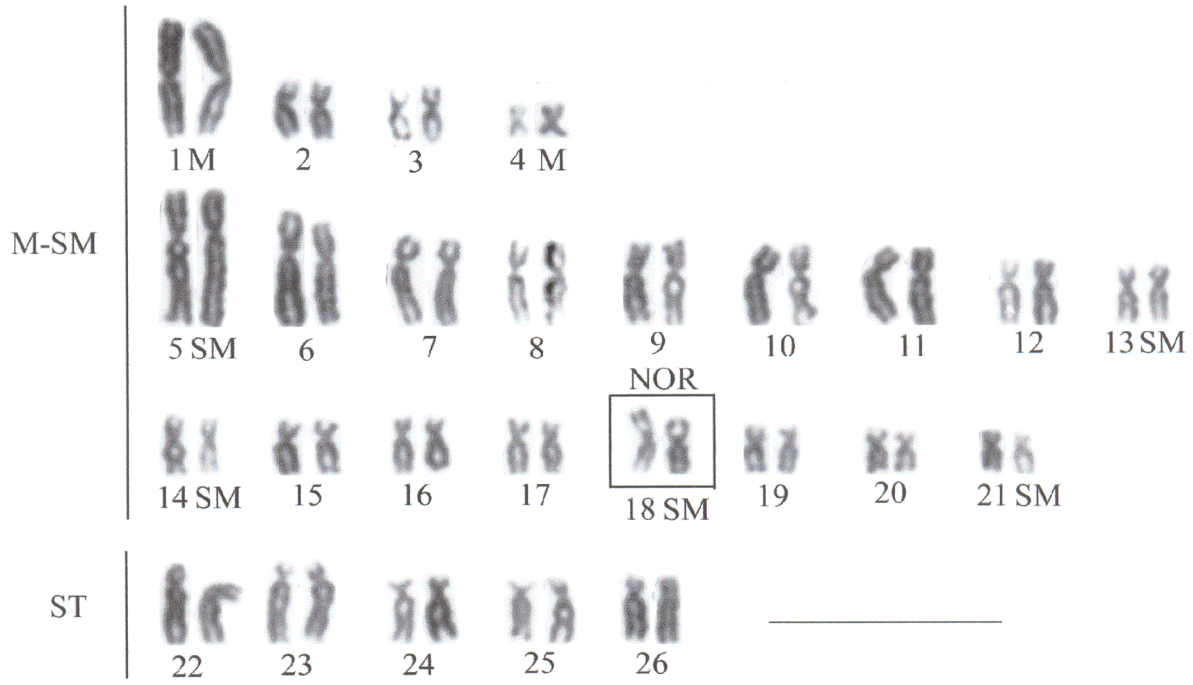

Figura 16. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.1. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

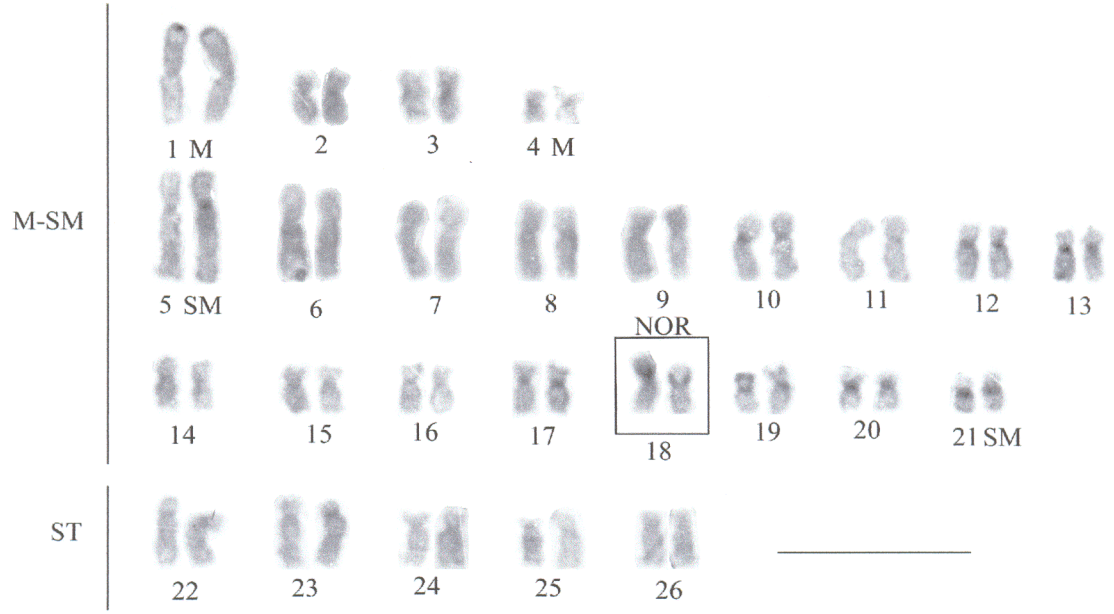

Figura 17. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

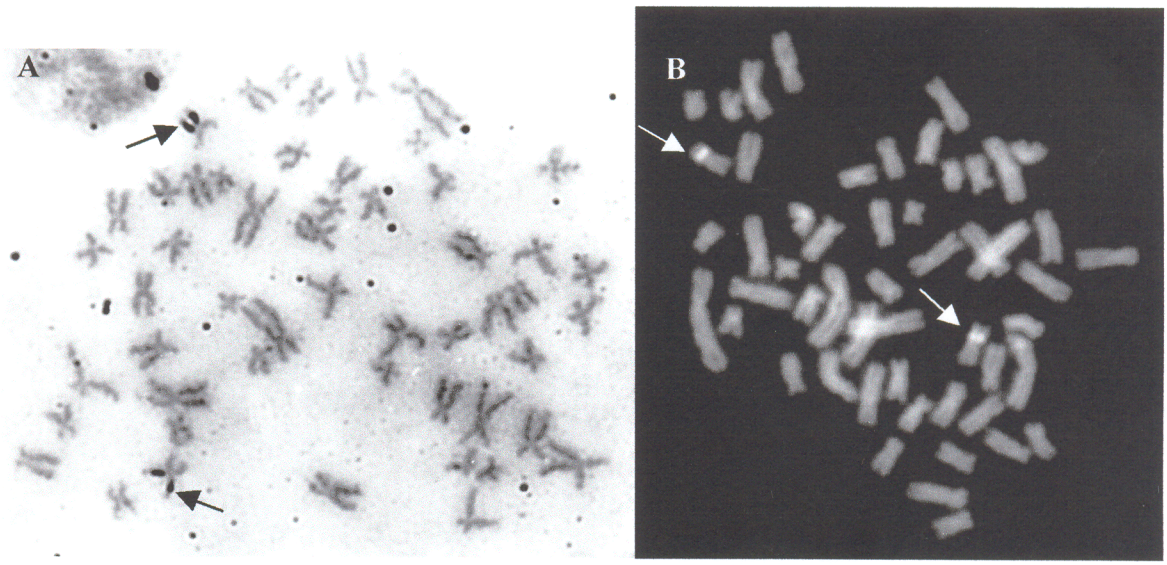

Figura 18. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs.

4.1.3 – Cariótipo de *Baryancistrus* sp.2 (Figura 19)

A análise de um total de 345 células revelou que ambos os sexos apresenta 2n=52 e NF=104 (Tabela 7), sendo 18 cromossomos metacêntricos, 30 submetacêntricos e 4 subtelocêntricos (Tabela 8, Figura 20). Não foram encontradas diferenças entre os indivíduos, e nem heteromorfismo cromossômico sexual mitotico.

A distribuição da heterocromatina constitutiva apresentou-se mais evidente nos pares cromossômicos 8, 10, 23 e 24, na forma de pequenos blocos em posição centromérica, na região intersticial do braço curto do par 6, sendo coincidente com a constrição secundária e no par 11 em posição proximal no braço longo. No restante dos cromossomos do complemento alguns apresentaram marcações centroméricas menos evidentes e outros não apresentara marcação (Figura 21).

As NORs foram localizadas em posição intersticial no braço curto do par 6, um metacêntrico de tamanho médio coincidente com a banda C positiva (Figura 22A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de apenas um par de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs (Figura 22B).

As marcações pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos.

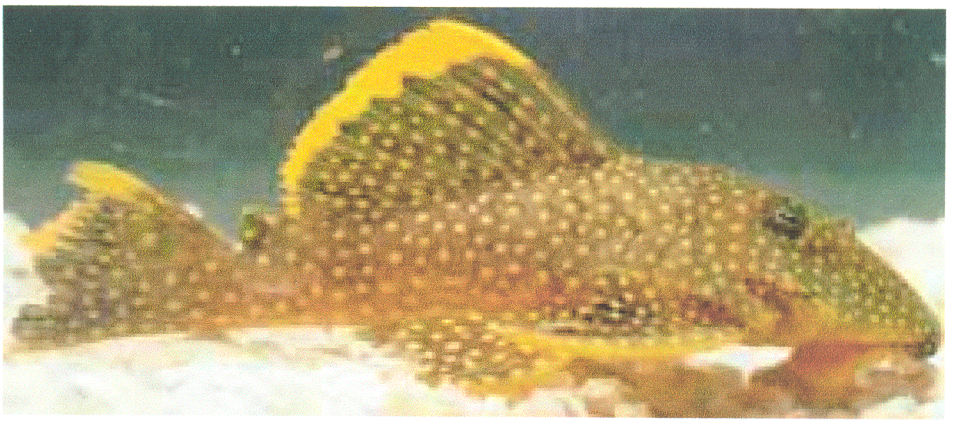

Figura 19. Espécie *Baryancistrus* sp.2, coletado no rio Xingu em Altamira em uma região de pedral denominada Cotovelo.

Tabela 7. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.2.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
471	M	1	5	25	31	52
473	F	1	4	26	31	52
474	M	2	5	19	26	52
475	M	1	2	31	34	52
476	F	3	2	26	31	52
477	F	0	6	25	31	52
478	F	0	3	28	31	52
479	F	0	0	31	31	52
480	F	1	0	4	5	52
481	F	2	6	25	33	52
482	F	0	7	24	31	52
483	F	2	5	24	31	52

Tabela 8. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.2. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,17	6,18	M
2	1,50	4,62	M
3	1,64	4,54	M
4	1,59	3,47	M
5	1,51	3,15	M
6	1,49	3,11	M
7	1,58	2,45	M
8	1,59	2,38	M
9	1,25	2,00	M
10	2,17	6,91	SM
11	1,84	5,92	SM
12	1,81	4,46	SM
13	2,48	4,46	SM
14	2,08	4,32	SM
15	2,45	3,97	SM
16	2,90	3,81	SM
17	2,63	3,81	SM
18	2,45	3,76	SM
19	1,96	3,59	SM
20	2,05	3,43	SM
21	2,01	3,43	SM
22	1,93	3,17	SM
23	1,90	3,09	SM
24	2,19	2,65	SM
25	3,40	4,08	ST
26	3,31	3,24	ST

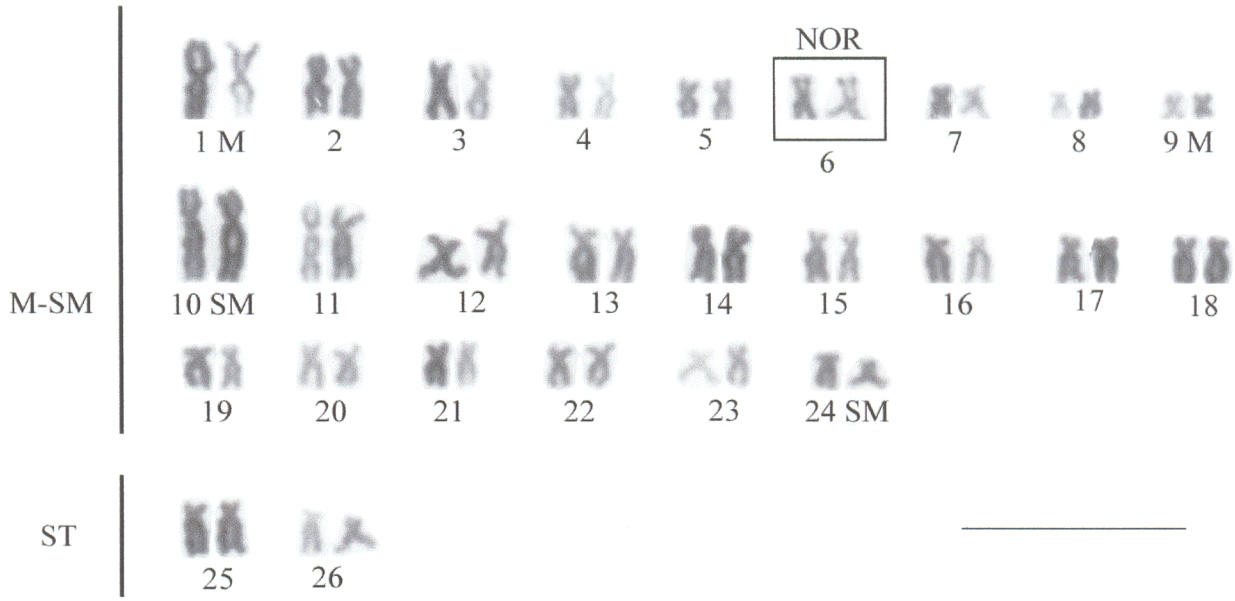

Figura 20. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.2. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

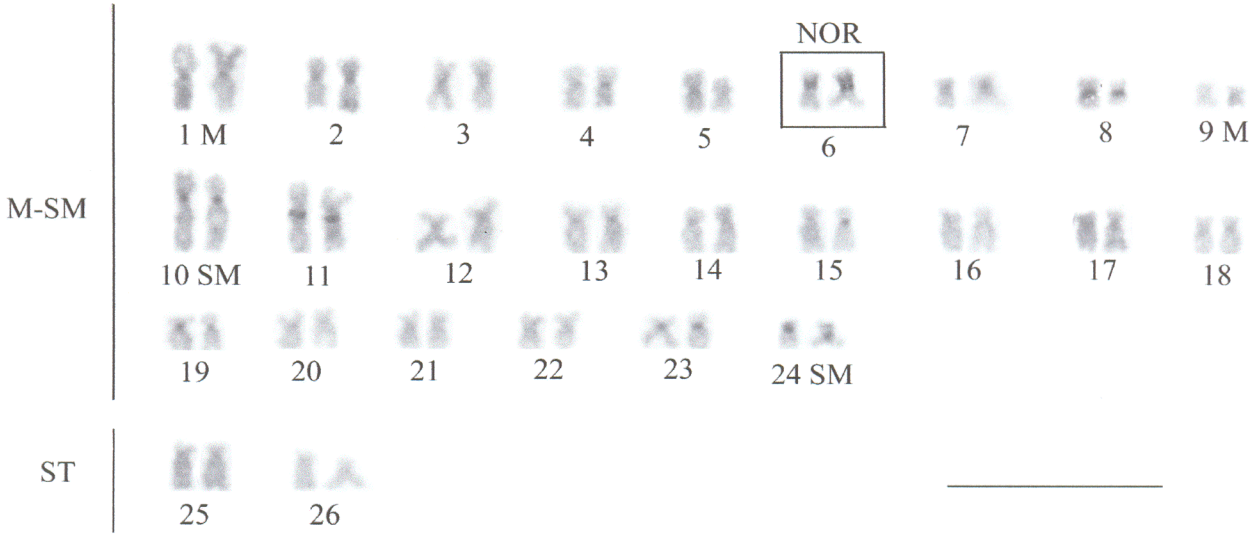

Figura 21. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

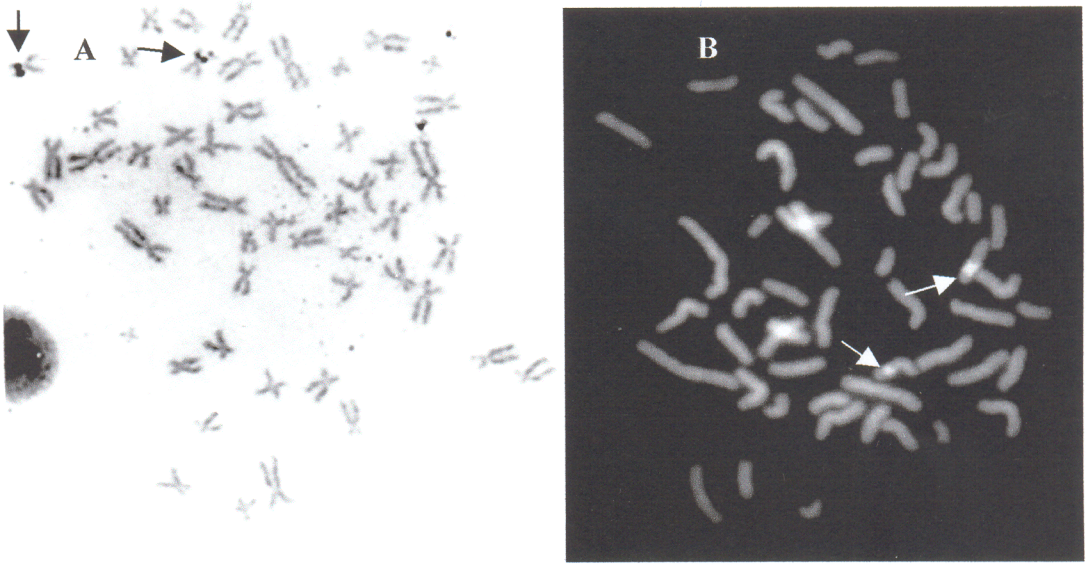

Figura 22. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.2. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs.

4.1.4 - Cariótipo de *Baryancistrus* sp.3 (Figura 23)

A análise de um total de 30 células de um único exemplar macho apresentou 2n=52 e NF=104 (Tabela 9), sendo 14 cromossomos metacêntricos, 26 submetacêntricos e 12 subtelocêntricos, (Tabela 10, Figura 24).

A heterocromatina constitutiva apresentou-se na forma de pequenos blocos ocupando a região centromérica de alguns pares cromossômicos, proximal no braço longo do par 9 e na região intersticial do braço curto do par 4, sendo coincidente com a constrição secundária No restante do complemento o padrão observado de distribuição da heterocromatina foi muito semelhante ao encontrado nas duas espécies anteriores. (Figura 25)

As NORs foram localizadas em posição intersticial no braço curto do par 4, um metacêntrico médio coincidente com a banda C positiva (Figura 26A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de apenas um par de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs (Figura 26B).

As marcações pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos.

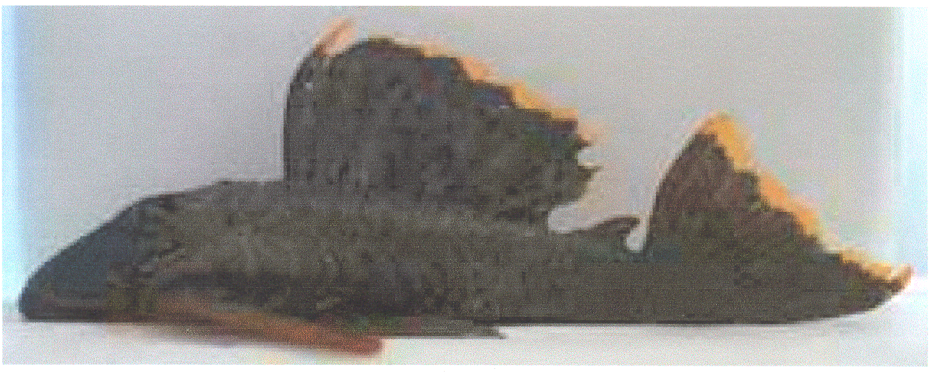

Figura 23. Espécie *Baryancistrus* sp.3, coletado no rio Xingu em Altamira em uma região de pedral denominada Cotovelo.

Tabela 9. Números cromossômicos diplóides em *Baryancistrus* sp.3.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
526	M	1	3	31	35	52

Tabela 10. Valores cromossômicos médios de *Baryancistrus* sp.3. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,24	6,53	M
2	1,56	4,53	M
3	1,36	2,97	M
4	1,48	2,96	M
5	1,67	2,83	M
6	1,19	1,86	M
7	1,17	1,69	M
8	2,22	7,64	SM
9	2,08	6,28	SM
10	2,43	5,11	SM
11	2,14	456	SM
12	1,93	4,50	SM
13	2,01	4,03	SM
14	2,79	3,72	SM
15	2,72	3,30	SM
16	2,00	3,18	SM
17	2,48	3,13	SM
18	2,51	3,12	SM
19	2,46	2,98	SM
20	2,75	2,91	SM
21	4,01	4,67	ST
22	5,20	4,20	ST
23	3,80	4,00	ST
24	3,68	3,61	ST
25	4,22	3,46	ST
26	3,53	2,21	ST

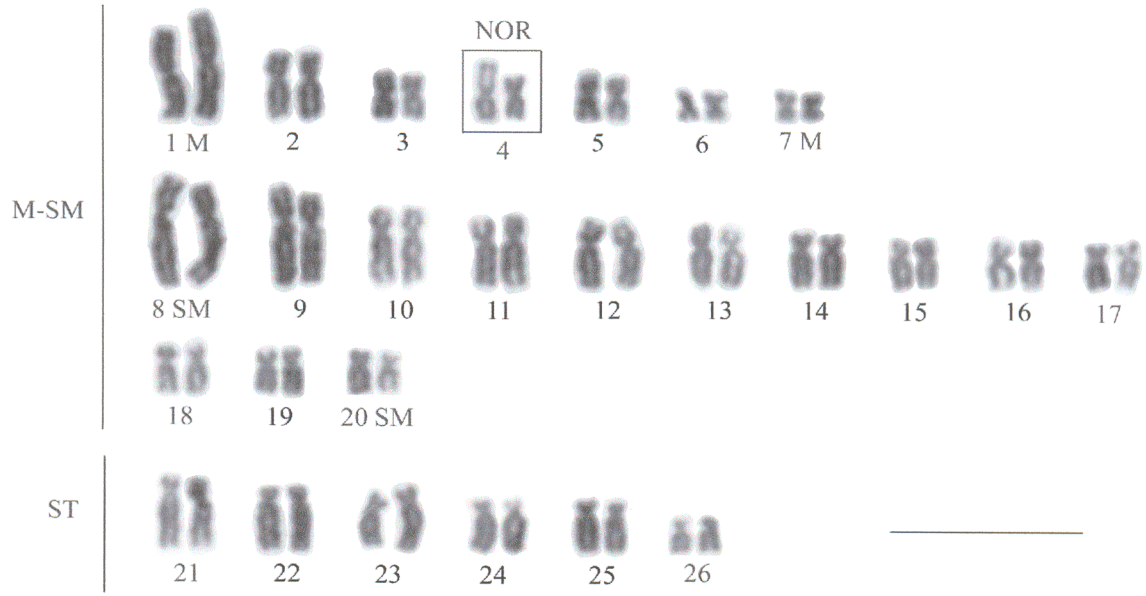

Figura 24. Cariótipo por coloração convencional de *Baryancistrus* sp.3. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

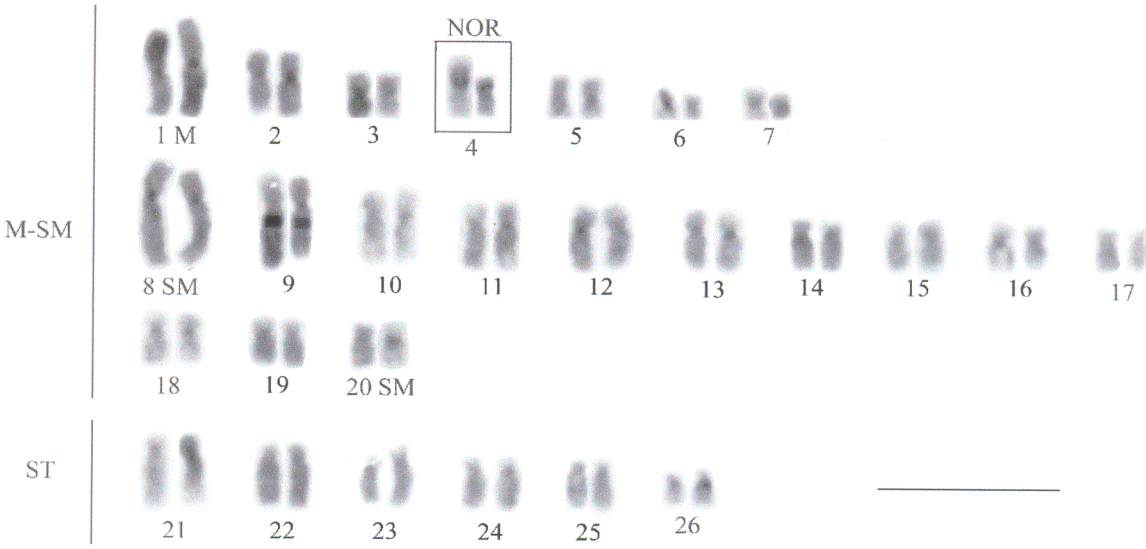

Figura 25. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

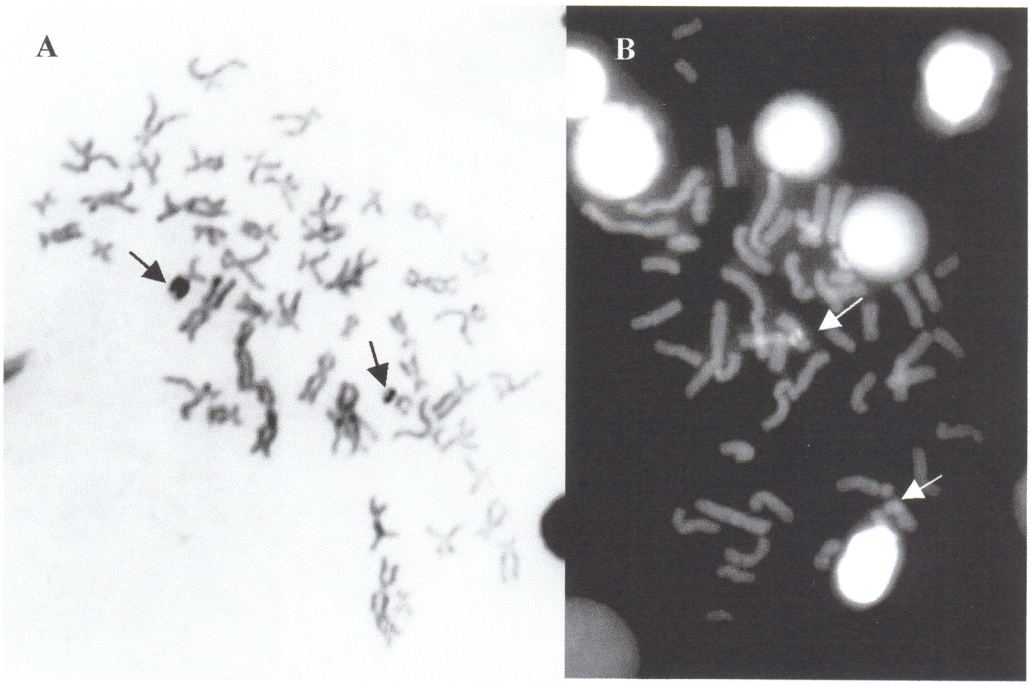

Figura 26. Metáfases observadas em *Baryancistrus.* sp.3. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs.

4.2 – O GÊNERO *PARANCISTRUS*

4.2.1 – Cariótipo de *Parancistrus* sp.1 (Figura 27)

A análise total de 318 células examinadas mostra que em ambos os sexos apresentam 2n=52 e NF=104 (Tabela 11), constituído de 20 cromossomos metacêntricos, 26 submetacêntricos e 6 subtelocêntricos (Tabela 12, Figura 28). Não foram encontradas diferenças cariotípicas entre os indivíduos e nem heteromorfismo cromossômico sexual mitótico

A heterocromatina constitutiva ocorreu na região proximal do braço curto do par 1, em quase todo braço longo do par 6, na região proximal do braço longo dos pares 12 e 13, na região intersticial do braço curto do par 8, sendo coincidente com a constrição secundária. Nos pares 10 e 22 foram encontrados marcações intersticiais nos braços longos e outros não apresentaram marcações (Figura 29).

As NORs foram localizadas em posição intersticial no braço curto do par 8, um metacêntrico de tamanho médio coincidente com a banda C positiva (figura 30A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de apenas um par de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs (Figura 30B).

As marcações pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos.



Figura 27. Espécie *Parancistrus* sp.1, coletado no rio Xingu em Altamira nas regiões de pedral denominadas Cotovelo e Gorgulho da Rita.

Tabela 11. Números cromossômicos diplóides em *Parancistrus* sp.1.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
484	F	1	2	27	30	52
485	F	1	7	25	33	52
486	F	2	2	29	33	52
487	M	1	3	27	31	52
488	M	0	4	27	31	52
489	F	0	2	31	33	52
490	M	0	2	29	31	52
491	F	0	2	30	32	52
492	F	0	2	29	31	52
493	F	1	3	31	35	52

Tabela 12. Valores cromossômicos médios de *Parancistrus* sp.1. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,14	5,39	M
2	1,19	5,10	M
3	1,32	4,23	M
4	1,51	3,29	M
5	1,49	3,15	M
6	1,51	3,15	M
7	1,47	2,62	M
8	1,39	2,54	M
9	1,42	2,51	M
10	1,14	2,06	M
11	1,96	6,81	SM
12	2,04	5,11	SM
13	2,25	4,84	SM
14	2,39	4,72	SM
15	1,92	4,55	SM
16	2,37	4,37	SM
17	1,82	4,36	SM
18	1,98	4,33	SM
19	2,14	3,55	SM
20	1,84	3,25	SM
21	2,12	2,91	SM
22	2,09	2,87	SM
23	2,20	2,73	SM
24	3,42	4,29	ST
25	3,33	3,92	ST
26	3,31	3,34	ST

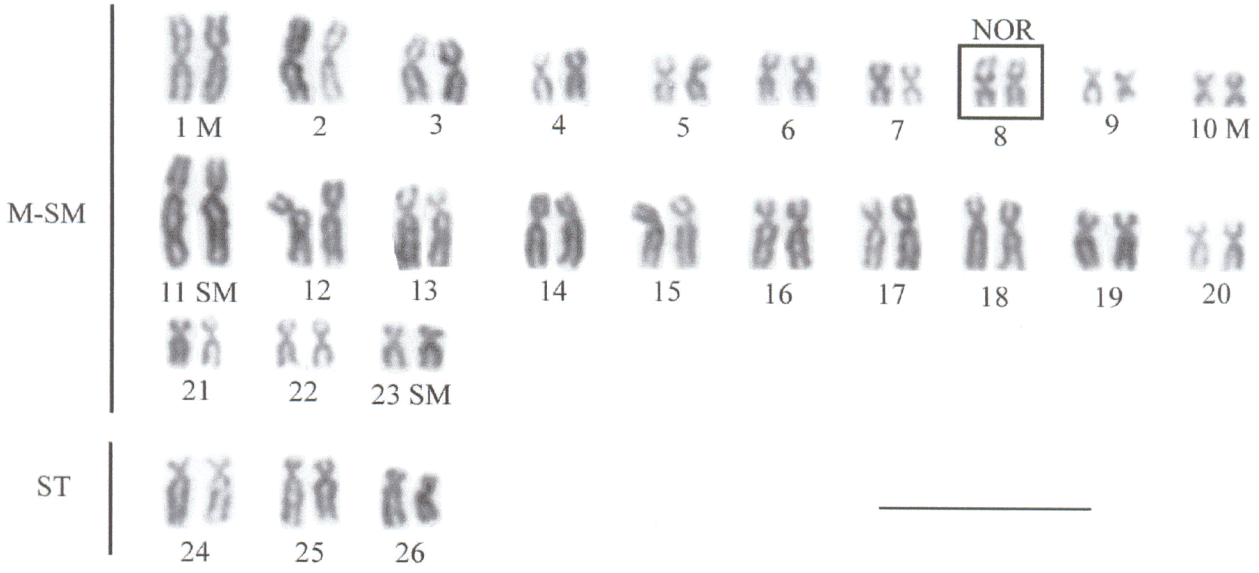

Figura 28. Cariótipo por coloração convencional de *Parancistrus* sp.1. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

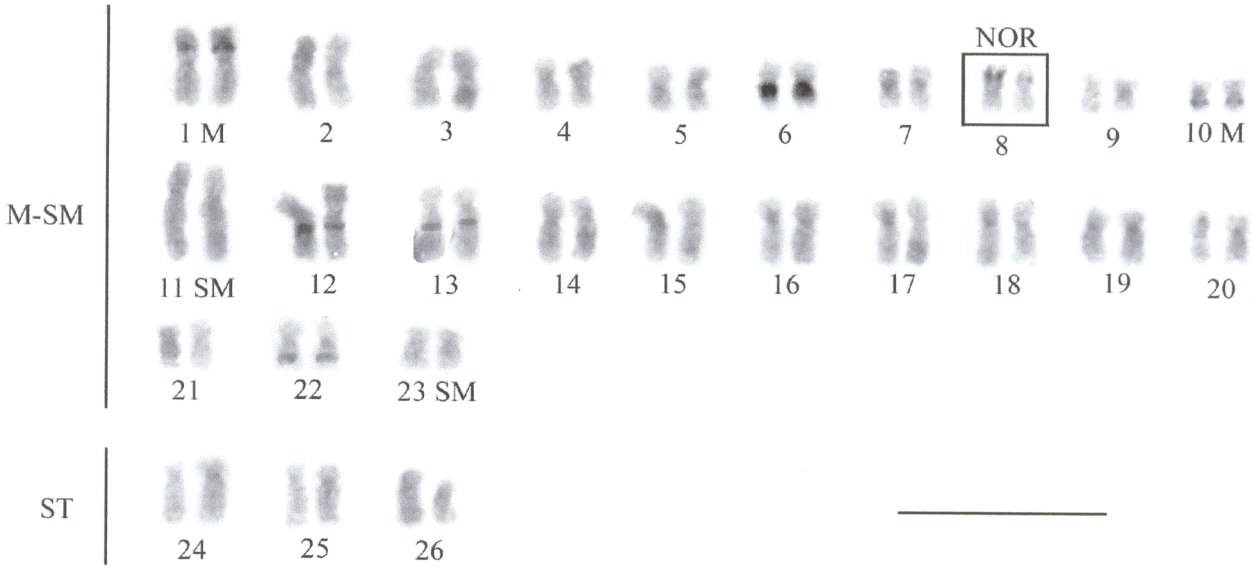

Figura 29. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

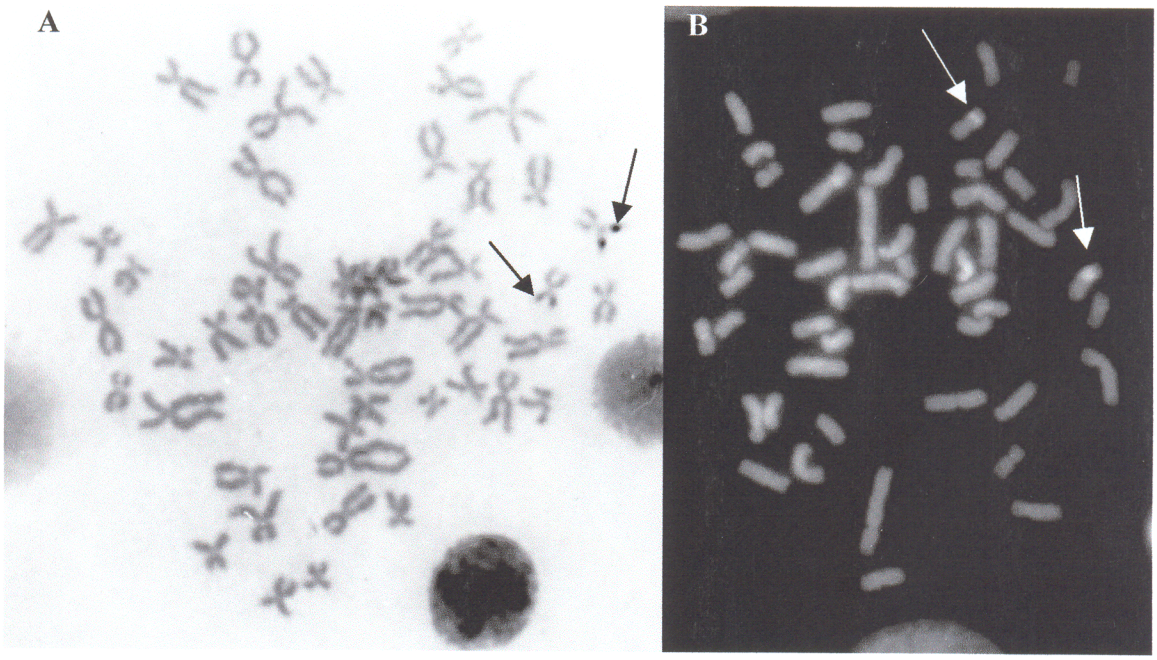

Figura 30. Metáfases observadas em *Parancistrus.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs.

4.3 – O GÊNERO *PECKOLTIA*

4.3.1 – Cariótipo de *Peckoltia vittata* (Figura 31)

A análise de um total 196 células examinadas revelou que em ambos os sexos apresentam 2n=52 e NF= 102 (Tabela 13), sendo 16 cromossomos metacêntricos, 20 submetacêntricos, 14 subtelocêntricos e 2 acrocêntricos (Tabela 14, Figura 32). Não foram encontradas diferenças cariotípicas entre os indivíduos e nem heteromorfismo cromossômico mitótico.

A heterocromatina constitutiva apresentou marcação intersticial no braço curto do par 1, em um bloco bastante conspícuo ocupando todo o braço curto no par 2 e em quase todo o braço longo dos pares 9, 10, 13 e 21. Os cromossomos portadores de NORs apresentaram marcações distais do braço longo adjacente às constrições secundárias, indicando que as NORs são banda C negativas. Alguns dos cromossomos restantes do complemento apresentaram marcações menos evidentes e outros não apresentaram marcação (Figura 33)

As NORs foram localizadas em posição distal no braço longo de um submetacêntrico grande,o par 9 (Figura 34A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de apenas um par de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs (Figura 34B).

As marcações pelo nitrato de prata e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos.

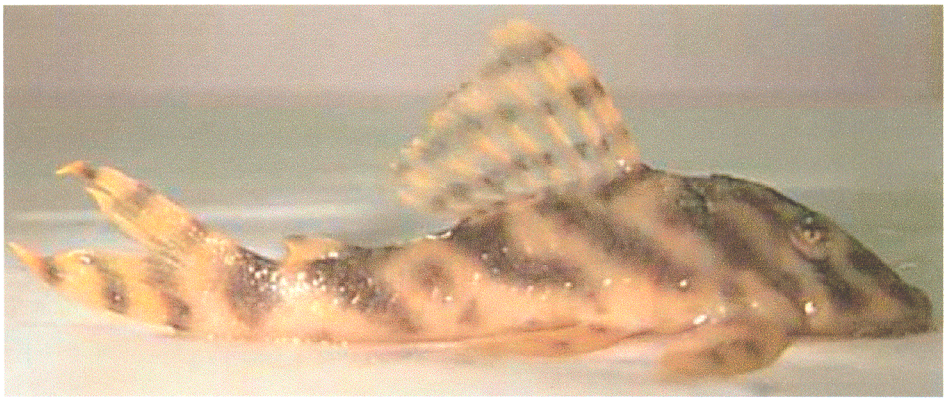

Figura 31. Espécie *Peckoltia vittata*, coletado no rio Xingu em Altamira na orla da UFPA.

Tabela 13. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia vittata*

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
516	M	2	0	29	31	52
518	M	0	1	8	9	52
519	F	0	4	31	35	52
520	M	0	4	26	30	52
521	M	1	4	28	33	52
522	F	0	1	28	29	52
523	F	1	2	27	30	52

Tabela 14. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia vittata*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,62	7,39	M
2	1,21	5,19	M
3	1,57	4,96	M
4	1,62	4,47	M
5	1,58	3,25	M
6	1,57	3,16	M
7	1,19	1,78	M
8	1,13	1,76	M
9	1,82	5,16	SM
10	2,34	4,99	SM
11	2,58	4,95	SM
12	2,09	4,85	SM
13	1,97	4,73	SM
14	2,09	4,23	SM
15	2,68	3,74	SM
16	2,53	3,06	SM
17	1,80	3,04	SM
18	2,02	2,86	SM
19	3,59	4,42	ST
20	3,35	3,94	ST
21	4,1	3,59	ST
22	3,91	3,52	ST
23	3,99	3,20	ST
24	4,47	2,81	ST
25	4,25	2,70	ST
26	45,75	2,25	A



Figura 32. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia vittata*. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

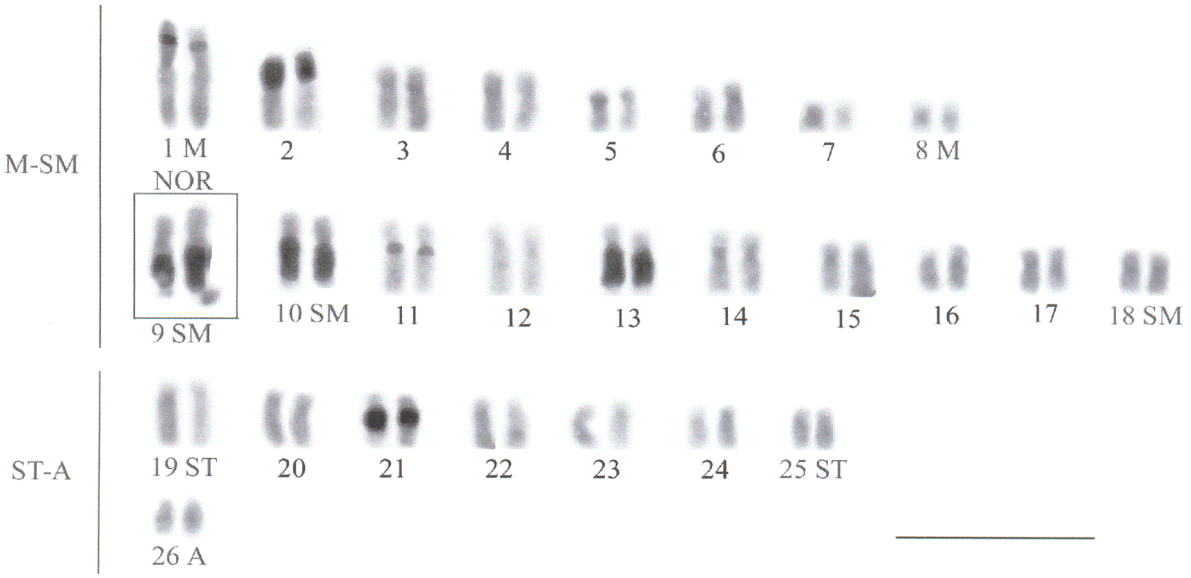

Figura 33. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

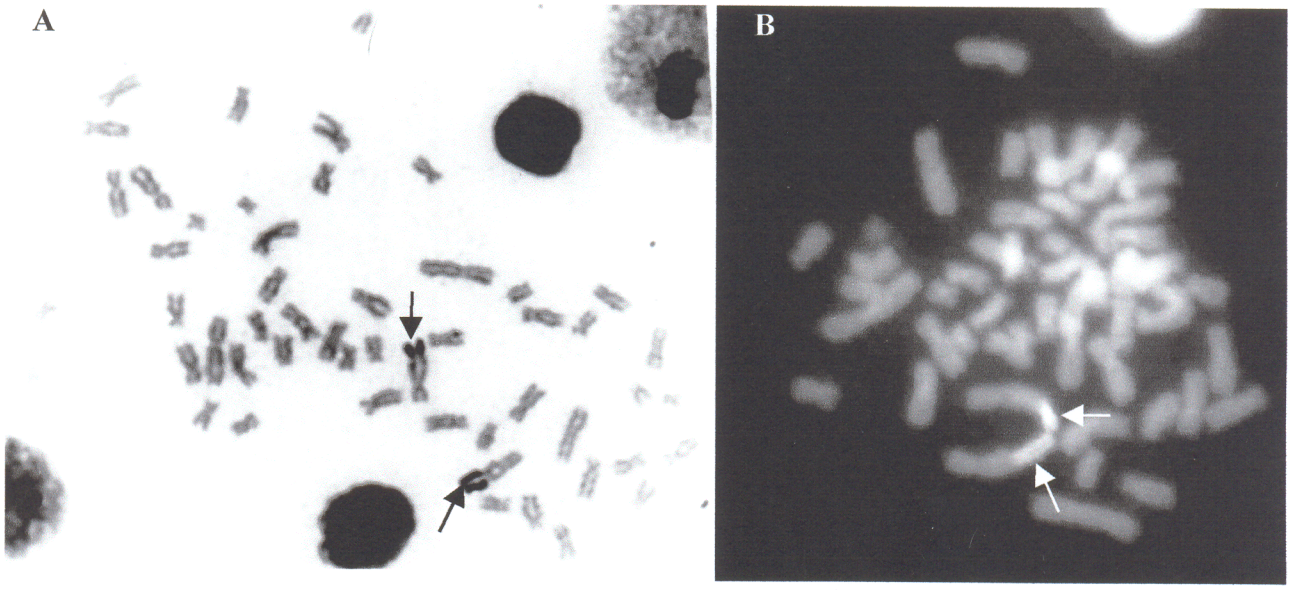

Figura 34. Metáfases observadas em *Peckoltia vittata*. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs.

4.3.2 - Cariótipo de *Peckoltia* sp.1. (Figura 35)

A análise de um total de 38 examinadas apresentou 2n=52 e NF=102 (Tabela 15), sendo 18 cromossomos metacêntricos, 26 submetacêntricos, 6 subtelocêntricos e 2 acrocêntricos e um pequeno cromossomo supernumerário, (Tabela 16, Figura 36).

A heterocromatina constitutiva apresentou-se na região intersticial do par 1, na forma de blocos bastante conspícuos ocupando quase todo o braço longo nos pares cromossômicos 10, 11 e 13, em quase todo o braço curto do par 12 e em posição proximal no braço longo de par 15 e 25.. Alguns dos cromossomos restantes do complemento apresentaram marcações menos evidentes e outros não apresentaram marcação (Figura 37).

As NORs foram localizadas em posição distal nos braços longos dos par 10 submetacêntrico grande e em apenas um dos homólogos do par 25 subtelocêntrico médio sendo estes banda C negativa(Figura 38A).

A análise com a cromomicina indicou nos homólogos do par 10 a presença de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs, no entanto apenas um dos homólogos do par 25 apresentou-se marcado indicando que apenas um dos homólogos possui Regiões Organizadoras de Nucléolo (Figura 38B).

A marcação pelo nitrato de prata e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região de NOR entre os cromossomos homólogos do par 10

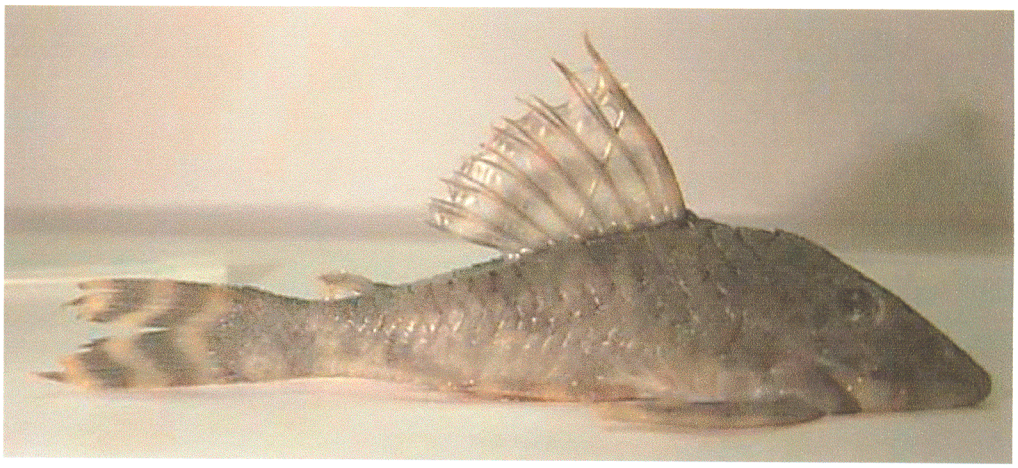

Figura 35. Espécie *Peckoltia* sp.1, coletado no rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado.

Tabela 15. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia* sp.1.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		51	52	53		
460	F	5	26	7	38	52

Tabela 16. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia* sp.1. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,41	7,45	M
2	1,34	4,86	M
3	1,39	4,32	M
4	1,63	3,44	M
5	1,47	3,17	M
6	1,48	2,80	M
7	1,62	2,69	M
8	1,12	1,80	SM
9	1,34	1,71	SM
10	2,31	5,98	SM
11	2,01	5,34	SM
12	1,93	5,08	SM
13	2,75	4,91	SM
14	2,71	4,62	SM
15	2,19	4,54	SM
16	2,15	4,48	SM
17	2,42	3,90	SM
18	2,56	3,51	SM
19	1,81	3,21	SM
20	2,73	3,16	SM
21	2,43	2,85	SM
22	2,78	2,81	SM
23	3,08	4,13	ST
24	3,43	3,58	ST
25	4,41	3,10	ST
26	8,69	2,58	A

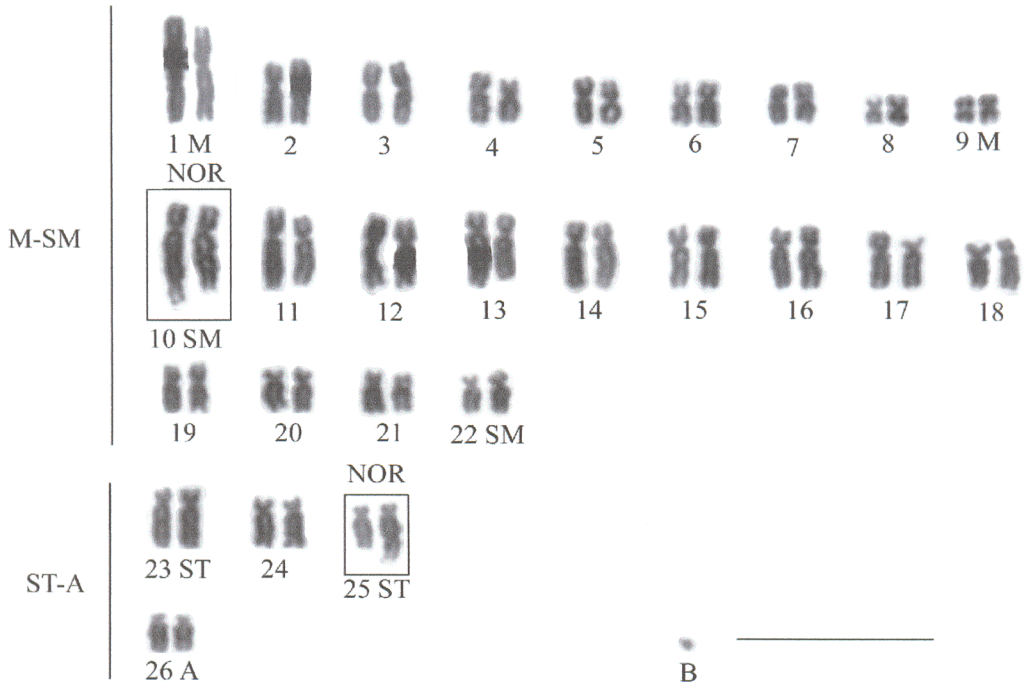

Figura 36. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia* sp.1 com a presença do cromossomo supernumerário (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

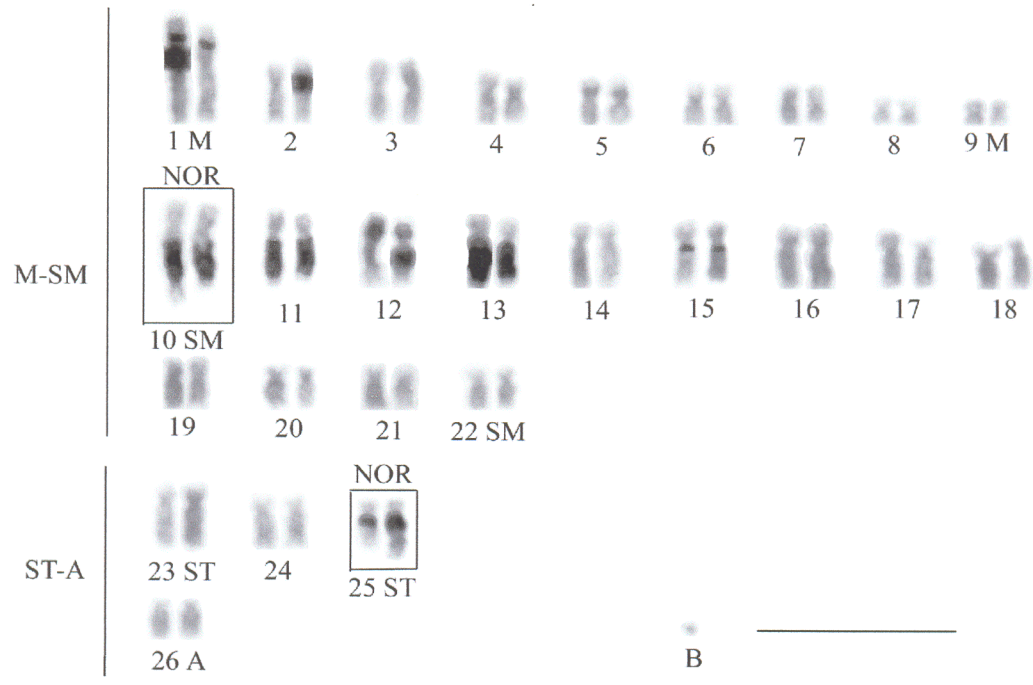

Figura 37. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

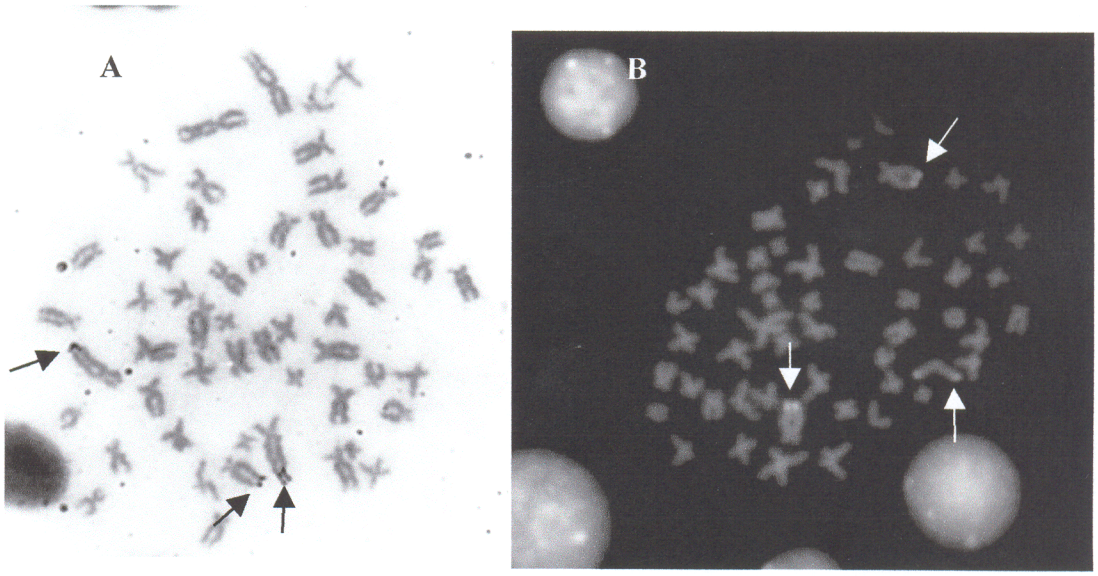

Figura 38. Metáfases observadas em *Peckoltia.* sp.1. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. Observa-se que apenas três cromossomos apresentam marcações em ambas as fotos.

4.3.3 – Cariótipo de *Peckoltia* sp.2 (Figura 39)

A análise de um total de 36 examinadas apresentou 2n=52 e NF=102 (Tabela 17), sendo 16 cromossomos metacêntricos, 16 submetacêntricos, 18 subtelocêntricos e 2 acrocêntricos (Tabela 18, Figura 40).

A heterocromatina constitutiva marcou a região intersticial do braço curto do par 1 e do braço longo do par 2. Apresentou-se na forma de blocos bastante conspícuos ocupando quase todo o braço longo nos pares cromossômicos 9, 10, 17, 18 e 19. Os cromossomos portadores de NORs apresentaram marcações adjacentes às constrições secundárias, indicando que as NORs são banda C negativas. (Figura 41).

As NORs foram localizadas em posição distal no braço longo do par 18 e em apenas um dos homólogos do par 17 ambos subtelocêntricos grandes. (Figura 42A).

A análise com a cromomicina indicou nos homólogos do par 18 a presença de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, coincidentes com a localização das NORs, no entanto apenas um dos homólogos do par 17 apresentou-se marcado indicando que apenas um dos homólogos possui Regiões Organizadoras de Nucléolo (Figura 42B).



Figura 39. Espécie *Peckoltia* sp.2, coletado no rio Jari próximo ao porto de Monte Dourado.

Tabela 17. Números cromossômicos diplóides em *Peckoltia* sp.2.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		50	51	52		
461	F	1	4	31	36	52

Tabela 18. Valores cromossômicos médios de *Peckoltia* sp.2. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,52	6,60	M
2	1,38	4,10	M
3	1,64	4,03	M
4	1,65	3,75	M
5	1,56	2,93	M
6	1,52	2,76	M
7	1,40	1,88	M
8	1,33	1,77	M
9	2,60	5,70	SM
10	2,69	5,00	SM
11	1,95	4,15	SM
12	2,42	4,15	SM
13	2,40	3,72	SM
14	2,18	3,58	SM
15	1,88	3,29	SM
16	2,52	3,10	SM
17	6,32	6,92	ST
18	5,43	5,78	ST
19	6,08	5,06	ST
20	3,58	4,12	ST
21	4,96	3,75	ST
22	3,57	3,45	ST
23	4,47	3,36	ST
24	3,64	2,68	ST
25	6,31	2,32	ST
26	>7,01	2,04	A

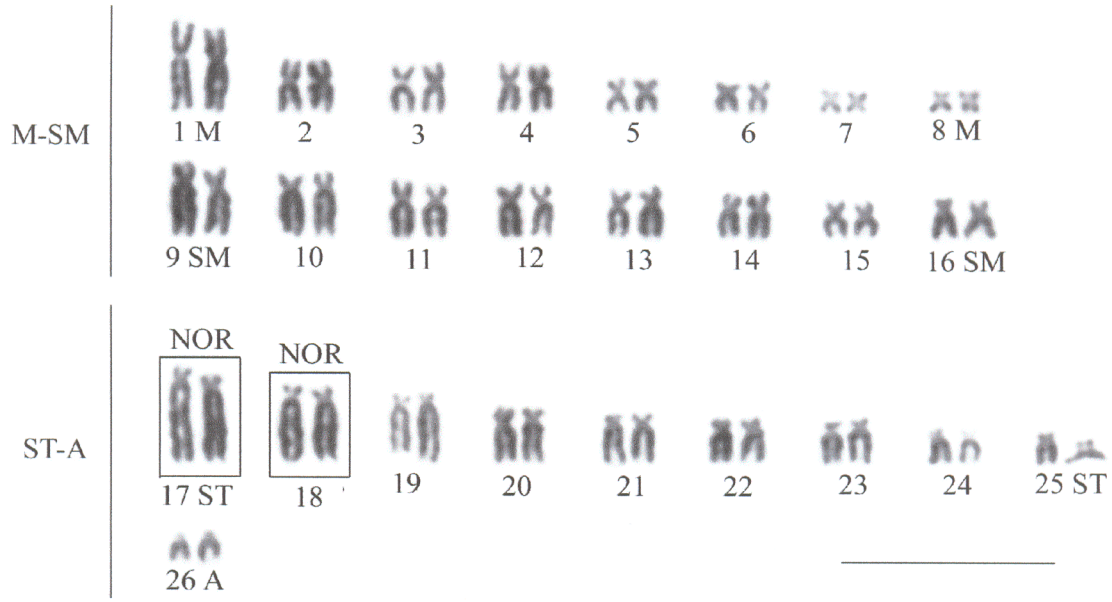

Figura 40. Cariótipo por coloração convencional de *Peckoltia* sp.2 (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

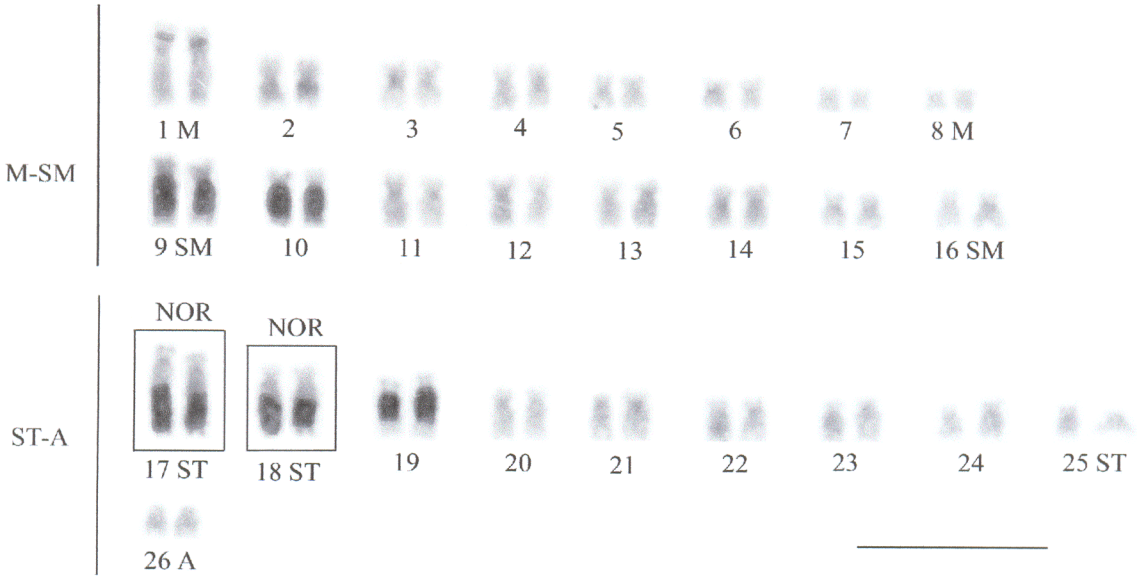

Figura 41. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

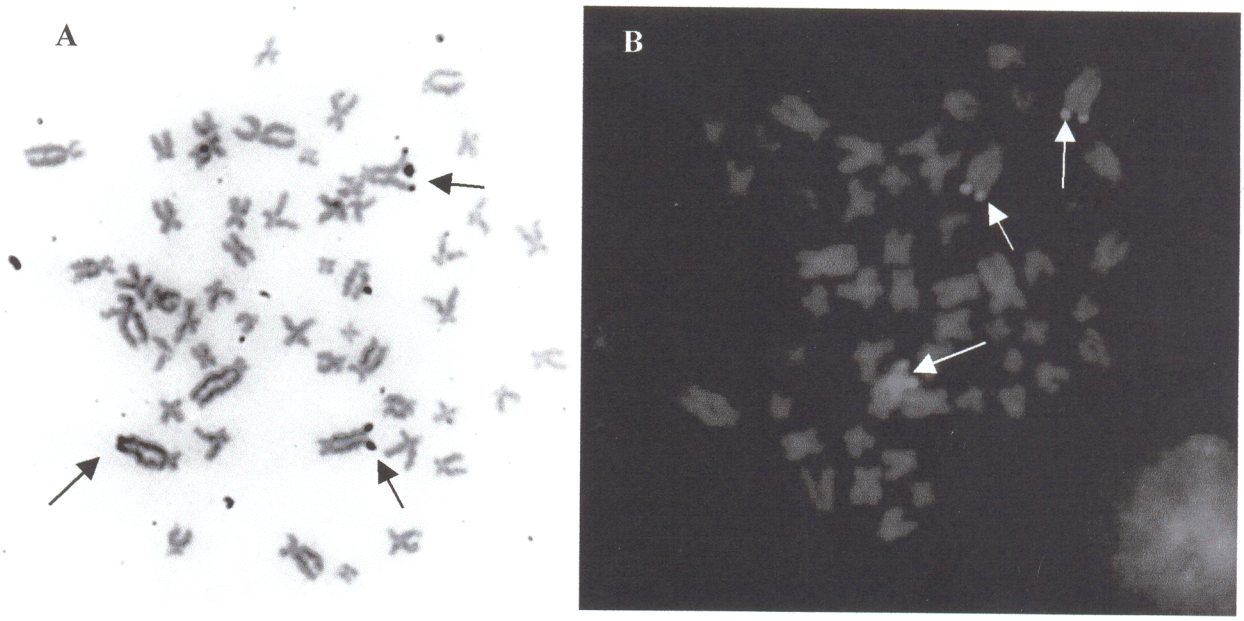

Figura 42. Metáfases observadas em *Peckoltia* sp.2. Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados nas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em branco indicando as marcações nas NORs. Observa-se que apenas três cromossomos apresentam marcações em ambas as fotos.

4.4 – O GÊNERO *ANCISTRUS*

4.4.1 - Cariótipo de *Ancistrus ranunculus* (Figura 43)

A análise de um total de 163 células mostra que ambos os sexos apresentam 2n=48 e NF= 80 (Tabela 19). O cariótipo é constituído de 8 cromossomos metacêntricos, 18 submetacêntricos, 6 subtelocêntricos e 16 acrocêntricos (Tabela 20, Figura 44). Não foram encontradas diferenças cariotípicas entre os indivíduos e nem heteromorfismo cromossômico sexual mitótico.

A heterocromatina constitutiva apresentou marcações bem evidentes no braço longo do par 19, na forma de blocos bastante conspícuos. Os cromossomos portadores de NORs apresentaram marcações adjacentes e intercaladas à constrição secundária, indicando que as NORs são banda C positivas. Alguns dos cromossomos restantes do complemento apresentaram marcações menos evidentes em regiões centroméricas ou intersticiais outros não apresentaram marcação (Figura 45)

As NORs foram localizadas na região proximal no braço longo do par 15 (Figura 46A).

A análise com a cromomicina indicou a presença de dois pares de cromossomos portadores de sítios ricos em pares de base G-C, o par 15 coincidentes com a localização das NORs e o par 19 coincidindo com o bloco heterocromático (Figura 46B).

A marcação pelo nitrato de prata, bandeamento C e CMA_3 revelaram diferenças de tamanho da região NOR.



Figura 43. Espécie *Ancistrus ranunculus*, coletado no rio Xingú em Altamira nas regiões de pedral denominadas Cotovelo e Gorgulho da Rita.

Tabela 19 Números cromossômicos diplóides em *Ancistrus ranunculus*.

Número do peixe	Sexo	Números diplóides			Total de Células	Moda
		46	47	48		
506	M	0	4	27	31	48
507	F	2	7	22	31	48
509	M	0	5	28	33	48
510	M	0	2	35	37	48
511	M	1	3	27	31	48

Tabela 20. Valores cromossômicos médios de *Ancistrus ranunculus*. RB= relação de braços; CR= comprimento relativo; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico.

Número do par cromossômico	RB	CR%	Tipo
1	1,66	8,01	M
2	1,26	4,13	M
3	1,37	3,00	M
4	1,42	2,82	M
5	2,13	5,22	SM
6	2,15	4,84	SM
7	2,64	4,75	SM
8	2,15	4,59	SM
9	2,01	4,26	SM
10	2,85	4,25	SM
11	2,04	3,94	SM
12	2,38	2,77	SM
13	1,85	2,27	SM
14	3,85	6,18	ST
15	4,78	4,23	ST
16	4,02	3,69	ST
17	>7,01	5,62	A
18	>7,01	5,26	A
19	>7,01	5,10	A
20	>7,01	3,85	A
21	>7,01	3,53	A
22	>7,01	3,32	A
23	>7,01	2,29	A
24	>7,01	2,07	A

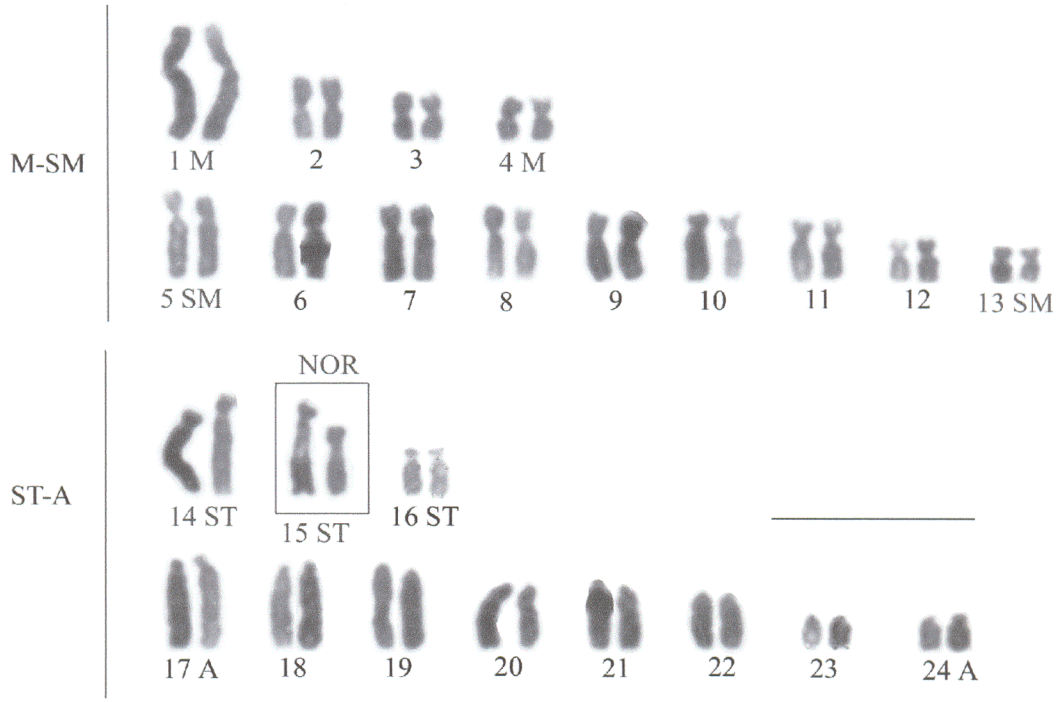

Figura 44. Cariótipo por coloração convencional de *Ancistrus ranunculus* (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

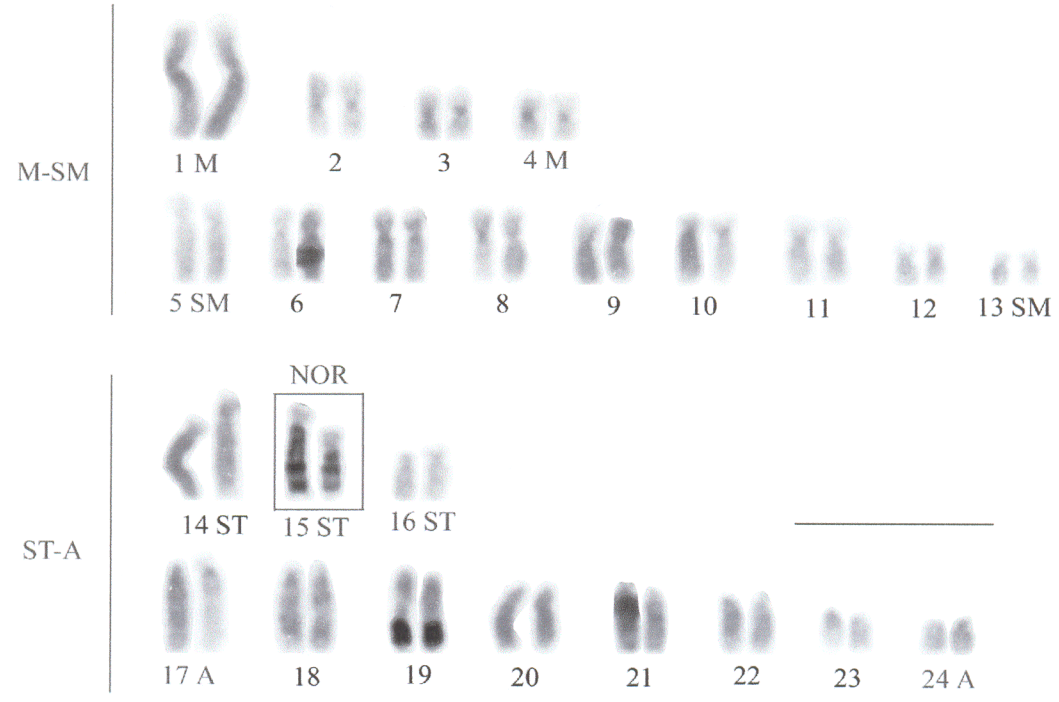

Figura 45. Cariótipo corado pela técnica de banda C, seqüenciada da coloração convencional. (M= metacêntrico, SM= submetacêntrico e ST= subtelocêntrico). Barra = 10 μm.

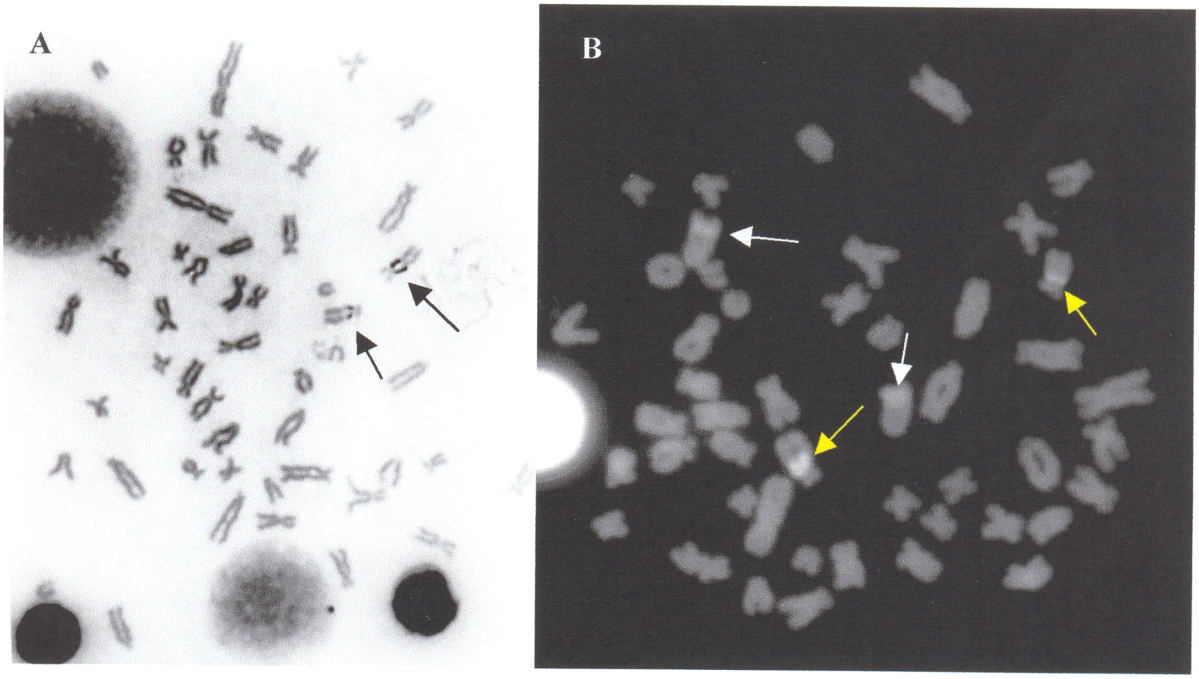

Figura 46. Metáfases observadas em *Ancistrus ranunculus.* Em A) metáfase tratada com $AgNO_3$, para a visualização dos cromossomos portadores de NOR indicados pelas setas; B) metáfase corada com CMA_3, setas em amarelo indicando as marcações nas NORs e setas brancas indicado as regiões heterocromáticas ricas em pares de bases G-C.

5 – DISCUSSÃO

5.1 – ANÁLISE DA EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DAS ESPÉCIES DOS GÊNEROS *BARYANCISTRUS*, *PARANCISTRUS*, *PECKOLTIA* E *ANCISTRUS*

Os dados citogenéticos apresentados com 9 espécies da subfamília Ancistrinae demonstraram uma conservação no número diplóide 2n=52 em todas as espécies analisadas, à exceção de *Ancistrus ranunculus*, que apresentou o número diplóide 2n=48. Este fato concorda com Artoni (1996) que considera a subfamília Ancistrinae mais conservada que os Hypostominae em sua estrutura cariotípica. No entanto, verificou-se que nos ancistriniídeos ocorre variabilidade quanto à morfologia cromossômica, posição das NORs e distribuição da heterocromatina constitutiva.

As análises citogenéticas permitiram identificar relações genéticas intra e intergenéricas, bem como características de importância citotaxonômica e sistemática, contribuindo para uma melhor compreensão da relação dos Ancistrinae com as demais subfamílias pertencentes a família Loricariidae.

5.1.1 – O gênero *Baryancistrus*

Foram analisadas quatro espécies, três coletadas no rio Xingu: *B.* aff. *niveatus* (bola branca), *Baryancistrus* sp.2. (amarelinho) e *Baryancistrus* sp.3. (aba laranja), todas vivendo em simpatria, e uma no rio Jari, *Baryancistrus* sp.1 coletada na cabeceira da cachoeira Santo Antônio. Essas duas localidades têm como barreira ecológica para as espécies o rio Amazonas, além de inúmeras cachoeiras ao longo dos rios Xingu e Jari. O rio Xingu é tributário do rio Amazonas na margem direita e o rio Jari, na margem esquerda.

Para explicar as diferenças observadas na quantidade de cromossomos

metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos nas 4 espécies de *Baryancistrus*, é provável que mecanismos de rearranjos cromossômicos do tipo inversões pericêntricas e/ou translocação atuaram nos seus cariótipos. Em todas as espécies as NORs estão localizadas em posições distal no braço curto de um par de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos de tamanho médio (Figura 14A, 18A, 22A e 26A). O fato desses cromossomos se encontrarem em ordem diferente nessas espécies pode ser atribuído a uma condensação desigual dos seus braços, sendo estes cromossomos provavelmente homeólogos. O mesmo acontece para os cromossomos dos pares 1, 5 e 6 em *Baryancistrus* sp.1., que são possivelmente homeólogos dos pares 1, 10 e 11 em *Baryancistrus* sp.2 e dos pares 1, 8 e 9 em *Baryancistrus* sp.3 respectivamente. Com relação à espécie *B.* aff. *niveatus*, parece que além do cromossomo portador da NOR apenas o cromossomo do par 9 possui uma possível homeologia com o par 5 em *Baryancistrus* sp.1, com o par 10 em *Baryancistrus* sp.2 e com o par 8 em *Baryancistrus* sp.3 (Figura 47).

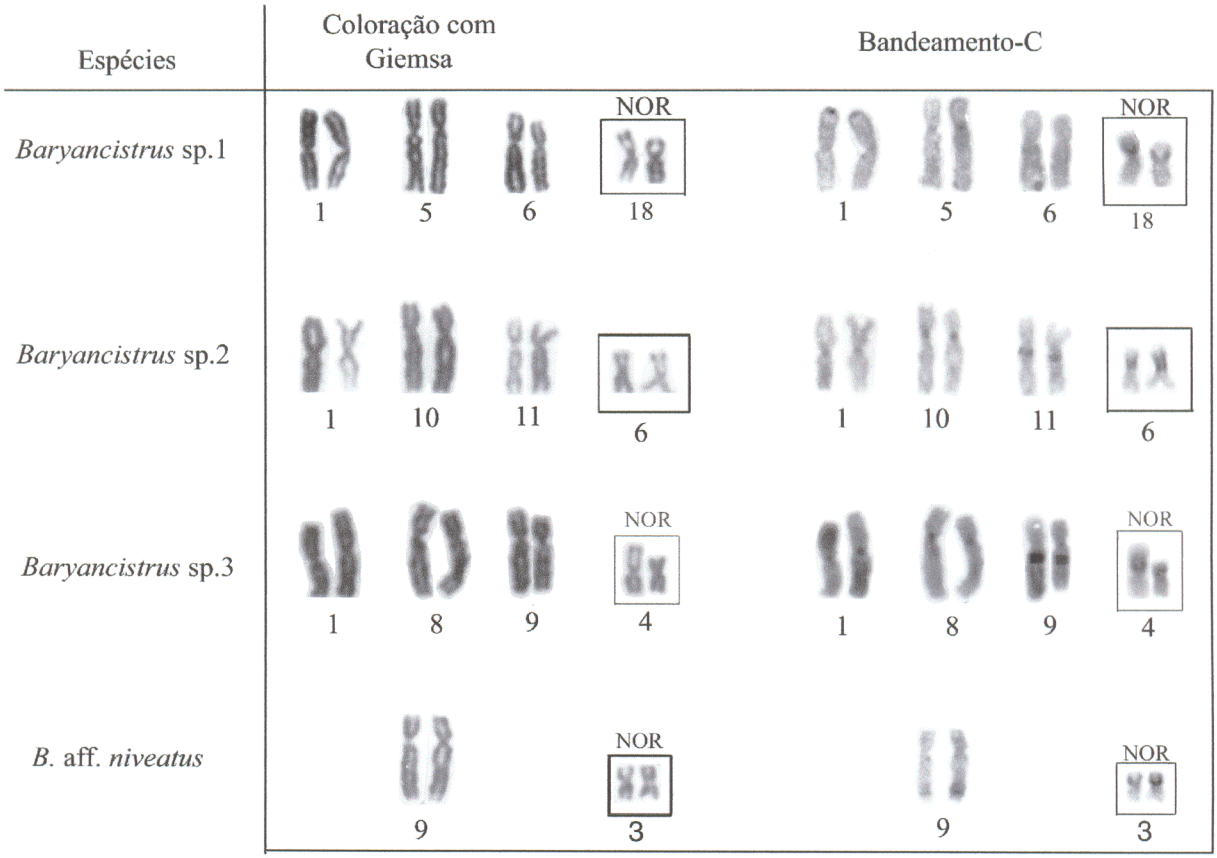

Figura 47. Prováveis homeologias entre as espécies de gênero *Baryancistrus,* baseadas em coloração convencional, Banda C e NOR.

A espécie *Baryancistrus* sp.1 apresenta uma diminuição do número de cromossomos metacêntricos no seu cariótipo em relação às espécies do rio Xingu, que pode ser atribuído às inversões pericêntricas que teriam atuado na evolução cariotípica dessa espécie. Quanto às Regiões Organizadoras de Nucléolo, pode ter ocorrido um deslocamento na sua posição favorecido pela presença de heterocromatina constitutiva associada e intercalada às NORs (Figura 18A). Venere & Galetti Jr. (1989), ao analisarem peixes da família Curimatidae sugeriram que a ocorrência de translocações recíprocas e/ou inversões teriam favorecido o deslocamento das NORs para diferentes cromossomos nas diversas espécies dessa família. Andreata (1991) observou em duas populações de *Otonciclus affinis* diferenças na fórmula cariotípica, localização das NORs e no padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva sendo essas diferenças favorecidas pelas condições alopátridas em que se encontram essas espécies.

A fórmula cariotípica de *B.* aff *niveatus* foi muito semelhante à encontrada em *Baryancistrus* sp.2, quando o cariótipo foi analisado através da coloração convencional; contudo após o tratamento com $Ba(OH)_2$, em *B.* aff *niveatus* destacaram-se grandes blocos heterocromáticos nos pares 1, 10 e11, condição que só foi observada nesta espécie. Nas outras três espécies de *Baryancistrus,* a heterocromatina constitutiva apresentou-se com marcações pouco evidentes nos centrômeros e telômeros.

A condição do cariótipo com poucas e pálidas marcações heterocromáticas foi observada em outras famílias de Siluriformes. Segundo Fenocchio & Bertollo (1992), nas diversas famílias de Siluriformes é difícil obter bandas C de boa qualidade, o que pode estar relacionada com a característica peculiar dessa cromatina nesses peixes.

Artoni (1996) observou em *Hypostomus emarginatus* com 2n=52 a presença de heterocromatina em regiões distais. Em espécies com número diplóide mais elevado foi observada heterocromatina constitutiva em regiões distais de pequenos cromossomos acrocêntricos e nos acrocêntricos maiores encontram-se marcações intersticiais, equilocais e equidistantes do centrômero, sugerindo que em *Hypostomus*, as espécies com um número diplóide mais elevado possuem uma quantidade maior de heterocromatina constitutiva em relação àquelas com o menor número. Este autor considera o cariótipo de número diplóide mais elevado e com uma quantidade maior de heterocromatina constitutiva como sendo mais derivado. Como apenas *B.* aff. *niveatus* apresentou diferenças na quantidade de heterocromatina constitutiva, demonstrando possuir um cariótipo mais derivado quando comparado as outras três espécies, pode-se sugerir que a espécie *B.* aff. *niveatus* é considerada mais derivada cariotipicamente entre as espécies de *Baryancistrus* estudada no presente trabalho.

Ao analisar a natureza da heterocromatina constitutiva de *B.* aff. *niveatus* são encontrada duas situações: a) regiões heterocromáticas positivas para CMA_3, que são encontradas em grandes blocos distais localizados no braço curto do par 11, na heterocromatina intercalada à NOR e na heterocromatina encontrada em posição distal no braço longo do par 22; b) regiões heterocromáticas negativas para CMA_3, que são grandes blocos de heterocromatina localizados no braço longo do 1° par cromossômico, no braço longo do 10° par cromossômico, no braço curto do pequeno metacêntrico em posição proximal localizado no 6° par e em alguns cromossomos com marcações centroméricas e intersticiais (Figura 13B e 14B). Pieczarka *et al.* (1996), analisaram através de enzima de restrição e fluorocromos, a

heterocromatina constitutiva de três espécies de macacos do Novo Mundo pertencentes ao grupo *Callithrix argentata*. Estes autores observaram que a heterocromatina constitutiva distal encontrada em alguns pares cromossômicos destas espécies possui a mesma estrutura e composição, sugerindo uma origem comum. Margarido & Galetti Jr (2000), ao analisarem a heterocromatina constitutiva de *Leporinus desmotes*, sugeriram que uma heterocromatina primordial rica em seqüências G-C, provavelmente aquela associada à NOR, pode ter se espalhado ao longo de alguns cromossomos no cariótipo por processo de amplificação A mesma hipótese de uma origem comum para a heterocromatina constitutiva sugerida por esses autores poderia ser aplicada para a espécie *Baryancistrus* cf. *niveatus* nos casos onde sua heterocromatina constitutiva foi positiva para CMA_3, e através de translocações entre cromossomos não homólogos esse grupo de heterocromatina constitutiva se espalharia no cariótipo da espécie.

Um outro detalhe encontrado no padrão de banda-C desta espécie é um heteromorfismo nos pares 11 e 22 do complemento, onde uma das bandas-C dos homólogos é maior. Esta diferença de tamanho está relacionada com um processo de amplificação das seqüências em cluster ricas em G-C, a qual é confirmada através do bandeamento com fluorocromo CMA_3, onde em um dos homólogos a banda produzida por este fluorocromo é maior; já no restante do cariótipo a marcação foi uniforme, evidenciando heterogeneidade de composição de bases (figura 14B).

O estudo das NORs revelaram em todas as espécies apenas um par de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos portadores de sítios de DNAr com localização intersticial no braço curto, sendo o mesmo, positivo para CMA_3 e banda C. Pendás *et al.*(1993), analisando cromossomos de salmão, observaram que duas sondas hibridizaram com espaçadores de DNAr que não transcrevem, sugerindo que esses

espaçadores provavelmente ricos em G-C, podem ser responsáveis pela coincidência de $C^+/NORs^+/CMA_3^+$. Swarça *et al.* (2001) estudando heteromorfismo no tamanho do DNAr através da técnica de FISH, observaram que essas diferenças estão relacionadas a um processo de acumulação de genes RNAr em um dos homólogos.

Nos *Baryancistrus* analisados, o heteromorfismo de tamanho encontrado nos cromossomos portadores de NOR pode ser uma conseqüência tanto da amplificação das seqüências gênicas de DNAr quanto da heterocromatina constitutiva ricas em G-C. Nessas espécies esse evento deve ter ocorrido ainda na anagênese do grupo, pois todos apresentam o mesmo padrão.

Artoni (1996) encontrou, nos *Hypostomus,* duas situações para a heterocromatina associada a NOR: nas espécies com o 2n menor, ela foi rica em seqüências AT e em algumas espécies com o 2n mais elevado, a heterocromatina associada a NOR foi rica em seqüências G-C.

Nos Hypoptopomatinae, Andreata (1991) encontrou um padrão diferente para as Regiões Organizadoras de Nucléolo. Na espécie *Otonciclus* aff. *vestitus* da bacia amazônica a NOR foi positiva para o bandeamento C, enquanto que nas duas populações de O. *affinis* da bacia do Paraná a NOR foi banda C negativa. Segundo o autor, esse fato aliado às diferenças encontradas nos números diplóides das espécies e ao padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva parecem, em princípio, caracterizar a espécie amazônica como cromossomicamente distinta dentro da subfamília Hypoptopomatinae.

5.1.2 – O gênero *Parancistrus*

A espécie *Parancistrus* sp.1 (bola azul), possui 2n=52 e apresentou 23 pares de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos e 3 pares subtelocêntricos

(Figura 28), demonstrando uma grande semelhança com relação à fórmula cariotípica básica das espécies do gênero *Baryancistrus*. A variação que ocorre no número de cromossomos de dois braços parece ser devida a inversões pericêntricas e/ou translocações.

A presença de bandas heterocromáticas em posição proximal pode ser devido a inversões paracêntricas, que deslocaram a heterocromatina da região centromérica.

Martins-Santos *et al.* (1996) encontraram em uma população de *Sorubim lima* proveniente da região de Porto Rico, alto rio Paraná, a presença de uma banda heterocromática intersticial no 1° par metacêntrico; esta marcação não foi encontrada na população da mesma espécie do rio Solimões, a qual apresenta bandas heterocromáticas distais. Segundo os autores esta diferença morfológica foi atribuída a um mecanismo de inversão pericêntrica.

Nas espécies dos gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus* analisadas neste trabalho, a NOR apresentou-se em um cromossomo do tipo metacêntrico, sendo positiva quando tratada por $Ba(OH)_2$ e CMA_3, indicando a ocorrência de heterocromatina rica em seqüências G-C e intercalada a NOR. É provável que o par cromossômico portador das Regiões Organizadoras de Nucléolo representem uma homeologia entre os gêneros.

Do mesmo modo, Fenocchio & Bertollo (1992) observaram nos cariótipos de *Pseudoplatystoma fasciatum*, *P. tigrinum* e *Sorubim lima*, similaridades existentes quanto à posição da NOR e padrões de banda C em vários pares cromossômicos, sugerindo que as três espécies podem estar compartilhando alguns cromossomos homólogos.

5.1.3 – O gênero *Peckoltia*

A análise das espécies do gênero *Peckoltia* confirmou o caráter conservativo do número cromossômico 2n=52 para os grupos da subfamília Ancistrinae.

As espécies desse gênero mostraram um alto grau de variabilidade da NOR, que localiza-se no par 9 de cromossomos submetacêntricos grandes, na posição distal em *Peckoltia vittata* coletada no rio Xingu (Figura 34A). Em *Peckoltia* sp.1 a NOR foi evidenciada no par 10 e em apenas um dos homólogos do par 25, ambas em posições distais (Figura 38A) e em *Peckoltia* sp.2 no par 18 e em apenas um dos homólogos do par 17, ambas em posições distais (Figura 42A), sendo essas duas espécies coletadas em simpatria no rio Jari.

A posição e a morfologia da NOR podem representar uma importante ferramenta para distinguir estoques populacionais ou espécies crípticas como sugerido por Feldberg *et al.,* (1999), para a pescada branca de água doce da família Scianidae. Segundo Andreata (1991), o fato das NORs de *Otocinclus* aff. *vestitus* serem banda C positiva, enquanto as NORs de *O. affinis* e as demais espécies analisadas seem C-negativas, junto a outras diferenças como número diplóide e distribuição da heterocromatina constitutiva, sugere que *Otocinclus* aff. *vestitus* é cromossomicamente distinta dentro da subfamília Hypoptopomatinae.

Os resultados encontrados para *Peckoltia vittata* utilizando CMA_3, revelaram marcações distais nos braços longos de um único par cromossômico, sendo essas regiões ricas em pares de base G-C, correspondente às NORs (Figura 34A, B), enquanto que nas espécies do rio Jari foram encontrados o máximo de três cromossomos marcados tanto pela prata quanto pela CMA_3 (Figura 38A, B e 42A, B).

De acordo com Schmid (1980), alguns fluorocromos G-C específicos,

como a Cromomicina A e Mitramicina A, têm a propriedade de se ligarem preferencialmente às NORs em vertebrados inferiores, evidenciando que estas seqüências de DNA são ricas em bases G-C. Portanto, os fluorocromos citados acima tem a propriedade de evidenciar as NORs independentemente de sua atividade transcricional (Galetti Jr. & Rasch, 1993).

A ausência da NOR em um dos homólogos pode se devido a deleções ou a ocorrência de translocação para apenas um dos homólogos. Só após a análise de um número maior de indivíduos poderemos sugerir que evento poderia ter ocorrido nas espécies do Jari.

Segundo Hsu *et al.* (1975), a presença de NORs múltiplas deve ser considerada como uma característica derivada em relação a condição de NOR simples. Essa condição ancestral/derivado para as NORs simples e múltiplas foi também observada na família Cichlidae quando os dados de NOR são sobrepostos em uma árvore filogenética desta família (Feldberg *et al.,* no prelo), portanto as espécies proveniente do rio Jari podem ser consideradas como mais derivadas.

Para tentar entender que mecanismos atuaram na diversificação encontrada nas NORs no gênero *Peckoltia,* é preciso saber em que posição as Regiões Organizadoras de Nucléolo encontrava-se no cariótipo ancestral deste grupo.

Esta condição quando analisada em comparação com um grupo externo próximo aos Ancistrinae como, por exemplo, os Hypoptopomatinae, permite considerar a presença de NOR intersticial em um único par de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos como os mais conservados e os demais como derivados cariotipicamente. P,ortanto esse caráter pode ser considerado como uma plesiomorfia para os Ancistrinae.

Durante o processo evolutivo no grupo *Peckoltia* podem ter ocorrido mudanças nos cromossomos portadores da NOR por meio de inversões em um cromossomo do tipo meta/submetacêntrico, deslocando à NOR para a extremidade seguida por um processo de amplificação da heterocromatina adjacente a NOR, modificando a morfologia do cromossomo para um grande submetacêntrico. Essa característica é compartilhada entre as espécies *Peckoltia vittata* e *Peckoltia* sp.1. Na espécie *Peckoltia* sp.2, os cromossomos portadores da NOR apresentam-se como subtelocêntricos. Levando em consideração que a espécie do rio Xingu e uma das espécies do Jari apresentam um grande par cromossômico submetacêntrico portador de NOR como sinapomorfia, esse caráter pode ser considerado como ancestral para o grupo *Peckoltia*.

Quanto ao padrão de heterocromatina, foram observados nas três espécies grandes blocos heterocromáticos provavelmente de origem comum, envolvendo todos ou quase todos os braços longos de cromossomos submetacêntricos e subtelocêntricos. Na espécie *Peckoltia vittata,* o par 2 com o braço menor completamente heterocromático parece ser um bom marcador para a espécie, pois apenas nela foi encontrada esta marcação. Os pares cromossômicos 1, 9 10, 13, 21 e 11 provavelmente correspondam aos pares 1, 10, 11, 13, 25 e 15 em *Peckoltia* sp.1 e aos pares 1, 18, 9, 10 e 19 em *Peckoltia* sp.2 (Figura 48). Considerando que nenhuma grande diferença nos segmentos eucromáticos entre espécies relacionadas é esperada, a presença de grande quantidade de heterocromatina nos cromossomos de *Peckoltia* pode ter se originado por um extenso processo de amplificação das regiões heterocromáticas ocorridas na anagênese desse grupo.

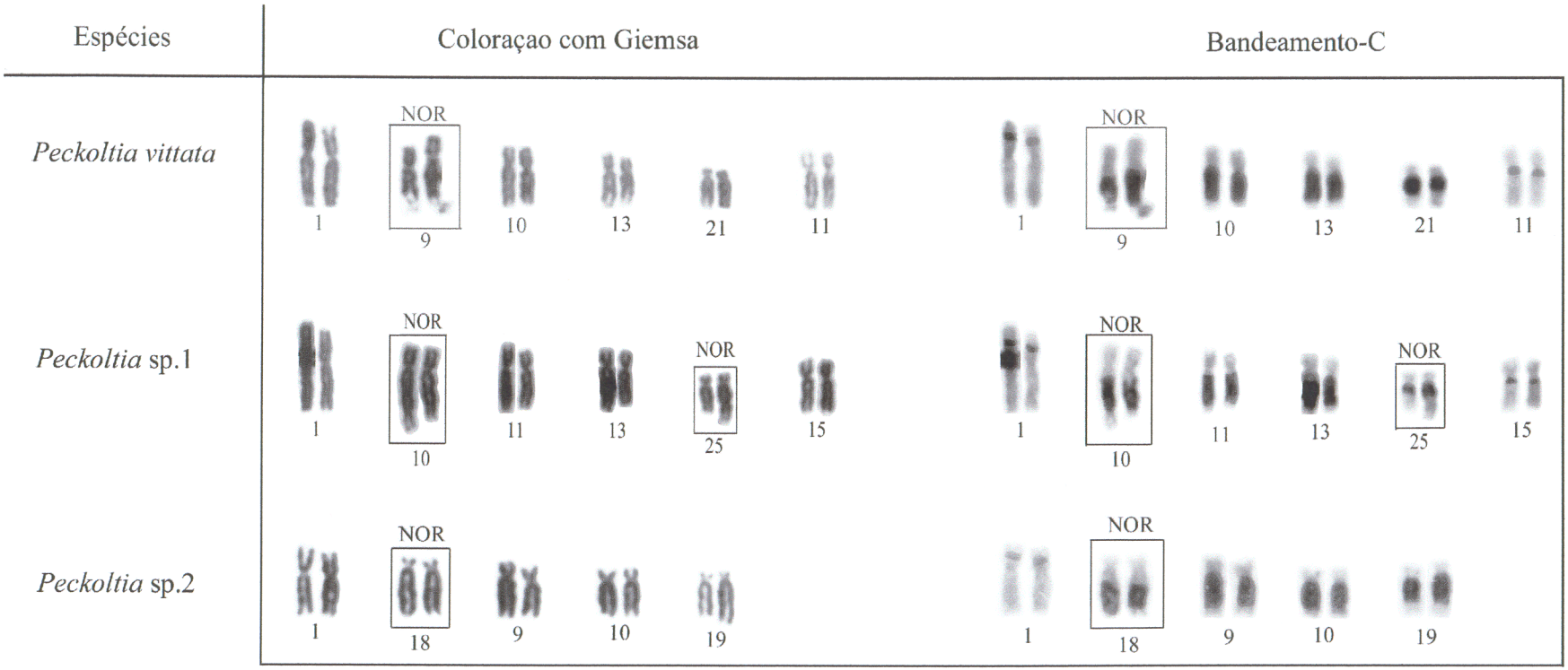

Figura 48. Prováveis homeologias entre as espécies do gênero *Peckoltia* baseadas em cloração convencional banda C e NOR.

A heterocromatina constitutiva encontrada nas três espécies indica uma possível origem comum, apresentando um mesmo padrão de distribuição no cariótipo. Levando em consideração a condição alopátrida entre as espécies do rio Xingu e do rio Jari, é possível supor que havia um canal de comunicação entre esses rios que possibilitou a dispersão dessas espécies, que depois foram separadas por vicariância, ou então existia uma grande população que envolvia os dois rios e posteriormente foi fragmentada pelos movimentos geológicos corridos na região amazônica, que ocasionou o aparecimento de barreiras geográficas que impediram o fluxo gênico existente na população, com isso os espécimes separaram-se a ponto de não intercruzarem mais.

De acordo com Jégu (1992), a distribuição dos Serrasalmidae na bacia amazônica, permitiu evidenciar uma série de recentes alterações na distribuição e na evolução da ictiofauna amazônica, sugerindo 4 vias de dispersão para os peixes reofilicos da Amazônia Oriental: duas vias norte-sul que atravessam o atual Amazonas e sua zona da várzea, uma ao nível Tocantins/Jari e outra Trombetas/Tapajós e duas vias este-oeste, uma ao longo do escudo das guianas entre o rio Negro e o Oiapoque, e outra ao longo do escudo central brasileiro entre o Tapajós e o Tocantins.

Segundo García-Parra (2000), é possível que a diversificação cariotípica apresentada pelas espécies de Myleinae, tenha sido uma resposta evolutiva às mudanças ambientais ocorridas durante a formação da Cordilheira dos Andes (Terciário: Mioceno e Plioceno) e pelas diversas alternâncias de períodos glaciais e interglaciais (Quaternário), que teriam favorecido a radiação adaptativa das espécies e outros grupos de Serrasalmidae.

Ao analisar a distribuição da heterocromatina constitutiva no cariótipo e a morfologia dos cromossomos portadores de NORs, observa-se, uma relação maior entre

Peckoltia vittata e *Peckoltia* sp.1, sendo a espécie *Peckoltia* sp2. considerada como a mais derivada cariotipicamente por apresentar uma inversão pericêntrica ocorrida no par cromossômico portador da NOR e possivelmente em outros cromossomos, enquanto nas outras duas espécies este par cromossômico portador da NOR corresponde a um par submetacêntrico grande.

A espécie *Peckoltia* sp.1 apresentou um cromossomo extra no seu complemento cariotípico, na forma de um pequeno ponto que cora fracamente após ser tratado por bandeamento-C (Figura 37); esse cromossomo assemelha-se ao encontrado por Scavone & Júlio Jr. (1993/94), em *Loricaria prolixa* e *Loricaria* sp. Foi observado apenas um cromossomo supernumerário por metáfase em uma freqüência baixa.

Falcão *et al.* (1984), consideraram que a presença de cromossomos supernumerários em peixes era um evento pouco freqüente. Com um aumento do número de espécies de peixes cariotipadas percebe-se hoje que a presença desses cromossomos extras nesse grupo de vertebrados é bastante considerável. Os cromossomos extras já foram descritos para as espécies *Prochilodus scrofa* (Pauls & Bertollo, 1983), *Prochilodus lineatus* (Dias *et al.*, 1998), *Rhamdia quelen* (Hochberg & Erdtmann, 1988), *Bergiaria westermanni* (Dias, 1987), *Microlepdogaster leucofrenatus* (Andreata, 1991), *Astyanax scabripinnis* (Salvador & Moreira-Filho, 1992; Vicente *et al.*, 1996), *Loricaria* sp. e *L. prolixa* (Scovane & Julio Jr, 1993/94), *Rhamdia sapo* (Valcarcel *et al.*, 1993), *Astyanax scabripinnis paranae* (Porto-Foresti *et al.*, 1997), *Metynnis lippincottianus* (Souza *et al.*, 1999), *Metynnis* cf. *lippincottianus* (Souza *et al.*, 2002) entre muitos outros. Entretanto, a origem e as possíveis vantagens ou desvantagens relacionadas com esses cromossomos extras não são ainda totalmente compreendidas.

Salvador & Moreira-Filho (1992), sugeriram que os cromossomos supernumerários encontrados em uma população de *Astyanax scapripinnis* proveniente de Campos do Jordão, teriam se originado a partir de um evento de não disjunção, seguido de heterocromatinização e conseqüente inativação do material genético contido no cromossomo.

Para Vicente *et al.* (1996) o cromossomo supernumerário encontrado em alguns espécimes de *Astyanax scapripinnis* de três populações de Campos do Jordão seria pela sua constituição, um isocromossomo que se originou a partir de um cromossomo do complemento haplóide, supostamente o par 24. Esses autores basearam-se no padrão de banda-C encontrado nas regiões intersticiais no cromossomo extra e exclusivamente nos cromossomos do par 24.

Porto-Foresti *et al.* (1997), analisaram na espécie *Astyanax scapripinnis* a relação entre a freqüência de cromossomos supernumerários e a densidade populacional em três trechos consecutivos do Córrego Cascatinha. Esses autores concluíram que a presença de uma alta freqüência de cromossomos supernumerários encontrada apenas na população do primeiro trecho, pode estar se mantendo por deriva genética ou por um efeito adaptativo conferido pela presença dos cromossomos extras com relação às características ecológicas específicas encontradas nesse habitat.

5.1.4 – O gênero *Ancistrus*

A espécie *Ancistrus ranunculus* apresenta uma constituição cariotípica bastante diferente em relação a qualquer outro Ancistrinae analisado neste trabalho, com 13 pares de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos, 3 pares de cromossomos subtelocêntricos e oito pares de cromossomos acrocêntricos (Figura 44).

Considerando 2n=52 como número diplóide básico para os

ancistriniídeos e o predomínio de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos como uma condição ancestral para esse grupo, verifica-se que na espécie do gênero *Ancistrus* ocorreu uma diminuição no número diplóide e um aumento considerável na quantidade de cromossomos acrocêntricos, indicando que diferentes tipos de rearranjos cromossômicos como fusões e inversões foram responsáveis pela evolução cariotípica e especiação desse grupo.

Esses dados citogenéticos corroboram a proposta filogenética de Ambruster (1997), que considera *Ancistrus* como o gênero mais derivado entre os ancistriniídeos (Figura 4c).

Apesar da grande diversidade cariotípica encontrada para os loricariídeos (Tabela 1), nos Ancistrinae a estrutura cariotípica parece ser bastante similar quando analisada após a coloração convencional, pois nas 9 espécies estudadas 8 apresentaram 2n=52. Esse número repete-se em mais duas espécies descritas por Artoni (1996). No entanto o número diplóide de 2n=52 é acompanhado por uma acentuada variabilidade de constituição cariotípica, posição da NOR e distribuição da heterocromatina constitutiva. Muitas dessas características constituem-se em marcadores genéticos exclusivos para determinados taxons de Ancistrinae.

Venere & Galetti Jr. (1989) propuseram que os curimatídeos compartilham uma estrutura cariotípica muito similar ao invés de um cariótipo conservado, ou seja, existe uma similaridade numérica e estrutural entre os complementos cromossômicos das diferentes espécies, porém estes não são preservados inteiramente.

Uma das questões mais intrigantes no que diz respeito à evolução cromossômica é tentar explicar porquê uma estrutura aparentemente é conservada em

determinados grupos, enquanto que em outros grupos, filogeneticamente próximos, ocorre uma intensa variação tanto numérica quanto estrutural. Segundo Bickham & Backer (1979, *apud* Venere & Galetti Jr. 1989), a evolução cromossômica pode ser canalizada com os diferentes grupos tendendo a obter um cariótipo ajustado às condições ambientais. Entretanto, para Venere & Galetti Jr. (1989) a constância da estrutura cariotípica pode ser resultado de uma homeostase celular, isto é, o equilibro entre as forças seletivas provocadas pela diversidade do genoma (diferenças cromossômicas, morfológicas e numéricas) e a pressão para a constância do processo mitótico.

5.2 – RELAÇÕES CARIOTÍPICAS E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS ENTRE OS GÊNEROS *BARYANCISTRUS*, *PARANCISTRUS*, *PECKOLTIA* E *ANCISTRUS*

Um dos grandes problemas encontrados no estudo dos loricariídeos é a ausência de informações a respeito de sua sistemática, filogenia, ecologia, etc. Isto talvez se deva ao grande número de espécies desconhecidas, ou conhecidas apenas popularmente, mas não descritas cientificamente e também a falta de especialistas para trabalhar com este grupo.

A família Loricariidae é considerada um grupo natural por vários autores (Isbrücker, 1980; Schaefer, 1987; Armbruster, 1997) no entanto, as subfamílias Ancistrinae e Hypostominae concernem um problema de monofilia. Schaefer (1987) considera Ancistrinae como um grupo monofilético, mas essa condição faz de Hypostominae um grupo parafilético. Para resolver esse problema Armbruster (1997) considerou Ancistrinae como uma tribo de Hypostominae (Ancistrini) tornando a subfamília monofilética.

Os dados cromossômicos encontrados na literatura para a família

Loricariidae até o presente, não são totalmente informativos para resolver problemas como os exemplificados acima, apesar do grande número de espécies cariotipadas, pois a ausência de bandas G em peixes impede uma análise mais detalhada das relações filogenéticas entre as espécies. Contudo, algumas considerações sobre a evolução dos loricariídeos em níveis genéricos são apresentadas neste trabalho.

Segundo Artoni (1996), o fato de 2n=54 estar presente nos Hypoptopomatinae, Hypostominae, pertencentes à família Loricariidae e em Trichomycteridae, que é considerado o seu grupo irmão, coloca esse caráter como estado plesiomórfico para os Loricariidae. A presença de cromossomos de dois braços em diferentes taxons de Loricariidae e Trichomycteridae foi considerado também como mais basal.

No entanto, dados das espécies, *Panaque* cf. *nigroleneatus* 2n=52 (Artoni, 1996), *Hemiancistrus* sp. 2n=52 (Artoni, 1996) e *Baryancistrus* aff. *niveatus* 2n=52 (Souza *et al.,* 2002), pertencentes à subfamília Ancistrinae somados aos do presente trabalho indicam que houve uma redução no número diplóide provavelmente por mecanismos de fusões Robertsonianas, a partir de um cariótipo com 2n=54. Portanto, o cariótipo com 2n=52 será considerado como uma sinapomorfia para os Ancistrinae, e como conseqüência, a condição de 2n=52 verificada em outras subfamílias de Loricariidae representaria uma situação homoplásica.

Os dados citogenéticos obtidos até o momento somados aos encontrados na literatura evidenciam, para a família Loricariidae, basicamente dois tipos de evolução cromossômica. Nas subfamílias Hypoptopomatinae e Ancistrinae ocorrem uma maior conservação dos seus números cromossômicos diplóides com o predomínio de 2n=54 e 52 respectivamente, sugerindo que os principais mecanismos de evolução

cromossômica foram as inversões, enquanto que as espécies de Hypostominae e Loricariinae apresentaram uma evolução cromossômica mais divergente, predominando as translocações Robertsonianas.

Para uma melhor análise das relações filogenéticas para os gêneros de Ancistrinae, será tomado como grupo externo os Hypoptopomatinae. A partir dessa subfamília foi elaborado um conjunto de dados (Tabela 21) onde estão descritos os caracteres cromossômicos utilizados para polarizar os estados primitivos (plesiomórficos) ou derivados (apomórficos).

Tabela 21. Características cariotípicas das espécies da subfamília ancistrinae analisadas no presente trabalho. 2n= número cromossômico diplóide; NF= número fundamental; M= metacêntrico; SM= submetacêntrico; ST= subtelocêntrico; A= acrocêntrico.

				NOR			Quant. de HC no
Ancistrinae	2n	NF	Fórmula Cariotípica	posição	cromossomo	marcações	cariótipo
Baryancistrus aff. *niveatus*	52	104	24M/SM-2ST	I	M	2	Presente em blocos
Baryancistrus sp.1	52	104	21M/SM-5ST	I	M	2	Ausente em blocos
Baryancistrus sp.2	52	104	24M/SM-2ST	I	M	2	Ausente em blocos
Baryancistrus sp.3	52	104	20M/SM-6ST	I	M	2	Ausente em blocos
Parancistrus sp.1	52	104	23M/SM-3ST	I	M	2	Ausente em blocos
Peckoltia vitatta	52	102	18M/SM-8ST/A	D	SM	2	Presente em blocos
Peckoltia sp.1	52	102	22M/SM-4ST/A	D	SM/ST	3	Presente em blocos
Peckoltia sp.2.	52	102	16M/SM-10ST/A	D	ST	3	Presente em blocos
Ancistrus ranunculus	48	80	13M/SM-11ST/A	I	ST	2	Pouca

D = Marcação NOR localizados na região distal.

I = Marcação NOR localizada na região intersticial.

A comparação dos dados citogenéticos do presente trabalho com os resultados encontrados para a subfamília Hypoptopomatinae por Andreata, (1991), sugerem considerar as seguintes características como plesiomórficas para a subfamília Ancistrinae.

1. Número cromossômico diplóide 2n=52.
2. Fórmula cariotípica composta só por cromossomos de dois braços.
3. NOR em posição intersticial em cromossomos do grupo meta/submetacêntrico.
4. Pouca heterocromatina constitutiva, distribuída basicamente nos centrômeros.

As espécies pertencentes aos gêneros *Baryancistrus, Parancistrus* e *Peckoltia* possuem o número cromossômico diplóide igual a 52, no entanto apenas os dois primeiros gêneros possuem somente cromossomos de dois braços, perfazendo um número fundamental NF=104, enquanto que em *Peckoltia* foram encontrados cromossomos de dois braços e de um braço nas três espécies analisadas. Além disso, a

NOR é encontrada em posição intersticial no braço curto de um par cromossômico do grupo metacêntrico/submetacêntrico de tamanho médio nos gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus* sendo esta região banda-C positiva em ambos os gêneros, sugerindo provavelmente uma origem comum. Em *Peckoltia* a NOR foi encontrada em posição distal em um par cromossômico submetacêntrico em uma espécie, e em dois pares cromossômicos nas outras espécies, sendo as NOR banda-C negativa. A diferença encontrada na fórmula cariotípica entre os gêneros e dentro dos gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus,* pode ser devido a rearranjos cromossômicos do tipo inversão pericêntrica.

As espécies do gênero *Peckoltia* parecem ser mais derivadas cariotipicamente em relação às espécies dos gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus*. O grupo *Peckoltia* apresenta como sinapomorfias, grandes blocos heterocromáticos em cromossomos submetacêntricos e subtelocêntricos, decorrentes de intensos processos de amplificação da heterocromatina constitutiva. Este evento pode ser considerado como mais derivado devido ao fato do grupo externo apresentar, na maioria de seus indivíduos, pouca heterocromatina constitutiva, como observado em *Baryancistrus* e *Parancistrus*. Em *Peckoltia,* a NOR parece corresponder a um padrão mais derivado, sendo encontrada em posição distal nos braços longos de cromossomos submetacêntricos e subtelocêntricos.

O gênero *Ancistrus* provavelmente é o mais derivado cariotipicamente em relação aos outros três gêneros analisados neste trabalho. Apresentou como apomorfia um número cromossômico diplóide menor que 52, sugerindo um processo de evolução cromossômica mais complexo, enquanto que nos 3 gêneros anteriores a evolução cariotípica foi devido principalmente às inversões. Em *Ancistrus ranunculus*, além das prováveis inversões ocorridas, que elevaram o número de cromossomos do

tipo acrocêntrico, observa-se a diminuição do número cromossômico diplóide para 48 indicando nesta espécie eventos de fusão Robertsoniana.

A análise dos dados permite sugerir que existe uma maior proximidade cariotípica entre os gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus,* implicando uma maior relação filogenética entre esses dois gêneros com relação aos demais, discordando dessa forma de Armbruster (1997), que considera *Parancistrus* mais relacionado com *Peckoltia* (Figura 4c). Para o gênero *Ancistrus* os dados da análise cromossômica concordam com os dados de osteologia propostos por Armbruster (1997), para este grupo, considerando-o como mais derivado entre os Ancistrinae (Figura 4c).

6 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões.

1. Com base nos resultados obtidos considerou-se 2n=52 como o número cromossômico basal para a subfamília Ancistrinae.

2. Na subfamília Ancistrinae os principais mecanismos de rearranjos cromossômicos são as inversões, as quais levaram a modificações na estrutura cromossômica, mas não no número cromossômico. Exceção é encontrada no gênero *Ancistrus*, que além das inversões sugerem a ocorrência de rearranjos Robertsonianos.

3. A espécie *Baryancistrus* aff. *niveatus* demonstrou ser a mais derivada cariotipicamente do gênero, apresentado grandes blocos heterocromáticos no complemento ricos em pares de bases G-C, enquanto que as outras espécies apresentaram poucos cromossomos marcados pelo $Ba(OH)_2$ restrito principalmente ao centrômero.

4. A heterocromatina constitutiva encontrada nas espécies analisadas apresentou-se de forma heterogênea entre os Ancistrinae. Todas as espécies do gênero *Peckoltia* apresentaram grandes blocos heterocromáticos distribuídos pelo complemento, enquanto que as espécies dos outros gêneros apresentaram poucas marcações, restritas a alguns cromossomos do complemento, com a exceção de *Baryancistrus* aff. *niveatus*.

5. Apenas as espécies *Ancistrus ranunculus* e *B.* aff. *niveatus* apresentaram a heterocromatina rica em pares de bases G-C, que podem ter originado a partir de uma heterocromatina primordial, provavelmente aquela associada à NOR.

6. As marcações heterocromáticas apresentaram padrões de distribuição distintos e característicos nas espécies estudadas, indicando ser bons marcadores citotaxônomicas.

7. As Regiões Organizadoras de Nucléolos mostraram-se diversificadas entre as espécies de Ancistrinae estudadas. Nos gêneros *Baryacinstrus, Parancistrus* e *Ancistrus* foram encontradas em posição intersticial em apenas um par cromossômico sendo banda-C positivas, enquanto que para as espécies do gênero *Peckoltia* a situação de múltiplas NORs é a mais freqüente sendo estas banda-C negativas. Essas mostraram-se positivas ao tratamento com fluorocromo Cromomicina A_3.

8. Os dados cromossômicos identificaram uma maior proximidade cariotípica entre os gêneros *Baryancistrus* e *Parancistrus*

9. O gênero *Ancistrus* foi considerado o mais derivado cariotipicamente por apresentar uma redução no seu número diplóide para 2n=48 e um elevado número de cromossomos acrocêntricos, quando comparado aos outros gêneros estudados neste trabalho.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F. & OLIVEIRA, C. (1993). A citogenética de peixes no Brasil. **X Encontro Brasileiro de Ictiologia**. Universidade de São Paulo, p.347-363.

ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; TRAJANO, E.; TOLEDO FILHO, S.A. & FORESTI, F. (1985). Analise citogenética comparativa entre o peixe cego *Pimelodella kronei* das grutas de Iporanga (SP) e o seu ancestral *Pimelodella transitoria*. **Ciênc. e Cult. Resumo**, vol. 37: p.777.

ANDREATA, A.A. (1991). Estudos citogenéticos na subfamília Hypoptopomatinae (Pices, Siluriforme, Loricariidae). **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 171p.

ANDREATA, A.A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; OLIVEIRA, C. & TOLEDO-FILHO, S.A. (1993). Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pices, Siluriforme, Loricariidae). II. ZZ/ZW sex-chromo some system, B chromosome, and constitutive heterochromatin differentiation in *Microlepidogaster leucofrenatus*. **Cytogenet. Cell Genet.**, vol. 63: p.215-220.

ARMBRUSTER, J.W. (1997). Phylogenetic relationships of the sucker-mouth armored catfishes (Loricariidae) with particular emphasis on the Ancistrinae, Hypostominae, and Neoplecostominae. **Tesis Doctor of phylosophy**. University of Illinois, 409p.

ARTONI, R. F. (1996). Estudos citogenéticos na família Loricariidae, com ênfase no gênero *Hypostomus* Lacépède (1803) (Pisces, Silurifornies). **Dissertação de Mestrado**. Universidade federal de São Carlos (UFSCar), 162p.

ARTONI, R.F. & BERTOLLO, L.A.C. (1996). Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on Karyotype evolution in the genus *Hypostomus*. **Caryologia,** vol. 49: p.81-90.

ARTONI, R.F. & BERTOLLO, L.A.C. (1999). Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Genetica**, vol. 106: p.209-214.

ARTONI, R.F.; BERTOLLO, L.A.C.; FONTES, M.S. & CASTRO, R.M.C. (1993). Análise cariotípica preliminar de duas espécies de *Pogonopoma* e *Rhinelepsis*

(Pisces, Hypostominae). **39° Congresso Nacional de Genética. Resumo,** p.39.

ARTONI, R.F; MOLINA, W.F; BERTOLLO, L.A.C & GALETTI Jr., P.M. (1999). Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongatus* (Characiformes). **Genet. Mol. Biol.,** vol. 22: p.39-44.

BENAZZI, M. (1973) Cytotaxonomy and Evolution: General Remarks.*In:* **Citotaxonomy and Vertebrate Evolution.** Chiarelli, A.B. & Capanna, E. (Eds.). London. Academic Press., p.3-9.

BERTOLLO, L.A.C (1986). Estimulação de mitoses em peixes. **I Simpósio de citogenética e Evolução Aplicada para Peixes Neotropicais. Resumo**, p.30.

BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C. S. & MOREIRA-FILHO, O. (1979). Karyotypic studies of two allopatric populations of the genus *Hoplias* (Pisces, Erythrynidae). **Braz. J. Genet.,** vol. 2: p.17-37.

BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C. S. & MOREIRA-FILHO, O. (1983). Multiple sex chromosome in the genus *Hoplias* (Pisces, Erythrynidae). **Cytoiogia**, vol. 48: p.1-12.

BERTOLLO, L.A.C.; TAKAHASHI, C. S. & MOREIRA-FILHO, O.(1978). Citotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrynidae). **Rer. Bras. Genet.,** vol. 1: p.103-120.

BERTOLLO, L.A.C; FONTES, M.S; FENOCCHIO, A.S. & CANO, J. (1997). The X_1X_2Y sex chromosome system in the fish *Hoplias malabaricus.* I. G-, C- and chromosome replication banding. **Chromosome Res.**, vol. 5: p.493-494.

BERTOLLO, L.A.C; MOREIRA-FILHO, O & GALETTI Jr., P.M. (1986). Cytogenetics and taxonomy: consideration based on chromosome studies of freshwater fish. **J. Fish Biol.,** vol. 28: p.153-159.

BIANCHI, N.O. (1978). Duplication cromossomica y heterocromatina a nivel molecular y citologico. *In:* ANDREATA, A.A. (1991). Estudos citogenéticos na subfamília Hypoptopomatinae (Pices, Siluriforme, Loricariidae). **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 171p.

BICKHAM, J.W. & BAKER, R.J. (1979). Canalization model of chromosomal evolution. *In*: VENERE, P.C. & GALETTI JR., P.M. (1989). Chromosome evolution and phylogenetic relationships of some neotropical Characiformesof the family Curimatidae. **Braz. J. Genet**., vol. 12: p.17-25.

BLEEKER, P. (1862) Atlas icthyologicque dês Indes orientales neerlandaises. Siluroides, Chacoides et Heterobranchoides. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.I.;MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, RP.; LUCENA, Z.M. & LUCENA., C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classification of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

BÖHLKE, J.E.; WEITZMAN, S.H. & MENEZES, N.A (1978). Estado atual da Sistemática de peixes de Água Doce da América do Sul. **Acta Amazonica,** vol. 8: p.657-677.

BORN, G.G. & BERTOLLO, L.A.C. (2000). An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus,* with a polymorphic NOR-bearing X chromosome. **Chromosome Res.**, vol. 8: p.111-228.

BRITSKI, H.A. (1981). Peixes de água doce. *In:* Carvalho, J.C.M. (Coord.). **Atlas da Fauna Brasileira**, São Paulo, Ed. Melhoramentos, p.84-93.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. (1984). **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias**. Câmara dos Deputados/CODEVASF, Brasília, l43p.

BRUM, M.J.I. (1995). Correlações entre a filogenia e a citogenética dos peixes teleósteos *In:* **Série monografias**, 2/. Sociedade Brasileira de Genética.-Ribeirão Preto, S.P. Brasil, p.01-42.

BURGESS, W.E. (1989). **An atlas of freshwater and marine catfish**. T.F.H. Publications, 784p.

CACEX-BANCO DO BRASIL (1988**). Principais produtos Exportados Pelo Estado Do Pará**. Secretaria do Estado da Fazenda, 125p.

CARVALHO IR., J.R.; GIARRIZZO, T.; CAMARGO, M.; ZUANON, J. & ISAAC, V. (2002) Diversidade e distribuição geográfica dos acaris (Loricariidae) do médio rio Xingu-Pa,estado do conhecimento. **XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia. Resumo.**

COLE, C.J. & LEAVENS, C.R. (1971). Chromosome preparations of amphibians and reptiles: improved techique. **Herpetol. Rer.**, vol. 3: 102p.

DELLA-ROSA, V.A.; BERTOLLO, L.A.C.; FERRARI, I.; TAKAHASHI, C.S.; MOREIRA-FILHO, O. & FORESTI, F. (1980). Estudos citogenéticos em peixes

da região Amazônica II. Ordem Siluriforme. **Ciência e Cultura**, vol. 32: p.735.

DERENZINI, M.; HERNADEZ-VERDUM, D.; FARABEGOLI, F.; PESSION, A. & NIVELLO, F. (1987). Structure of ribossomal genes of mammalian cells in situ. **Chromosoma**, vol. 95: p.63-70.

DIAS, A.L. & FORESTI, F. & OLIVEIRA, O. (1998). Synapsis in supernumerary chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Teleostei: Prochilodontidae). **Caryologia,** vol. 51: p.105-113.

DIAS, A.L. & FORESTI, F. (1993). Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). **Rev. Brasil. Genet.**, vol. 16: p.755-766.

DIAS, A.L. (1987) Análise citogenética de peixes da família Pimelodidae (Pisces-Siluriformes). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de São Carlos, ll7p.

DONLON.T.A. & MAGENIS, R.E. (1983): Methyl green is a substitute for distamycin A in the formation of distamycin A/DAPI C bands. **Human Genetics**, vol. 65: p.144-146.

EIGENMANN, C.H. & EIGENMANN, R.S.E. (1890). A revision of the South American nematognathi, or cat-fishes. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.I.;MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, RP.; LUCENA, Z.M. & LUCENA., C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classification of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

FALCÃO, J.N.; MOREIRA-FILHO, O. & BERTOLLO, L.A.C. (1984) An Additional Chromosome in two fish Species. **Rev. Bras. Gent.,** vol. 7: p.109-118.

FELDBERG, E, & BERTOLLO, L.A.C. (1985). Karyotypes of 10 species of neotropical cichlids (Pisces, Perciformes). **Caryologia**, vol. 38: p.257-268.

FELDBERG, E.; PORTO, J.I.R. & BERTOLLO, L.A.C. (1992). Karyotype evolution in Curimatidae (Teleóetei, Characiformes) of the Amazon regian. I. Studies on the genera *Curimat, Psetrogaster, Steindachnerina* and *Curimatella.* **Braz. J. Genet.**, vol. 15: p.369-383.

FELDBERG, E.; PORTO, J.I.R. & NAKAYAMA, C.M. (1993). Karyotype evolution in Curimatidae (Teleóstei, Characiformes) from the Amazon region. II. Centric

fissions in the genus *Potamorhina.* **Genome**, vol. 36: p.372-376.

FELDBERG, E.; PORTO, J.L.R.; SANTOS, E.B.P. & VALENTIM, F.C.S. (1999). Cytogenetic studies of two freshwather sciaenids of the genus *Plagioscion* (Perciformes, Sciaenidae) from the central amazon. **Genet. Mol. Biol.,** vol. 22: p.351-356.

FENOCCHIO, A.S. & BERTOLLO, L.A.C. (1992). Karyotype similarities among Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the Brazilian Amazon region. **Cytobios**, vol. 69: p.41-46.

FERREIRA, E.J.G.; ZUANON, J.A.S. & SANTOS, G.M. (1998) **Peixes comerciais do médio Amazonas: região de Santarém, Pará**. Brasília: Edições IBAMA, 214p.

FUTUYMA, D. (1992). Determinando a história da evolução *In:* **Biologia Evolutiva**. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq. 2°.Ed. Ribeirão Preto, S.P. Brasil, 301-324p.

FUTUYMA, D. (1992). Especiação *In:* **Biologia Evolutiva**. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq. 2°.Ed. Ribeirão Preto, S.P. Brasil, p. 232-262.

GALETTI Jr, P.M. & RASCH, E.M. (1993). NOR Variability in Diploid and Triploid Forms of the Amazon Molly Poecilia_formosa as Shown by Silver Nitrate and Chromomycin A3 Staining. **Braz. J. Genet.**, vol. 16: p.927-938.

GALETTI Jr., P.M. & FORESTI, F. (1986). Evolution the ZZ/ZW system in *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). **Cytogenet. Cell Genet.**, vol. 43: p.43-46.

GARCÍA-PARRA, W.J. (2000). Citonética comparativa de peixes da subfamília Myleinae (Serrasalmidae, Characiformes) da Amazônia Central. **Tese de Doutorado.** Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA/Universidade do Amazonas, Manaus, AMM. 156p.

GIANNONI, M.L.; GIANNONI, M.A. & FERRARI, I. (1986). **Citogenética aplicada às aves**. Piracicaba, FEALQ/IJNESP, 121p.

GOSLINE, W.A. (1945). Catálogo dos nematognathosde água-doce da América do Sul e Central. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.L.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classiflcation of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap.

3: p.363-374.

GOSLINE, W.A. (1947).Contribution to the classification of the Loricariid catfishes. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.L.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classiflcation of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

GOULDING, M. (1980). **The fishes and the forest-explorations in Amazonian natural history**. University of California Press, Los Angeles, CA, USA, 280p.

GOULDING, M. (1997). Amazônia ao longo do tempo *In:* **História Natural dos Rios Amazônicos,** Brasília: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq/Rainforest Alliance. cap. 1: p.11-20.

GUERRA, M. (1988). **Introdução a Citogenética Geral.** Ed. Guanabara, l42p.

GUIMARÃES, I.N.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. & TOLEDO FILHO, S.A. (1995). Cytogenetic studies of three species of Glandulocaudinae (Pisces, Characiformes, Characidae). **Braz. J. Genet**., vol. 18: p.185-189.

HOCHBERG, V.B.M. & ERDTMANN, B. (1988). Cytogenetical and morphological considerations on *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae). The ocurrencia of B chromosomes and polimorphic NOR regions. **Rev. Brasil Genet.,** vol. 11: p.563-576.

HOWELL, W.M. & BLACK, D.A. (1980). Controlled silver staining nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1 - step method. **Experientia**, vol. 36: p.1014-1015.

HOWELL, W.M. (1977). Visualization of ribossomal gene activity: silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. **Chromosoma**, vol. 62: p.361-367.

HOWES, G.J. (1983). The cranial muscles of loricarioid catfishes, their homolies and valu as taxonomic characters (Teleoste: Siluriformes). **Bull. Brit. Mus. Nat. Hist1 (Zool.),** vol. 45: p.309-345.

HSU, T.C.; SPIRITO, S.E. & PARDUE, M. L. (1975). Distribution of the 18+28S ribosomal genes in mammalian genomes. **Chromosoma,** vol. 53: p.25-36.

ISBRÜCKER I.J.H. (1980). Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Verslagem en Technische Gegevenes, Inst. Taxon. Zool. (Zool. Mus.)**, Univ. Amesterdam, vol. 22: p.1-181.

JÉGU, M. (1992). Influência das Alterações Climáticas do Quaternário sobre a Distribuição e Evolução dos Peixes na Amazônia. **X Congresso Latino-Americano de Genética, Rev. Bras. Genet. Supplement**. p.234-237.

JIMENEZ, R.; BURGON, M. & DIAS DE LA GUARDI, R. (1988). A study of ag-stainig significance in mitotic NORs. **Heredity,** vol. 60: p.125-127.

JUNK, W.J. (1983). As águas da região amazônica. *In:* SALATI, E.; JUNK, W.J.;SHUBART, H.O.R. & OLIVEIRA, A.E. **Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia.** – São Paulo: Ed. Brasiliense; [Brasília]: Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 328p.

KNER, R. (1853a) Die Panzerwelse des k.k. Hof-Naturalien-cabinetes zu Wien. Sitzungs.. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.L.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; .REIS, R.E.; . VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classiflcation of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

KNER, R. (1853b) Uber die Hypostomiden,, oder zweite Hauptgruppe der Panzerfische. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.L.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; .REIS, R.E.; . VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classiflcation of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

LARA-KAMEI, M.C.S. & JÚLIO JR., H.F. (2000). Caracterização citogenética de espécies de *Hypostomus* (Pices, Loricariidae). **VIII Simp. Citog. Gent. Peixes. Resumo**, p.85.

LEGRANDE, W.H. (1981). Chromosomal evolution in North American catfishes (Siluriformes: Ictaluridae) with particular emphasys on the madtoms, *(Noturus).* **Copeia**, vol. 1: p.33-52.

LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A.A. (1964). Nomeclature for centromeric

position ofchromosomes. **Heredity**, vol. 52: p.201-220p.

LIMA.M.M.C. (1986). Inter-relações das bandas C, DA/DAPI e NOR no genoma humano. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

LOWE-McCONNELL, R.H. (1987). **Ecological studies in tropical fish communities**. New York: Cambridge University Press., 382p.

LOZANO, R.; RÉJON, C.R. & RÉJON, M.R. (1991). An analysis of cocho salmon chromatin by means of C-banding, AG-and fluorochrome staining, and *in situ* digestion with restriction endonucleases. **Heredity,** vol. 66: p.403-409.

LUNDBERG, J.G.; MARSHALL, L.G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M.C.S.L. & WESSELINGH, F. (1998). The stage for neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. *In:* Malabarba, L.R.; . Reis, R.E.; . Vari, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phyiogeny an Ciassification of Neotropical Fishes.** Edipucrs, Porto Alegre, cap. 1: p.13-48.

MARGARIDO, V.P. & GALETTI Jr., P.M. (1999). Heterochromatin patterns and karyotype relationships within and between the genera *Brycon* and *Salminus* (Pisces, Characiformes). **Genet. Mol. Biol.,** vol. 22: p.357-361.

MARGARIDO, V.P. & GALETTI Jr., P.M. (2000). Amplification of a GC-rich heterochromatin in the freshwater fish *Leporinus desmostes* (Characiformes, Anostomidae). **Genet. Mol. Biol.,** vol. 23: p.569-573.

MARTINS-SANTOS, I.C.; JÚLIO JR., H.F. & BURIN, I. (1996). Karyotypic studies of four species ofthe Sorubiminae subfamily (Pisces, Siluriformes). **Caryologia,** vol. 49: p.73-80.

MICHELE, J.L.; TAKAHASHI, C.S & FERRARI, 1. (1977). Karyotypic study of some species of the Family Loricariidae. **Cytologia,** vol. 42: p.539-546.

MONTOYA-BURGOS, J.I.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phyiogeny an Classification of Neotropical Fishes.** Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

MOREIRA-FILHO, O. & GALETTI Jr., P.M. (1996). Heterochromatm differentiation

in the characid fish *Astyanax scabripinnis*. **Braz. J. Genet.**, vol. 19: p.405-410.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C. & GALETTI JR., P.M. (1993). A evolução dos cromossomos sexuais em peixes neotropicais e o papel da heterocromatina. **Braz. J. Genet., Supplement**, p.143.

MURAMOTO, J.; OLMO, S. & ATKIN, M.B. (1968). On the diploid state of the fish order Ostariophysi. **Chromosoma,** vol. 24: 59-66p.

NAKAYAMA, C. M. (1997). Caracterização cariotípica de peixes da subfamília Serrasalmidae (Characiformes) da Bacia Amazônica. **Dissertação de Mestrado**. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia-INPA/Universidade do Amazonas, Manaus, AMM. 96p.

NELSON, J.S. (1994). **Fishes of the word.** New York, John Wiley and Sons mc., 3nd ed., 523p.

OLIVEIRA, C. & FORESTI, E. (1993). Cariótipo, RONs e bandas-C de *Hypostomus tietensis* (Pisces, Loricariidae). **X Encontro Brasileiro de Ictiologia. Resumo,** p.174.

OLIVEIRA, C. (1987). Estudos citogenéticos no gênero *Corydoras* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae). **Dissertação de Mestrado**. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 154p.

OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; BRITSKI, H.A & TOLEDO-FILHO. S.A. (1988). Chromosome formulae of neotropical freshwater fishes. **Braz. J. Genet.**, vol. 11: p.577-624.

OLIVEIRA, R.R. & VENERE, P.C. (2000). Caracterização citogenética em peixes da subfamília Hypostominae (Siluriformes, Loricariidae), e reavaliação do sistema de cromossomos sexuais ZZ/ZW em *Hypostomus* sp. do médio rio Araguaia.. **VIII Simp. Citog. Gent. Peixes. Resumo**, p.84.

PAULS, E. & BERTOLLO, L.A. (1983). Evidence for a system of supernumerary chromosomes in *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Pisces, Prochilodontidae). **Caryologia,** vol. 36: p.307-314.

PENDÁS, A.M.; MORÁN, P. & GARCÍA-VAZQUEZ, E. (1993). Ribossomal RNA genes ar interspersed throughout a heterochromatic chromosome arm in Atlantic salmon. **Cytogenet. Cell Genet.**, vol. 63: p.128-130.

PETRERE JR., M. (1978). Pesca e esforço de pesca no Estado do Amazonas. II -

Locais, aparelhos de captura e estatísticas de desembarque. **Acta Amazonica. Supplement.,** p.54.

PIECZARKA, J.C. (1995). A natureza da heterocromatina constitutiva em Primatas Sul-americanos. **Tese de Doutorado**. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 190p.

PIECZARKA, J.C.; NAGAMACHI, C.Y.; BARROS, R.M.S. & MATTEVI, M.S. (1996). Analysis of constitutive heterochromatin by fuorochromes and in situ digestion with restriction enzymes in species of the group *Callithrix argentata* (Callitrichidae, Primates). **Cytogenet. Cell Genet.**, vol. 72: p.325-330.

PINNA, M.C.C. (1992). A new subfamily of Trichomycteridae (Teleostei, Siluriformes), lower loricarioid relationships and a dicussion on the impact of additional taxa for phylogenetic analysis. *In:* ZUANON, J.A.S. (1999). História natural da ictiofauna de corredeiras do rio Xingu, na região de Altamira, Pará. **Tese de Doutorado** - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 199p.

PINNA, M.C.C. (1998). Phylogenetic relationships of Neotropical Siluriformes: a historical overview and synthesis of hypoteses. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.;. VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classificationof Neotropical Fish** es. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.279-330.

POPODI, E.M.; GRENE, D.; PHILLIPS, R.B. & WEJKSNORA, P.J. (1985). The ribossomal RNA genes of three salmonid species. **Biochemical Genetics,** vol. 23: p.997-1010.

PORTO, J.I.R. & FELDBERG, E. (1988). Considerações citotaxonômicas em *Callichthys callichthys* (Siluriformes, Callichthyidae) da Amazônia central. **II Simp. Citog. Evol. Aplic. Peixes Neotop. Resumo**, p.8.

PORTO, J.I.R. & FELDBERG, E. (1992). Ocorrência de novos citótipos nos gêneros *Hoplosternum* e *Callichthys* (Siluriformes, Callichthyidae) da bacia amazônica. **Rer. Brasil. Genet. Supplement**, p.81.

PORTO, J.I.R.; FELDBERG, E.; FALCÃO, J.N. & NAKAYAMA, C.M. (1992). A Checklist of chromosome numbers and karyotypes of Amazonian freshwater fishes. **Rev. Hidrobiol.Trop.,** vol. 25: p.287-299.

PORTO, J.I.R; FELDBERG, E.; FALCÃO, J.N. & NAKAYAMA, C.M. (1993).

Cytogenetic studies in Hemiolidae (Ostariophysi, Characiformes) fishes from the Central Amazon. **Cytologia**, vol. 58: p.397-402.

PORTO-FORESTI, P.; OLIVEIRA, C.; MAISTRO, E.L. & FORESTI, F. (1997).Estimated frequency of B-chromosomes and population density of *Astyanax scabripinnis paranae* in a small stream. **Braz. J. Genet.,** vol. 20: p.377-380.

RAPP PY-DANIEL, L.H. (1989). Redescription of *Parancistrus aurantiacus* (Castelnau, 1855) and preliminary establishment of two new genera: *Baryancistrus* and *Oligancistrus* (Siluriformes, Loricariidae). **Cybium,** vol. 13: p.235-246.

REGAN, C.T. (1904). A monograph of the fishes of the family Loricariidae. *In:* MONTOYA-BURGOS, J.L.; MULER, S.; WEBER, C. & PAWLOWSKI, J. (1998). Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classiflcation of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.363-374.

SALVADOR, L.B. & MOREIRA-FILHO, O. (1992). B chromosome in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characiformes). **Heredity,** vol. 6: p.50-56.

SCAVONE, M.D.P. & JÚLIO JR., H.F. (1993/94) Cytogenetic analysis and probable supernumerary of *Loricaria prolixa* and *loricaria sp.* Females (Loricariidae, Siluriformes) from the Paraná river basin. **Revista de Ictiología,** vol. 2/3: 41-47p.

SCAVONE, M.D.P. & JÚLIO JR., H.F. (1995) Cytogenetic analysis and heterochromatin distribution m ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae:Siluriformes). **Braz. J. Genet**., vol. 18: p.31-35.

SCHAEFER, S.A. (1986).Historical biology of the loricariid catfishes phylogenetic and functional morphology. **Unpublished Ph.D. dissertation,** University of the Chicago, Illinois. 198p.

SCHAEFER, S.A. (1987). Osteology of *Hypostomo plecostomus* (Linnaeus), with a phylogenetic analysis of the loricariid subfamilies (Pisces Siluroidei). **Contrib. Sci**., vol. 394: p.1-31.

SCHAEFER, S.A. (1998). Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic

studies of the Neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae). *In:* MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; . VARI, R.P.; LUCENA, Z.M. & LUCENA, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classificationof Neotropical** Fishes. Edipucrs, Porto Alegre, cap. 3: p.375-400.

SCHIMID, M. (1980). Chromosome banding in amphibia. IV Diferentiation of GC and AT rich chromosome regions in Anura. **Chromosoma**, vol. 77: p.83-103.

SCHWEIZER, D (1980). Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI bands) in human chromosomes **Cytogenet. Cell Genet.**, vol. 27: p190-193.

SILVANO, R.A.M.; OYAKAWA, O.T.; DO ANIARAL, B.D. & BEGOSSI, A. (2001). **Peixes do alto rio Juruá (Amazônia, Brasil).** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo: Imprensa Oficial do Estado, 298p.

SOUZA, A.C.P.; MILHOMEM, S.C.C.; NASCIMENTO, A.L.;. NAGAMACHI, C.Y.; BARROS, R.M.S.; FELDBERG, E & PIECZARKA, J.C (2002) Caracterização cromossômica de *Metynnis* cf. *lippincottianus* Cope 1870 (Serrasalmidae, Myleinae). **16^{0} Encontro de Genética do Nordeste. Resumo** p. 33.

SOUZA, A.C.P.; NAGAMACHI, C.Y.; PIECZARKA, J.C.; FARIAS, L.N.; SOUTO, P.S.S. & BARROS, R.M.S. (1999) Descrição Cariotípica de *Metynnis lippincottianus* Cope, 1870 (Pisces, Serrasalmidae) coletado no Rio Peixe-Boi Amazônia Oriental-Pa. **45^{0} Congresso Nacional de Genética. Resumo** p. 59.

SOUZA, A.C.P.; NASCIMENTO, A.L.; MILHOMEM, S.C.C.;.CARVALHO JR. J.R.; NAGAMACHI, C.Y.; BARROS, R.M.S.; FELDBERG, E & PIECZARKA. J.C. (2002) Analise Cariotípica de *Baryancistrus* cf. *niveatus* (Ancistrinae, Loricariidae) Através do Bandeamento C, Ag-RON, CMA_3, DAPI e FISH. **IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes. Resumo** p.55.

SUMNER, A.T. (1972). A simple technic for demonstrating centromere heterocromatin. **Exptl. Cell. Res.**, vol. 75: p.304-306.

SWARÇA, A.C.; GIULIANO-CAETANO, L. & DIAS, A.L. (2001). Analyses of nucleolus organizer regions and heterochromatin of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae). **Genetica,** vol. 110: p.97-100.

TORRES, M. F. & CARVALHO JR., J.R. (1995). A pesca artesanal de peixes ornamentais da família Loricariidae (Siluriformes) no município de Ourém, Pará.

XI Encontro Brasileiro de Ictiologia. Resumo.

VALCARCEL, A.; BRUNNER, P. & MAGGASE, M.C. (1993). B-chromosome polymorphism in the South American catfish, *Rhamdia sapo*. **Aquaculture**, vol. 110: p.111-118.

VARI, R.P. & MALABARBA, L.R. (1998). Neotropical ichthyology: An Overview *In:* Malabarba, L.R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M. & Lucena, C.A.S. (Eds), **Phylogeny an Classificationof Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre, p.01-14.

VARI, R.P. (1983). Phylogenetic relationships of the families Curiniatidae, Prochilodontidae, Anastomidae and Chilodontidae (Pisces, Characiformes). **Smith.Contrib. Zool.**, vol. 378: p.1-60.

VENERE, P.C. & GALETTI JR., P.M. (1989). Chromosome evolution and phylogenetic relationships of some neotropical Characiformes of the family Curimatidae. **Braz. J. Genet.**, vol. 12: p.17-25.

VICENTE, V.E.; MOREIRA-FILHO, O. & CAMACHO, P.M. (1996). Sex-ratio distortion associated with the presence of B chromosome in *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae). **Cytogenet. Cell Genet., vol.** 74: p.70-75.

ZUANON, J.A.S. (1999). História natural da ictiofauna de corredeiras do rio Xingu, na região de Altamira, Pará. Tese de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 199p.